

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Université Abou Bekr Belkaid
Tlemcen Algérie



جامعة أبي بكر بلقايد

تلمسان الجزائر

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie

Laboratoire Antibiotiques Antifongiques :

Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique



MÉMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de master en biologie

Option : Biochimie

Présenté par : Mr BOUCHEKIF IBRAHIM

Thème

Etude phytochimique et évaluation de l'effet inhibiteur des extraits préparés de *Cistanche violacea* vis-à-vis de l' α amylase

Soutenue le : 15 / 06 / 2023 devant le jury :

RAHMOUN Mohammed Nadjib	Président	Pr	Univ. Tlemcen
AZZI Rachid	Encadreur	Pr	Univ. Tlemcen
ABBOU Fayza	Co-encadreur	Docteur	Univ. Tlemcen
BELAID MEDJDOUB Houria	Examinatrice	MCB	Univ. Tlemcen

Année universitaire : 2022-2023

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

وَقَالُوا الْحَمْدُ لِلَّهِ

الَّذِي هَدانا لِهَذَا

وَمَا كُنَّا لِنَهْتَدِيَ لَوْلَا أَنْ هَدانا اللَّهُ ^{صلى}



Remerciements

En premier lieu, nous tenons à manifester louange à Dieu par aisance et excellence, puisse-t-il nous guider toujours sur le droit chemin.

Nous ne pouvons omettre de faire preuve de notre gratitude à nos chers parents respectifs, nous n'aurions pas pu en arriver là sans leur précieuse aide et leur affection.

*Je tiens à exprimer ma plus vive reconnaissance à mon encadreur **Mr AZZI Rachid**.*

Professeur au département de Biologie, université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen.

Pour l'intéressant sujet qu'il m'avait proposé et qui n'a cessé de m'orienter et m'appuyer à chaque étape ; c'est par sa disponibilité, ses conseils précieux et son aide que ce travail s'est concrétisé.

*J'exprime également mon profond respect à **Mr RAHMOUN Mohammed Nadjib** Professeur au département de Biologie, université Abou Beker Belkaid-Tlemcen. Pour l'honneur qu'il m'a fait pour présider le jury.*

*Mes vifs remerciements vont aussi à **Mme BELAID MEDJDOUB Houria**. Maitre de conférences classe B au département de Biologie, université Abou Beker Belkaïd-Tlemcen.*

Pour avoir accepté d'examiner ce travail.

*J'exprime mes remerciements À ma Co-encadreur, **Mlle ABOU Fayza**. docteur au département de Biologie Faculté SNV-STU Université Abou Bekr Belkaïd - Tlemcen pour sa patience, sa disponibilité, le temps qu'il consacré m'apporter les outils méthodologiques indispensables pour la conduite de cette recherche.*

Je tiens à adresser mes sincères remerciements à tous les enseignants qui ont participé à ma formation.

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Dédicaces

Je dédie ce mémoire à :

- *A mes très chers parents pour leurs soutiens, et je leur souhaite pleine de santé et de bonheur.*
- *A mon cher frère et très chères sœurs.*
- *A toute la famille « **BOUCHEKIF** » et tous ceux qui me sont chers.*
- *A tous mes professeurs surtout « **Pr AZZI RACHID** »*
- *Et plus particulièrement à moi « **Mr BOUCHEKIF IBRAHIM** »*
- *À mon chère amis « **Mr SOUFYANE ROUABI** » qui ont eu un grand impact pour surmonter les difficultés et les obstacles.*

Ibrahim 



الملخص

الذنون هو نوع من العائلة الهالوكية وهو عبارة عن نبات كاسيات البذور، ثنائي الفلقة متعدد الطفيليات، يفتقر إلى الكلوروفيل.

يتركز هذا العمل على البحث عن تأثير مثبت على النشاط الإنزيمي للآلفا-أميلاز، في وجود مستخلص الميثانول المائي الخام من جذور نبات الذنون المحضر بالنقع أو بالغليان وجزء أسيتات الإيثيل والتي تم الحصول عليه عن طريق التجزئة.

تم إجراء اختبارات كيميائية نباتية نوعية وفحوصات كمية لمجموع البوليفينول والفلافونويدات والعفص المكثف للمستخلصات المحضرة. ثم تقييم تأثير التراكيز المختلفة لكل مستخلص على نشاط إنزيم الآلفا-أميلاز في الظروف المثلى (درجة الحموضة 6,9 ودرجة الحرارة 37° درجة مئوية).

أظهرت النتائج الاختبارات الكيميائية النباتية عن وجود العفص والفلافونيدات والكينونات الحرة والتربينويدات والمركبات المختزلة. كشف التحليل الكمي للمركبات الفينولية أن مستخلص أسيتات الإيثيل المحضر بالنقع هو الأغنى في إجمالي البوليفينول والفلافونويدات الكلية بمستويات حوالي $6.750 \pm 937,82$ ميكروغرام مكافئ لحمض الغاليك/مليغرام من المستخلص الجاف و $25.719 \pm 112,345$ ميكروغرام مكافئ لحمض الكاتشين/مليغرام من المستخلص الجاف على التوالي، في حين أن مستخلص الميثانول المائي الخام المحضر بالنقع يحتوي على أعلى كمية من العفص المكثف $77.5 \pm 525,5$ ميكروغرام مكافئ لحمض الكاتشين/مليغرام من المستخلص الجاف. بالإضافة إلى ذلك، أظهر مستخلص أسيتات الإيثيل المحضر عن طريق الغليان من جذور نبات نشاطا مثبتا (50%) أفضل ضد الآلفا-أميلاز مقدر بـ: 1,88 ملغ/مل مقارنة بالمستخلصات الأخرى التي تم اختبارها. يضل هذا النشاط منخفضا مقارنة بالأكاربوز الذي بلغ نشاط تثبيطه (50%) قيمة 0,13 ملغ/مل.

من خلال هذه النتائج نستخلص أن جذور نبات الذنون له تأثير مثبت على نشاط الآلفا-أميلاز وبالتالي على تنظيم ارتفاع السكر في الدم عن طريق تقليل امتصاص الأمعاء للجلوكوز. **الكلمات المفتاحية:** داء السكري، الذنون، آلفا-أميلاز، مركبات فينولية، جزء أسيتات الإيثيل، التأثير المثبط.

Résumé

Cistanche violacea est une espèce de la famille des Orobanchacées. Il s'agit d'une plante angiosperme dicotylédone holoparasite, qui manque de chlorophylle, ce qui en fait un groupe de parasites racinaires.

Ce travail porte sur la recherche d'effet inhibiteur de l'activité enzymatique de l' α -amylase, en présence de l'extrait brut eau-méthanol, des racines de *Cistanche violacea*, préparés par macération ou décoction et leurs fractions acétate d'éthyle, obtenue par fractionnement.

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

Les résultats des tests phytochimiques ont révélé la présence des tanins, des flavonoïdes, des quinones libres, des terpénoïdes et des composés réducteurs. Le dosage des composés phénoliques a montré que la fraction acétate d'éthyle récupérée à partir de l'extrait préparé par macération est le plus riche en polyphénols et en flavonoïdes totaux avec des teneurs d'ordre de $82,937 \pm 6.750 \mu\text{g Eq AG/mg ES}$ et $112,345 \pm 25.719 \mu\text{g Eq C/mg ES}$ respectivement. Alors que l'extrait brut hydrométhanolique préparé par macération a présenté la plus forte teneur en tanins condensés ($525,5 \pm 77.5 \mu\text{g Eq C/mg ES}$).

Par ailleurs, la fraction acétate d'éthyle récupérée à partir de l'extrait préparé par décoction des racines de *Cistanche violacea* a présenté une meilleure activité inhibitrice vis-à-vis l' α -amylase avec une CI_{50} d'ordre de 1,88 mg/ml, par rapport aux autres extraits testés. Cette activité reste faible par rapport à l'acarbose ($CI_{50} = 0,132 \text{ mg/ml}$).

A partir de ces résultats, nous avons conclu que les racines de *Cistanche violacea* exerce un effet inhibiteur sur l'activité de l' α -amylase et donc sur la régulation de l'hyperglycémie par une diminution de l'absorption intestinale du glucose.

Mots clés : Diabète sucré, *Cistanche violacea*, α -amylase, composés phénoliques, Fraction acétate d'éthyle, effet inhibiteur.

Abstract

Cistanche violacea is a species of the family *Orobanchaceae*. It is an angiosperm dicotyledonous holoparasitic plant, which lacks chlorophyll, which makes it an attractive group of root parasites.

This work focuses on the search for an inhibitory effect of the enzymatic activity of α -amylase, in the presence of the crude water-methanol extract, of the underground part of *Cistanche violacea*, prepared by maceration or decoction and its ethyl acetate fractions, obtained by fractionation.

Qualitative phytochemical tests and quantitative assays of total polyphenols and flavonoids and condensed tannins of the prepared extracts were performed. The effect of different concentrations of each extract on the activity of the α -amylase enzyme was evaluated under optimal conditions (pH 6.9 and T° 37°C).

The results of phytochemical tests revealed the presence of tannins, flavonoids, free quinones, terpenoids and reducing compounds. The determination of phenolic compounds showed that the ethyl acetate extract prepared by maceration was the richest in total polyphenols and flavonoids with contents of the order of $82.937 \pm 6.750 \mu\text{g Eq GA/mg DW}$ and $112.345 \pm 25.719 \mu\text{g Eq C/mg DW}$ respectively. While the crude hydromethanolic extract prepared by maceration presented the highest content of condensed tannins ($525.5 \pm 77.5 \mu\text{g Eq C/mg ES}$).

On the other hand, the ethyl acetate extract prepared by decoction of the underground part of *Cistanche violacea* showed a better inhibitory activity with IC₅₀ value of 1.88 mg/ml, compared to the other extracts tested. This activity remains low compared to acarbose (IC₅₀ = 0.132 mg/ml).

From these results, we concluded that the roots of *Cistanche violacea* exerts an inhibitory effect on α -amylase activity and thus on the regulation of hyperglycemia through a decrease in intestinal glucose absorption.

Keywords: diabetes mellitus, *Cistanche violacea*, α -amylase, phenolic compounds, ethyl acetate fraction, inhibitory effect, *in vitro*.

Table des matières

Remerciements	II
Dédicaces	III
Table des matières	VII
Liste des tableaux	IX
Liste des Figures	X
Liste des abréviations.....	XI
Introduction Générale.....	1
Partie I : Synthèse bibliographique	3
Chapitre I : Généralité sur le diabète sucré.....	4
1. Définition.....	5
2. Epidémiologie	5
3. Types de diabète	5
3.1. Diabète type 1 :	6
3.2. Le diabète de type 2 :	6
3.3. Le diabète gestationnel (DG) :	6
3.4. Autres types :.....	6
4. Complications liées au diabète	6
5. Traitement du diabète sucré.....	8
5.1. Traitement non médicamenteux :	8
5.2. Traitement médicamenteux :	8
5.3. Traitement du diabète sucré par des plantes médicinales.....	10
6. L' α amylase.....	10
6.1. Définition	10
6.2. Nomenclature de l' α amylase	11
6.3. Structure de l' α amylase	11
6.4. Site actif et mécanisme d'action :.....	12
6.5. Les principales sources de l' α -amylase	14
6.6. L'inhibition des enzyme α -amylases	15
Chapitre II : Plante étudiée : <i>Cistanche violacea</i> (Desf.) beck.....	16
1. Plantes antidiabétiques	17
2. Plante médicinale.....	17
2.1. Les plantes antidiabétiques En Algérie	17
2.2. Mécanisme de régulation	18
2.3. Modes d'action des plantes médicinales	19
3. L'espèce <i>Cistanche violacea</i> (Desf.) beck.....	21
3.1. Les Orobanchacées.....	21
3.2. Les espèces de genre <i>Cistanche</i>	21
4. L'espèce <i>Cistanche violacea</i> :.....	24

Table des matières

4.1.	Systématique	24
4.2.	Noms vernaculaires	25
4.3.	Description botanique :	25
4.4.	La répartition géographique de l'espèce :	25
4.5.	Usage et utilisation :	26
4.6.	Composition chimique :	27
Partie II : Partie expérimentale		28
Matériel et Méthodes		29
1. Matériel végétal		30
1.1.	Préparation du matériel végétal	30
1.2.	Extraction du matériel végétal	31
1.2.1.	Préparation de l'extrait hydro-méthanolique par macération	31
1.2.2.	Préparation de l'extrait hydro-méthanolique par décoction	31
1.2.3.	Préparation d'extrait acétate d'éthyle par fractionnement (liquide /liquide) ...	31
1.2.4.	Calcul de rendements :	32
2. Tests phytochimiques		34
2.1.	Composés phénoliques :	34
2.2.	Composés azotés :	34
2.3.	Composés terpéniques	35
2.4.	Composés réducteurs	35
3. Dosage des composés phénoliques		35
3.1.	Dosage des polyphénols totaux	35
3.2.	Dosage des flavonoïdes	36
3.3.	Dosage des tanins condensés	37
4. Évaluation de l'effet inhibiteur des extraits de <i>C. violacea</i> vis-à-vis l'α-amylase .		38
4.1.	Réactifs utilisés	38
4.1.1.	Solution de l' α -amylase	38
4.1.2.	Solution de substrat	38
4.1.3.	Solution d'extrait	38
4.1.4.	Solution d'acarbose	38
4.1.5.	Réactif chromogène 3,5-dinitrosalicylique (DNSA) :	38
4.2.	Evaluation de l'effet inhibiteur de l' α amylase	39
5. Analyses statistiques		40
Résultats et Interprétations		41
1. Extraction		42
2. Tests phytochimiques		42
3. Teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés		43
4. Effet des extraits de <i>Cistanche violacea</i> sur l'activité de l'α-amylase (in vitro) ...		46
Discussion		49
Conclusion		53
Références bibliographiques		55

Liste des tableaux

Tableau 1: Les trois principales classes antidiabétiques par voie orale utilisés dans le traitement du diabète (Scheen, 2015).	9
Tableau 2 : la nomenclature de l'α amylase (Schomburg et Salzmann en 1991).	11
Tableau 3 : Quelques propriétés des α-amylases (Khacheba, 2008).	14
Tableau 4 : Plantes à activité inhibitrice de l'α-amylase (Abdellaoui, 2021).	15
Tableau 5 : Les plantes antidiabétiques les plus utilisées recensées à l'ouest algérien (Azzi et al., 2012).	18
Tableau 6 : Mode d'action de quelques plantes antidiabétiques (Belkacem, 2009 ; Ishikawa et al., 2007).	20
Tableau 7 : Caractéristiques des extraits bruts hydrométhanoliques et leurs fractions acétate d'éthyle des racines de <i>Cistanche violacea</i>	42
Tableau 8 : Résultats des tests phytochimiques réalisés sur les deux extraits bruts hydrométhanoliques, préparés par macération ou décoction, des racines de <i>Cistanche violacea</i>	43
Tableau 9 : Teneurs en polyphénols, flavonoïdes et en tanins des extraits bruts hydrométhanoliques et leurs fractions organiques acétate d'éthyle des racines de <i>Cistanche violacea</i>	45
Tableau 10 : Valeurs des CI ₅₀ de l'acarbose et des extraits des racines de <i>Cistanche violacea</i>	48

Liste des Figures

Figure 1: Nombre estimé des personnes atteintes de diabète dans le monde (FID 2019).....	5
Figure 2 : Principales complications liées au diabète sucré (FID, 2019).	7
Figure 3 : Diagramme de la structure de l' α -amylase pancréatique humaine en ruban (PDB, 2006).....	12
Figure 4 : Le mode d'action de l' α -amylase (Faiveley, 2010)	14
Figure 5 : Morphologies externes du genre <i>Cistanche</i> (Pauj, 2016).	22
Figure 6 : Les grands trois types de genre <i>Cistanche</i> (Al Yasmina, 2022)	23
Figure 7 : <i>Cistanche violacea</i> subsp. <i>Violacea</i> en Algérie (Al Yasmina, 2022).....	24
Figure 8 : Répartition géographique des espèces de <i>Cistanche</i> (Al Yasmina, 2022).....	26
Figure 9 : la racine de <i>Cistanche violacea</i>	30
Figure 10 : Les racines de <i>Cistanche violacea</i> séchées et broyées (photo de laboratoire).....	31
Figure 11 : Protocole d'extraction du matériel végétale	33
Figure 12 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.	44
Figure 13 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes.	44
Figure 14 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés.....	45
Figure 15 : L'évolution des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations de l'acarbose, l'EBM et l'EBD des racines de <i>Cistanche violacea</i>	47
Figure 16 : L'évolution des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations de l'acarbose, la FAEM et la FAED des racines de <i>Cistanche violacea</i>	47

Liste des abréviations

ADA : American Diabète Association

AG : Acide Gallique

APG : Angiosperm Phylogeny Group

C : Catéchine

CI50 : Concentration Inhibitrice De 50% De L'enzyme

DNSA : 3,5-Dinitrosalicylique Acide

DSG : Diabète Sucré Gestationnel

EBD : Extrait Brut Préparé Par Décoction

EBM : Extrait Brut Préparé Par Macération

Eq : Equivalent

ES : Extrait Sec

FAAD : Fédération Algérienne Des Associations De Diabétiques.

FAED : Fraction Acétate D'éthyle Préparé Par Décoction

FAEM : Fraction Acétate D'éthyle Préparé Par Macération

HPA : Human Pancreatic A-Amylase

HPLC : Chromatographie En Phase Liquide A Haut Performance

I% : Pourcentage D'inhibition

Lapsab : Laboratoire De Recherche "Antibiotiques, Antifongiques, Physico-Chimie,
Synthèse Et Activités Biologiques

OMS : Organisation Mondiale De La Santé

PDB : Protein Data Base.

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

V/V : Volume / Volume

Introduction Générale

Introduction générale

Ces dernières années, le diabète de type 2, a été qualifié l'un des fléaux mondiaux du troisième millénaire, tant dans les pays industrialisés que dans les pays en développement. Le diabète sucré devient de plus en plus courant à un rythme alarmant. Le nombre des diabétiques étaient au nombre de 463 millions dans le monde en 2019, avec des estimations de 578 millions en 2030 et de 700 millions en 2045 (**FID, 2019**).

Les effets à long terme de l'hyperglycémie présentent des problèmes dégénératifs plus ou moins graves touchant le cœur, les vaisseaux sanguins, les yeux, les reins, les nerfs, ainsi qu'un risque élevé de maladie cardiaque et d'infarctus du myocarde (**OMS, 2016**).

Le diabète est une maladie chronique qui nécessite un traitement continu. Aujourd'hui, l'insuline et les médicaments hypoglycémiques oraux, notamment les biguanides, les sulfonylurées, les glinides, les inhibiteurs de la α -glucosidase, etc. sont utilisés pour traiter le diabète (**Nissen et Wolski, 2007**).

L'un des objectifs du traitement du diabète est de retarder ou de réduire la capacité du processus digestif à décomposer et à absorber les glucides ingérés par des enzymes digestives (l' α -amylase et/ou les α -glucosidases). Les inhibiteurs de ces enzymes font que la digestion des glucides est globalement plus longue, ce qui ralentit le taux d'absorption du glucose et abaisse la glycémie postprandiale (**Rhabasa-Lhoret et Chiasson, 2004**).

Les glandes salivaires ou le pancréas peuvent sécréter l'enzyme α -amylase (α -D-glucan glucanohydrolase, E.C. 3.2.1.1). Cette enzyme est essentielle à la digestion des hydrates de carbone (amidon et glycogène) (**Kandra, 2003**).

De nombreuses plantes sont considérées comme ayant des propriétés antidiabétiques. Les données ethnobotaniques collectées en Algérie a montré l'utilisation de plantes médicinales est très importante pour la population locale (**Allali et al., 2008 ; Azzi et al., 2012, Hamza et al., 2019**).

Cistanche violacea, de la famille des Orobanchacées, est une plante utilisée en médecine traditionnelle pour traiter diverses maladies : pour traiter le diabète sucré, les maux d'estomac et la diarrhée...

Introduction générale

Dans ce travail, nous sommes intéressés à l'étude phytochimique et évaluation de l'effet inhibiteur des extraits bruts hydrométanoliques et leurs fractions acétate d'éthyle, préparés par macération ou décoction, à partir des racines de *Cistanche violacea*, vis-à-vis de l' α amylase.

Nous réaliserons notre travail selon les étapes décrites ci-dessous :

- ❖ Préparation des extraits bruts hydrométanoliques et leurs fractions acétate d'éthyle, préparés par macération ou décoction, à partir des racines de *Cistanche violacea* ;
- ❖ Des tests phytochimiques qualitative et le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux. Et des tanins condensés.
- ❖ Une étude biologique visant à évaluer l'effet inhibiteur des extraits préparés vis-à-vis de l' α amylase *in vitro*.

*Partie I : Synthèse
bibliographique*

*Chapitre I : Généralité
sur le diabète sucré*

1. Définition

Le diabète est un problème de santé publique. Il s'agit d'une maladie endocrinienne évolutive chronique qui se caractérise par un taux élevé de glycémie. Qui résulte d'une diminution de la production de l'insuline et/ou d'une résistance à son activité (Hajj *et al.*, 2017).

2. Epidémiologie

Le diabète n'est plus seulement un problème dans les pays riches. En réalité, 80 % des diabétiques vivent dans des pays sous-développés ou à revenu intermédiaire (OMS, 2016).

En 2000, 151 millions de personnes atteintes de diabète sucré a été estimé dans le monde. Ce chiffre est passé à 285 millions de cas, En 2009 et 463 millions en 2019. En 2030 et 2045, ce nombre pourrait atteindre 578 millions et 700 millions, respectivement (Figure 1) (FID, 2019).

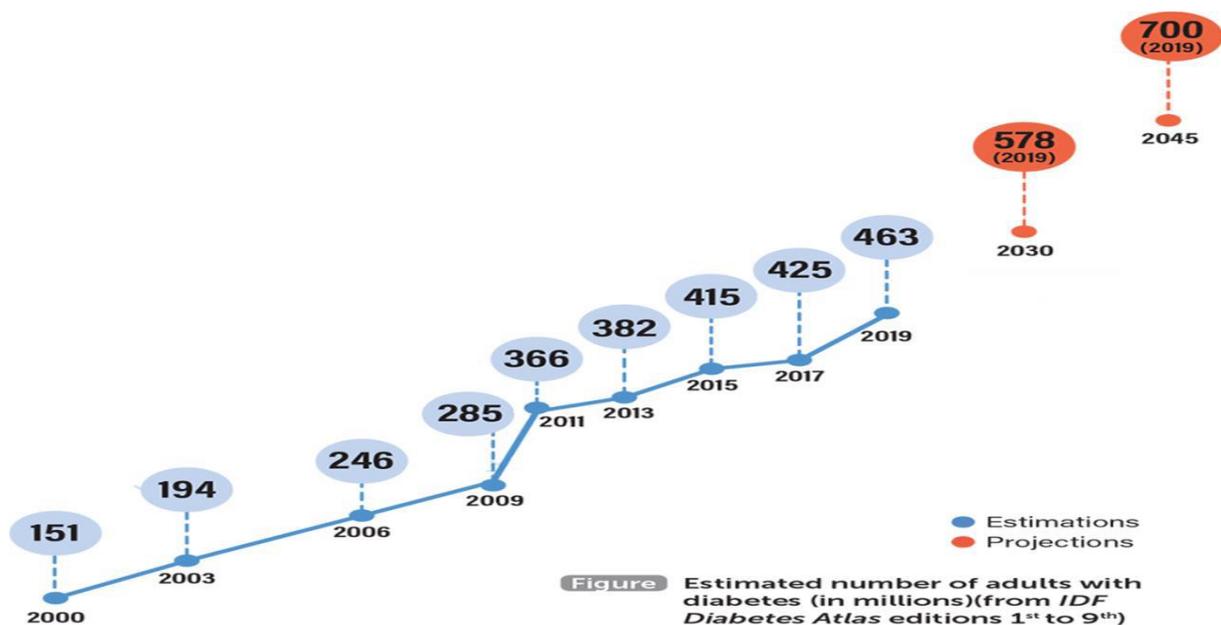


Figure 1: Nombre estimé des personnes atteintes de diabète dans le monde (FID 2019).

Selon la Fédération algérienne des associations de diabétiques (FAAD), Cinq millions d'individus en Algérie sont atteints de diabète sucré (FAAD, 2016).

3. Types de diabète

Le diabète sucré se divise en quatre types, selon l'association American du Diabètes (ADA) et l'Organisation mondiale de la santé (OMS) :

3.1. Diabète type 1

C'est ce qui est appelé le diabète juvénile. En raison de la destruction des cellules pancréatiques par les lymphocytes T (CD4 et CD8), il s'agit d'une maladie auto-immune qui affecte le pancréas et se définit par une production insuffisante d'insuline (OMS, 2016).

3.2. Le diabète de type 2

C'est le type de diabète le plus répandu, également connu sous le nom de diabète de l'adulte, touche 90 % des patients et résulte de la combinaison d'une résistance à l'insuline, d'une production insuffisante d'insuline, et d'une utilisation inadéquate de l'insuline par les cellules du corps (Goodman et al., 2012).

3.3. Le diabète gestationnel (DG)

Bien qu'il puisse survenir à n'importe quel moment de la grossesse, le diabète sucré gestationnel (DSG) est un type de diabète qui touche généralement les femmes enceintes au cours des deuxièmes et troisièmes trimestres de la grossesse. (Miot et al., 2012 ; FID, 2017).

3.4. Autres types

Ce sont moins fréquents et peuvent se développer à la suite d'autres maladies, telles que des troubles endocriniens ou des infections virales. La consommation de certains médicaments peut provoquer diverses formes de diabète de façon temporaire ou permanente (par exemple, les glucocorticoïdes) (ADA, 2017).

4. Complications liées au diabète

Lorsque la glycémie n'est pas correctement contrôlée, des problèmes surviennent et mettent la vie en danger et nuisent à la santé (Belhadj et al., 2016).

Il existe deux types de complications :

- ❖ **Complications chroniques du diabète** : comportent deux types :
 - **La microangiopathie** : La rétine, le glomérule rénal et le nerf périphérique sont les trois tissus les plus vulnérables à ce problème
 - **La macroangiopathie** : artères du cœur et du cerveau (**Figure 2**) (Belhadj et al., 2016).

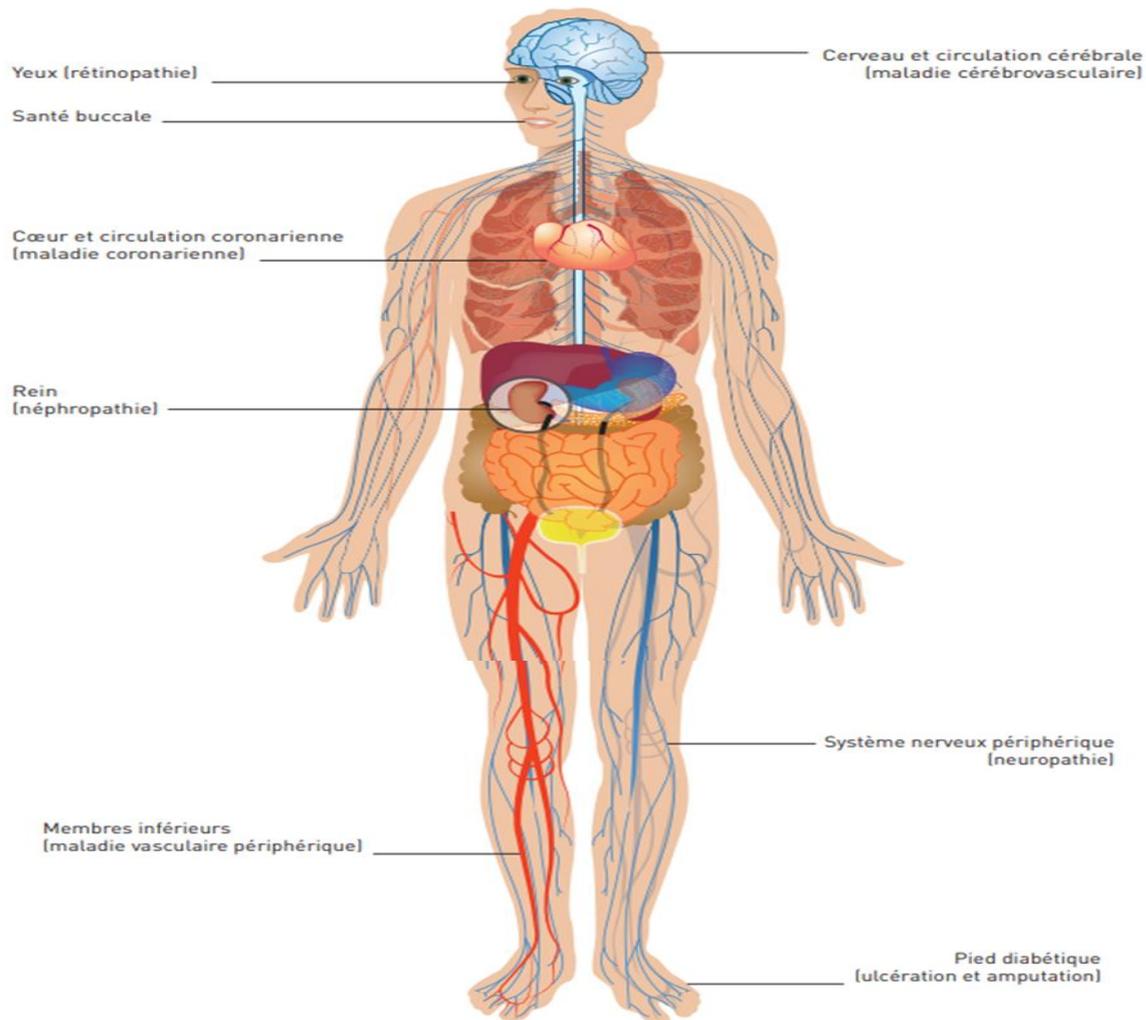


Figure 2 : Principales complications liées au diabète sucré (FID, 2019).

❖ Complications aiguës métaboliques

Les problèmes de diabète qui sont aigus ou temporaires touchent généralement les personnes atteintes de diabète de type 1 ou à la suite de la prise de certains médicaments, de diabète de type 2 ou d'autres types de la maladie. Ils peuvent entraîner une maladie chronique ou la mort (FID 2019).

Ces complications se présentent comme suit :

- Accidents hypoglycémiques.
- Trois complications liées à l'hyperglycémie diabétique sont : l'acidocétose, le syndrome d'hyperglycémie hyperosmolaire et l'intolérance au lactose (Orban et Ichai, 2008).

5. Traitement du diabète sucré

Le diabète sucré est une maladie chronique qui nécessite un traitement. L'objectif du traitement du diabète est d'empêcher les complications de se développer, qu'ils soient aiguës ou chroniques, et de maintenir le taux de glucose (sucre) dans des valeurs correctes (**Coutant et Nicolino, 2019**).

5.1. Traitement non médicamenteux

Le traitement non médicamenteux du diabète sucré repose sur deux principes essentiels :

- **Le régime alimentaire** : consiste à suivre un régime alimentaire équilibré, riche en glucides à action lente et pauvre en graisses saturées et en sucres à action rapide (**Goodman et al., 2012**).
- **Activité physique régulière** : Il est adapté aux capacités de chaque patient. Il permet d'améliorer l'état du métabolisme comme le profil lipidique, taux de glucose (**Goodman et al., 2012**).

5.2. Traitement médicamenteux

En cas d'échec des précautions liées au régime alimentaire et Activité physique régulière, l'utilisation des médicaments pour traiter le diabète reste nécessaire. Il existe plusieurs médicaments par voie orale qui peuvent corriger le taux de sucre dans le sang (**Tableau 1**) (**Graillet et al., 2012**).

Tableau 1: Les trois principaux classes antidiabétiques par voie orale utilisés dans le traitement du diabète (Scheen, 2015).

	Agent Antidiabétique	Exemple De Médicament	Mécanismes D'action	Effets Secondaires	Références
LES INSULINOSECRETEUR	Les sulfamides Hypoglycémiant (Sulfonylurées)	Garbutamide Gliclazide Glipizide	Augmente la sécrétion de l'insuline	Complication cardiovasculaire à long terme	(Holman et al., 2008)
	Les glinides ou méglitinides	Répaglinide Nateglinide	Stimule la sécrétion de l'insuline	Hypoglycémie	(Blicklé, 2004 ; Holman, et al., 2008)
LES INSULINOSENSIBILIS	Les biguanides	Metformine	Freine la production hépatique de glucose	Acidose lactique	(Tükkaine et al., 2004 ; Otban et al., 2006)
	Les glitazones (ou thiazolidinediones)	Rosiglitazone Pioglitazone	Amélioration d'action de l'insuline	Hépatotoxique	(Elte et Bblickle, 2007)
LES INHIBITEURS DE L'ALPHA - GLUCOSIDASE		Acarbose Miglitol	Ralentissent l'absorption intestinale du glucose	Troubles intestinaux	(Halimi et al., 2000 Godbout et Chiasson, 2007)
LES INSULINOMIMETIQUES	Inhibiteurs de la DPP-4 (Dipeptidyl peptidase-4)	Sitagliptine Vildagliptine Saxagliptine	la régulation de la sécrétion d'insuline et de glucagon	Pancréatite	(Fonseca et al., 2010)
	Analogues du GLP-1 (Glucagon-like peptide-1)	Exénatide, Liraglutide	Stimulent la sécrétion d'insuline par le pancréas	Flatulences Diarrhées	(Drucker, 2006 ; Deacon, 2011)

5.3. Traitement du diabète sucré par des plantes médicinales

Les ethnopharmacologues ont répertorié plus de 1123 espèces de plantes qui sont testées pour leurs capacités à traiter le diabète de type 2. Ces plantes comprennent 183 familles et 725 genres. 81 % de ces plantes sont testées sur des animaux de laboratoire (**Marles et Farnsworth, 1996**). Dont certaines ont conduit à la création des produits pharmaceutiques comme la metformine grâce à l'herbe *Galega officinalis*. (**Oubré et al., 1997 ; Grover et al., 2002**).

6. L' α amylase

6.1. Définition

L'être humain possède cinq gènes de l' α amylase (α -amylase) regroupés en 1q21 sur le chromosome 1. Les deux gènes, AMY2A et AMY2B, sont exprimés dans le pancréas, et trois autres, AMY1A, AMY1B et AMY1C, codent pour l' α -amylase salivaire. Les séquences d'acides aminés des α -amylases salivaires et pancréatiques humaines sont extrêmement similaires, 97% de tous les résidus étant identiques et 92 % d'entre eux se trouvant dans les domaines catalytiques (**Sales et al., 2012**).

L' α -amylase pancréatique humaine (Human pancreatic α -amylase (HPA), 1,4-glucan-4-glucanohydrolase) est l'une de ces enzymes essentielles à la progression du diabète sucré (**Ponnusamy et al., 2015**). Son poids moléculaire est de 57,6 kDa, se compose de 512 acides aminés dans une seule chaîne oligosaccharidique (**Sales et al., 2012**). C'est une enzyme ubiquitaire (**Janecek, 1997**) métallique calcique, endoglycosidase. Elle catalyse la première étape de l'hydrolyse des liaisons α -1,4 glycosidiques de l'amylose, de l'amylopectine, de glycogène, du maltodextrines ou bien l'amidon pour produire du maltose, qui est ensuite décomposé en glucose par les glucosidases (**Ponnusamy et al., 2015 ; Etxeberria et al., 2012**).

6.2. Nomenclature de l' α amylase

Le tableau ci-dessous présente la nomenclature de l' α amylase selon **Schomburg** et **Salzmann** en 1991

Tableau 2 : la nomenclature de l' α amylase (Schomburg et Salzmann en 1991).

Nomenclature	(EC 3.2.1.1)
Nom recommandé	A-amylase.
Dénomination systématique	1, 4- α -D-glucan glucanohydrolase
Synonymes	Glycogénase, Endoamylase, Taka-amylase A, A-Buclamase, Fortizyme, Amylopsin, Maxilase, Amylase THC 250, Thermamyl, Ptyalin, Clarase, Spitase CP1, Thermolase, Kleistase L1, Termamyl.

6.3. Structure de l' α amylase

L'amylase possède une structure tridimensionnelle qui lui permet de se connecter à un substrat et par l'action de groupes catalytiques très particuliers. Il favorise la rupture des liaisons glycosidiques (**Sales et al., 2012 ; Mac Gregor et al., 2001**)

La figure 3 présente les trois domaines structurels A, B, et C de l'amylase.

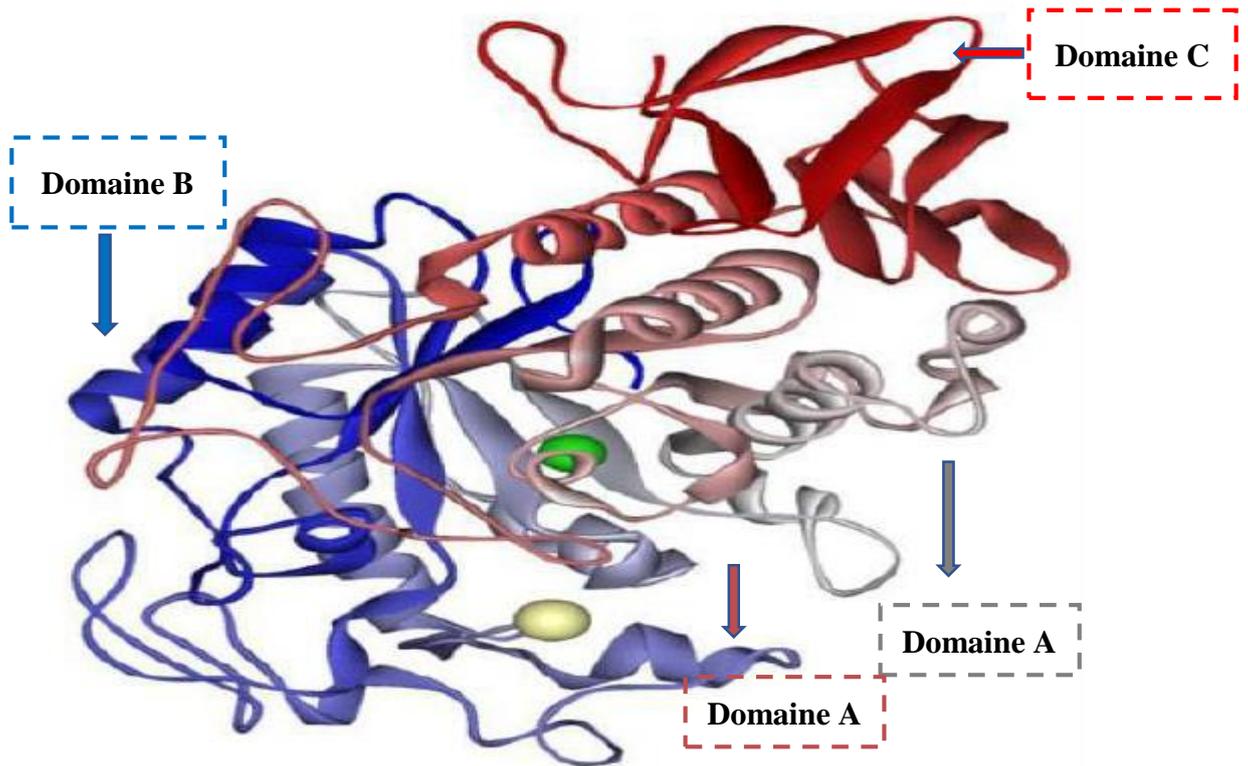


Figure 3 : Diagramme de la structure de l' α -amylase pancréatique humaine en ruban (PDB, 2006).

- **Le domaine A** (rose et gris) : Possède la plus grande dimension, avec 8 feuillets, et des hélices α . Les résidus importants du site actif, qui sont responsables de l'activité catalytique, sont situés dans ce domaine (deux acides aspartique et un acide glutamique). Il possède également le site de liaison de l'ion Cl^- qui représente en vert (**Whitcomb et Lowe, 2007**).
- **Le domaine B** (en bleu) : Domaine situé à côté de la structure cylindrique du domaine A. Il contient des ions de calcium (représenté en jaune) qui maintiennent la structure de la protéine dans la région du site actif (**Mac Gregor et al., 2001**).
- **Le domaine C** (en rouge) : Cette région proche de l'extrémité N-terminale de la molécule semble moins susceptible de jouer un rôle direct dans le mécanisme catalytique. Elle est moins liée aux domaines A et B (**Mac Gregor et al., 2001**).

6.4. Site actif et mécanisme d'action

Le site actif de l' α -amylase se trouve dans une fente prolongée qui sépare les extrémités carboxyle des domaines A et B. La structure tridimensionnelle stabilisée par le calcium (Ca^{2+}), qui se situe entre les domaines A et B et peut également fonctionner comme un activateur allostérique. Le site de liaison au substrat comporte 5 sous-sites, qui sont (-3, -2, 1, +1, +2).

L' α -amylase catalyse l'hydrolyse de l'amidon par un processus de déplacement double qui implique la production et l'hydrolyse d'un intermédiaire enzymatique covalent β -glycosyle. En utilisant les acides carboxyliques du site actif : Asp197, Glu233, et Asp300 comme ayant des propriétés catalytiques. L'Asp197 fonctionne comme un nucléophile qui attaque le substrat au niveau du carbone anomérique du sucre, ce qui entraîne la formation d'un intermédiaire réactionnel lié de manière covalente.

À ce stade, le squelette du sucre est coupé de l'extrémité réductrice du substrat (**Sales et al., 2012**)

Les α -amylases ont plusieurs modes d'action en fonction du substrat et en fonction de l'enzyme utilisée. Le type de produit obtenu dépend à la fois le temps d'incubation et de l'enzyme utilisée (**Berry et Paterson, 1990**).

La rupture de la liaison osidique entraîne une série d'échanges d'électrons et de protons entre des résidus spécifiques de l'enzyme et le substrat, selon le mécanisme d'action de l' α -amylase, qui fait intervenir un attaquant nucléophile, un stabilisateur de la charge positive de l'atome attaqué et un donneur de protons au groupe déplacé. Deux acides carboxyliques et un cycle imidazole constituent les groupes impliqués dans la réaction du site actif (**Parkc et al., 1997**).

Dans certaines conditions expérimentales, telles que la température, le pH et l'activité de l' α -amylase, l'enzyme peut cliver à la fois l'amylose et l'amylopectine et toujours endo-active. Bien que la vitesse de clivage des liaisons 1,4 aux points de ramification puisse être plus lente :

- L'attaque aléatoire, par exemple sur n'importe quelle liaison α -1,4.
- Attaque préférée : l' α -amylase montre une préférence pour certaines liaisons dans le substrat.
- Attaque répétitive ou multiple : elle implique le déplacement de l'enzyme tout au long de la chaîne du substrat, pour hydrolyser les liaisons glucosidiques sans se dissocier du substrat

Un large éventail d'amylases distinctes a été découvert dans le règne microbien (**Berry et Paterson, 1990**).

Le mode d'action des α -amylases a été décrit à l'aide de divers modèles (**Figure 4**)

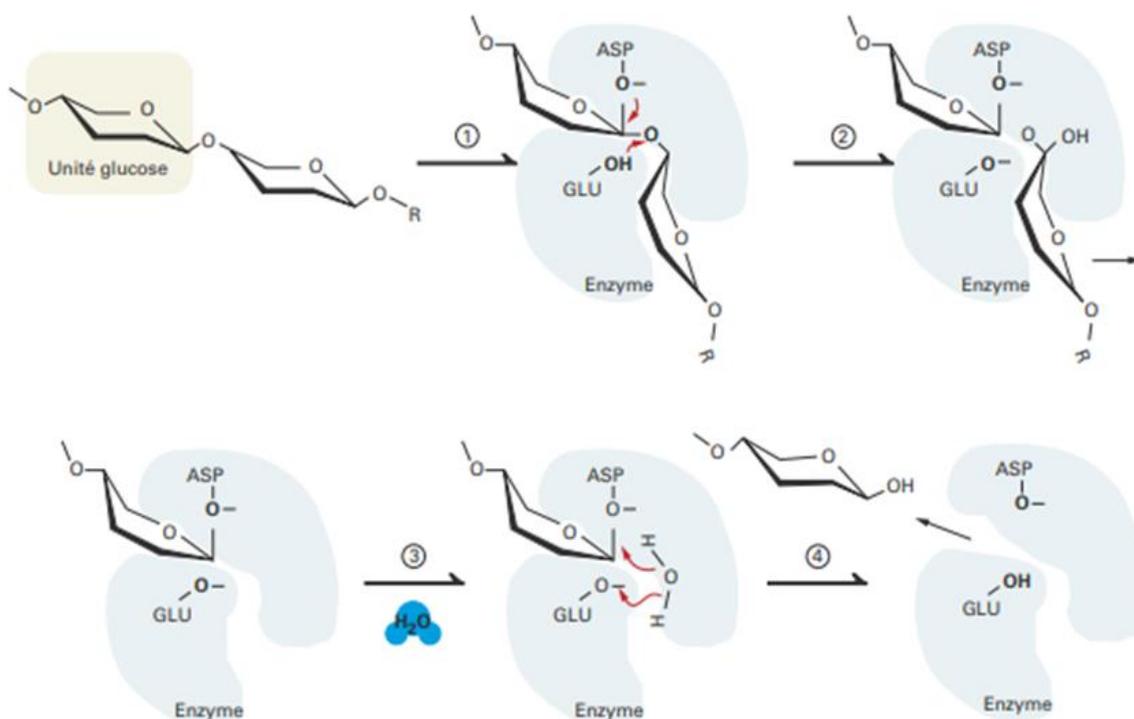


Figure 4 : Le mode d'action de l' α -amylase (Faiveley, 2010)

6.5. Les principales sources de l' α -amylase

Les différentes sources de l' α -amylase (bactérienne, fongique, animale et végétale) n'ont aucun impact sur l'activité amylolytique de l'enzyme. Ils sont produits soit par la fermentation de cellules microbiennes, soit par l'extraction des tissus végétaux et animaux (Nouadri, 2011). Le tableau ci-dessous (Tableau 3) représente les différentes origines de l' α -amylase.

Tableau 3 : Quelques propriétés des α -amylases (Khacheba, 2008)

Enzymes d'origine	Exemples	Poids moléculaire (kDa)	pH optimal	Température optimale (°C)
Animale	Salive humaine	50	6,9	40
	Pancréas de porc	50	6,9	37
Végétale	Malt d'orge	59,5	4,7-5,4	50-55
	Blé	59,5	4,6	60-66
Microbienne	<i>Bacillus coagulans</i>	49	5,2	57
	<i>Aspergillus oryzae</i>	52,6	5,5-6,9	40

6.6. L'inhibition de l'enzyme α -amylase

L'utilisation des inhibiteurs de l' α -amylase est généralement réservée aux situations où il y a une augmentation de la glycémie suite aux repas. Ils ralentissent l'absorption intestinale des hydrates de carbone (DeFronzo, 1999).

Les pseudo-tétracosaccharides d'origine bactérienne, commercialisés comme inhibiteurs des α -glucosidases, comprennent l'Acarbose et le Miglitol. Ces deux substances présentent une similarité structurale avec les oligosaccharides alimentaires et bloquent les α -glucosidases de manière compétitive et réversible, retardant ainsi la dégradation enzymatique des sucres alimentaires (Reuser et Wisselaar., 1994).

Pour de nombreuses thérapies, les plantes sont depuis longtemps une excellente source de médicaments (Odhav et al., 2010 ; Donga et al., 2011).

La création des nouveaux inhibiteurs d'enzymes intestinales d'origine végétale est sujet d'étude dans ce domaine qui se fonde principalement sur les plantes médicinales utilisées par nos ancêtres pour traiter et soigner le diabète sucré (Hamza et al., 2010)

Le tableau ci-dessous (Tableau 4) présente quelques exemples des plantes qui exercent un effet inhibiteur sur l' α -amylase.

Tableau 4 : Plantes à activité inhibitrice de l' α -amylase (Abdellaoui, 2021).

Plante	L'extrait	Mode D'extraction	Partie Utilisée	CI ₅₀	Reference
<i>Ononis Angustissima</i>	Extrait Hydrométhanolique	Macération	Partie Aérienne (Fleurs, tiges et feuilles)	2010 mg /ml	Laoufi et al., 2017
<i>Varthemia Sericea</i>	Extrait Méthanolique	Macération	Feuilles	55,63 ± 1,51µg/ml	Dehimat et Al., 2021
<i>Prosopis Cineraria L</i>	Extrait Méthanolique	Macération	L'écorce de la tige	40,29 mg /ml	Soni Et Al., 2018

*Chapitre II : Plante
étudiée : Cistanche
violacea (Desf.) beck*

1. Plantes antidiabétiques

Le terme "phytothérapie" fait référence au traitement ou à la prévention des maladies par l'utilisation des plantes (Castagna et al., 2022).

De nombreux médicaments recommandés par les médecins sont soit des versions commerciales d'ingrédients naturels, soit des matières végétales directement extraites (Wang et al., 2007).

La découverte des plantes toujours plus efficaces pour le traitement du diabète a eu un impact important sur la phytothérapie antidiabétique. Elle offre la possibilité d'identifier des composés naturels capables de réguler favorablement le métabolisme du glucose tout en évitant les effets indésirables des produits chimiques de synthèse (Eddouks et al., 2007).

2. Plante médicinale

Lorsqu'une plante présente des caractéristiques médicales dans au moins une section, elle est considérée comme médicinale et enregistrée dans la pharmacopée (Bruneton, 1999).

Selon les statistiques de l'OMS, 14 à 28 % de toutes les plantes du monde sont classées comme ayant une valeur médicale. Ces plantes offrent aux chercheurs la possibilité de découvrir de nouveaux produits chimiques bioactifs (Balick, 1990).

2.1. Les plantes antidiabétiques En Algérie

L'Algérie possède une grande variété des plantes médicinales. 60 espèces sont utilisées par la communauté locale et les médecins traditionnels pour soigner un certain nombre des maladies, notamment le diabète sucré (Tableau 5) (Allali et al., 2008 ; Azzi et al., 2012).

Tableau 5 : Les plantes antidiabétiques les plus utilisées recensées à l'ouest algérien (Azzi et al., 2012)

Nom scientifique	Nom vernaculaire	Famille	Parties utilisées	Fréquences (%)
<i>Trigonella foenum-graecum</i> L.	Halba	Fabacée	Graines	17,23
<i>Citrullus colocynthis</i> L.	Handal	Cucurbitacée	Fruits	6,77
<i>Origanum compactum</i> Benth	Zâtar	Lamiacée	Feuilles	4,92
<i>Punica granatum</i> L.	Rommane	Lythracée	Péricarpe	4,92
<i>Zygophyllum album</i> L.	Aggaya	Zygophyllacée	Feuilles	4,62
<i>Olea europaea</i> L.	Zitoune	Oléacée	Feuilles, Fruits	1,85
<i>Nigelle saliva</i> L.	Sanoudj	Renonculacée	Graines	1,85
<i>Ficus carica</i> L.	Karmous	Moracée	Feuilles, Fruits	154
<i>Zingiber officinale</i> Roscoe	Zandjabil	Zingibéracée	Rhizome	0,62

2.2. Mécanisme de régulation

La baisse du taux de glucose dans le sang est provoquée par un très large éventail de mécanismes. Cela est dû à la grande variété des familles chimiques des constituants végétaux responsables de l'hypoglycémie. Alors que certains ne provoquent l'hypoglycémie que comme un effet secondaire de leurs toxicités. Plusieurs de ces composés se sont révélés être de véritables hypoglycémiantes et pourraient avoir un potentiel thérapeutique. (Jarald et al., 2008).

Les effets antidiabétiques des plantes sont médiés de différentes manières. Les modes d'action antidiabétiques des plantes peuvent être classés comme suit :

- ❖ Diminuer la résistance à l'insuline ;
- ❖ Inhibition du processus de dégradation de l'insuline et la stimulation de la synthèse de l'insuline par les cellules bêta ;
- ❖ Fournir aux cellules β quelques éléments essentiels, comme le calcium, le zinc, le magnésium, le manganèse et le cuivre (Kashikar et Tzjaswita, 2011) ;

- ❖ Action sur les enzymes hépatiques en empêchant la glycogénolyse et/ou la stimulation de la glycogénogenèse (El- Abhar et Schaalán, 2014) ;
- ❖ Réparer ou régénérer les cellules bêta du pancréas ;
- ❖ Inhibant la glycolyse hépatique ;
- ❖ Prévenir l'implication potentielle du stress oxydatif dans le dysfonctionnement des cellules β du pancréas lié au diabète ;
- ❖ Les cellules des îlots de Langerhans deviennent plus nombreuses (Jarald et al., 2008).
- ❖ Inhibition des enzymes intestinales telles que l' α -amylase, l' α -glucosidase, la bêta-galactosidase (Kashikar et Tzjaswita, 2011).

2.3. Modes d'action des plantes médicinales

Par conséquent, les plantes peuvent réduire la glycémie de trois manières différentes :

- ✓ La réduction de la prise de glucose par le sang, ce qui peut se faire de deux façons :
 - L'inhibition de la capacité du foie à produire le glucose dans le sang (glucose de source endogène).
 - Une absorption réduite du glucose intestinal (glucose de source exogène).
- ✓ L'utilisation croissante du glucose par les tissus périphériques, en particulier les muscles.
- ✓ L'augmentation de la sécrétion d'insuline (Hui et Tang, 2009).

Le tableau 6 regroupe le mode d'action de quelques métabolites secondaires extraites plantes antidiabétiques.

Tableau 6 : Mode d'action de quelques plantes antidiabétiques (Belkacem, 2009 ; Ishikawa et al., 2007).

Plante	Principe actif isolé	Classe chimique	Familles	Mécanisme d'action, effet provoqué ou dose administrée
<i>Pterocarpus marsupium</i>	Epicathéchine	Flavonoïdes	Fabacées	Induit la régénération des cellules β et la sécrétion d'insuline
<i>Bauhinia purpura</i>	Quercétine		Légumineuse	Potentialise la sécrétion d'insuline au niveau des cellules β pancréatiques
<i>Nerium oleander</i>	Quercétine et catéchiste		Apocinacées	Inhibition α - glucosidase
<i>Galega officinalis</i>	Galépine	Alcaloïdes	Fabacées	30mg/kg de gaalépine provoquent chez les rats diabétiques une action hypoglycémiant
<i>Coffea arabica</i>	B-sitostérol	Stéroïdes et triterponoïdes	Rubiacées	Activité hypoglycémiant
<i>Panax ginseng</i>	Ginsenside		Cucurbitacées	
<i>Alliant cepa</i>	Allyl propyle disulfide Diallyl disulfide oxide	Composés sulfurés	Liliacées	Effet hypoglycémiant chez des rats rendus diabétiques et des patients ayant un diabète de type 2

3. L'espèce *Cistanche violacea* (Desf.) beck

3.1. Les Orobanchacées

Ce sont des plantes parasites sur la racine des plantes supérieures, à feuilles réduites à l'état de bractées, sans chlorophylle, blanchâtres ou bleuâtres. Les fleurs sont disposées en grappe terminale, voisines de celles des Scrofulariacées. Le calice est de 4 à 5 mm, mais souvent réduit à deux lobes. Les sépales sont latéraux plus en moins divisés. La corolle est tubuleuse bilabée avec quatre étamines. Les ovaires sont uniloculaires de 2 à 3 carpelles et un style à stigmaté en général bilobé (Quezel et Santa, 1963).

3.2. Les espèces de genre *Cistanche*

La définition la plus proche des *Cistanche* est qu'il s'agit d'énormes géantes tropicales et subtropicales. Ils se distinguent du genre *Orobanche* initialement triés par leur corolle sub-régulière et leur calice campanulé à cinq lobes (Figure 5). Le genre compte une quinzaine d'espèces, surtout asiatiques par exemple : *C.violacea* (Desf.), *C.lutea* (Hoffm et Link), *C.tinctoria* (Forsk) (Pauj, 2016).

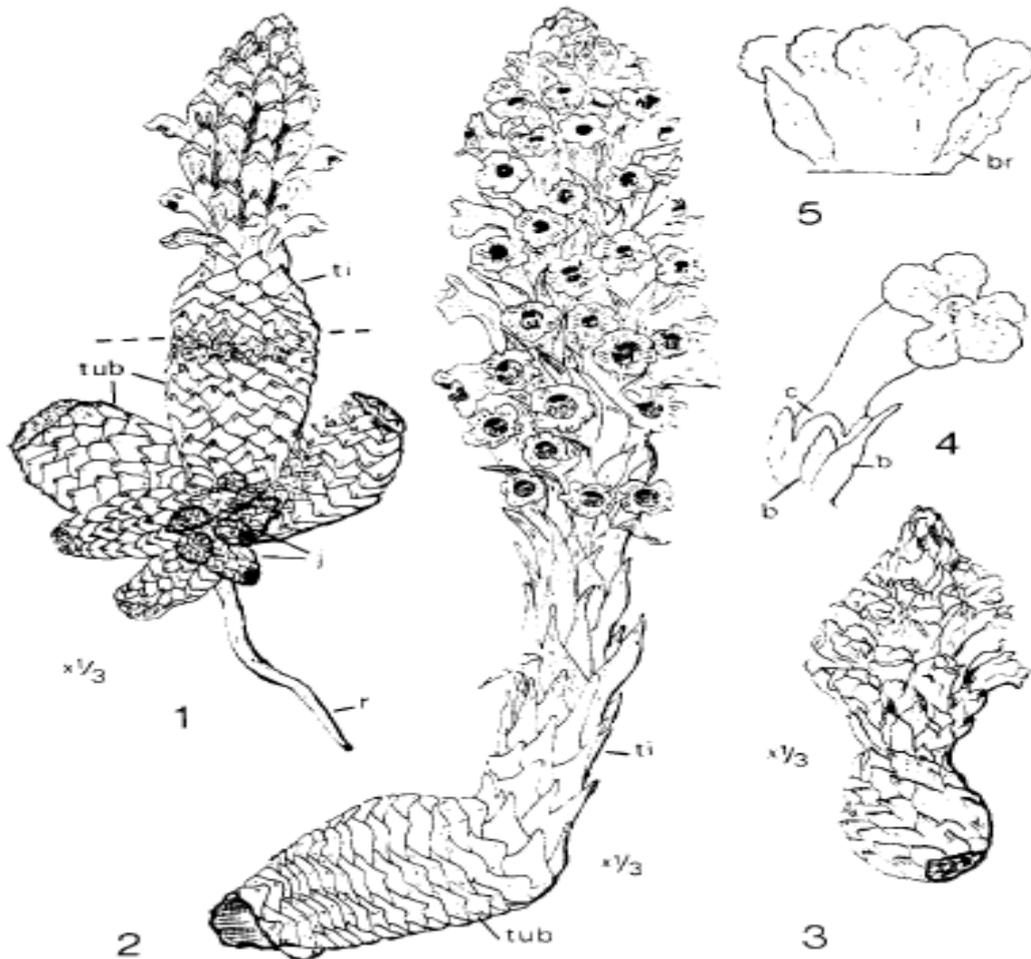


Figure 5 : Morphologies externes du genre *Cistanche* (Pauj, 2016).

- 1 : exemplaire de *C. tinctoria* formé de 5 tiges adultes.
- 2 : exemplaire fleuri de la même espèce
- 3 : exemplaire en boutons de *C. violacea* plus ramassé que dans l'espèce précédente
- 4 : fleur de *C. tinctoria* ; c : corolle, b : bractée
- 5 : calice étalé ; br : bractéole

En Algérie il existe trois espèces de *Cistanche* (Quezel et Santa, 1963), qui sont : *Cistanche mauritanica*, *C. violacea* et le groupe de *C. phelipae* (inclus. *Cistanche tinctorial*, *Cistanche lutea* var. *lutea* ...)

Selon La classification APG III (classification botanique phylogénétique des angiospermes) en 2009, Trois espèces sont présentes au Sahara algérien dont *C. tubulosa*, commune au Sahara central, *C. tinctorial*, qui est une espèce saharienne méditerranéenne, et *C. violacea* (Desf.) Beck également connu sous le nom de *Phelipaea violacea*. Desf (Figure 6) (Le et al., 2010 ; Zengin et al., 2011).

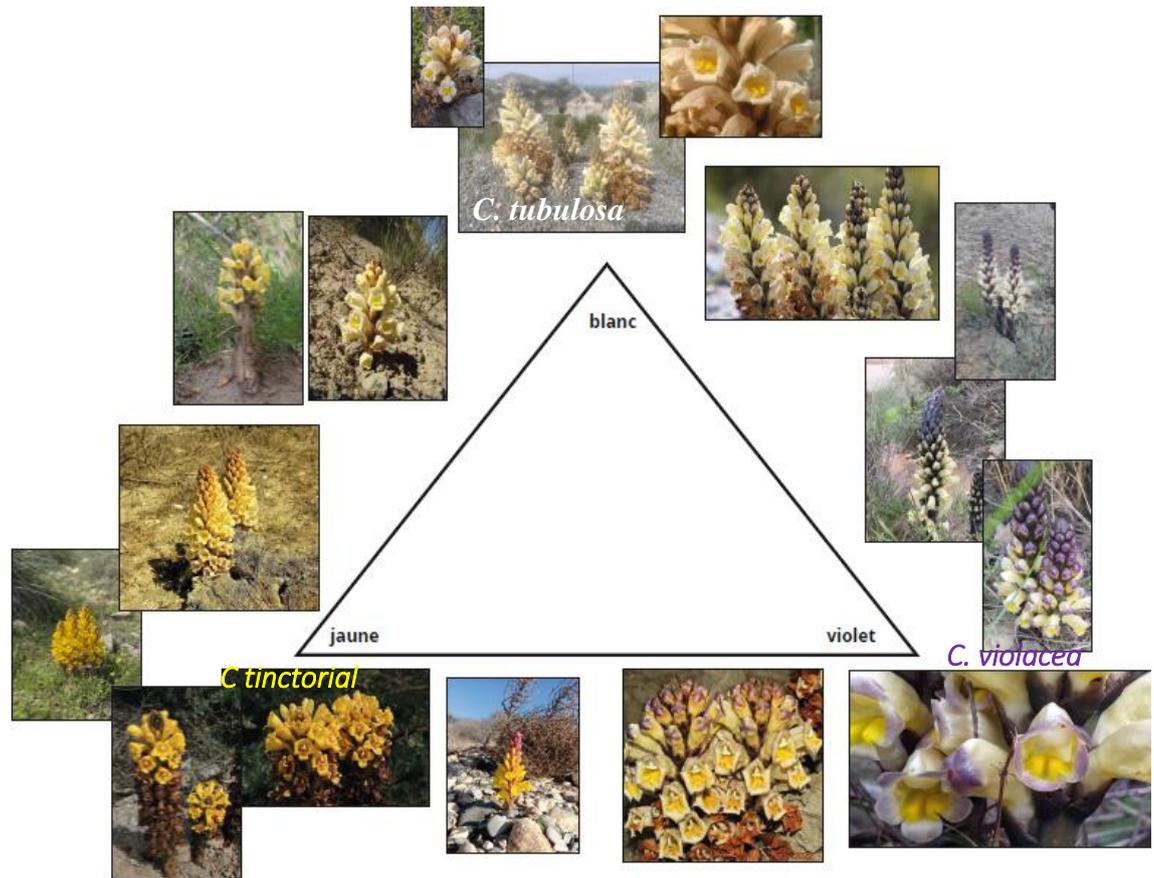


Figure 6 : Les grands trois types de genre *Cistanche* (Al Yasmina, 2022)

L'espèce d'angiospermes *Cistanche violacea*, est également connue sous le nom de *Phelypaea violacea* Desf (Figure 7) (Baba Aissa, 2011).



Figure 7 : *Cistanche violacea* subsp. En Algérie (Al Yasmina, 2022).

4. L'espèce *Cistanche violacea*

4.1. Systématique

Classification botanique de l'espèce *Cistanche violacea* est présenté selon **Quezel et Santa, (1963)** et **Dupont et Guignard (2007)**.

Règne	Plante
Sous-règne	Eucaryotes
Embranchement	Spermatophytes
Sous-embranchement	Angiosperme
Classe	Eudicots
Sous classe	Astéridées
Ordre	Lamiales
Famille	Orobanchacées
Genre	Cistanche
Espèce (Nom binomial)	<i>Cistanche violacea</i> (Desf)

4.2. Noms vernaculaires

- ✓ Danoun (Hammiche et Maiza, 2006).
- ✓ Ahahal (Quezel et Santa, 1963).
- Les autres noms scientifiques synonymique de la plante :
 - ✓ *Orbanche violacea* (Desf.) Beck.
 - ✓ *Phelipaea violacea* Desf.
 - ✓ *Orbanche phelipaea* Willd.

4.3. Description botanique

Cistanche violacea est une espèce parasite sur plusieurs hôtes, citons : *Haloxylon articulatum* et *Limonistrum guyonianum* (Alia et al.,2021). Cette plante est vivace à tige charnue, en grande partie souterraine dont la taille de la partie aérienne varie de 20 à 40 cm (Quezél et Santa, 1963). Elle fleurit au printemps et se poussant dans un sol salin ou sablonneux. Les feuilles en écailles, les supérieures ressemblant aux bractées. L'inflorescence est en épi terminal dense. Les fleurs à l'aisselle de bractées sombres, dont un grande et deux bractéoles latérales. Le Calice à cinq lobes. Le Corolle est violacé atteignant environ 4 cm de long, tubuleuse et s'élargissant progressivement comportant cinq lobes étalés-réfléchis de couleur souvent plus foncée, et inférieurement marquée de deux plis jaunes partant de la gorge. Avec quatre étamines et un style à stigmat bilobé. Les fruits sont capsulés (Beniston, 1984). La capsule est moins aussi longue que le calice, Ceux-ci mesurent 15 à 18 mm (Quezél et Santa, 1963).

4.4. La répartition géographique de l'espèce

Une forte résistance aux conditions climatiques défavorables peut être démontrée dans le genre *Cistanche*. En conséquence, il est trouvé principalement dans une aire méditerranéenne-saharienne. Elle vit sur les sols salés et arides des hauts plateaux jusqu'au Sahara. C'est une espèce indigène d'Afrique du Nord (en particulier la Tunisie, l'Algérie et le Maroc). Elle se trouve aussi dans Arabie saoudite, Libye, Sahara occidental et Égypte (Figure 8) (Baba Aissa, 2011).

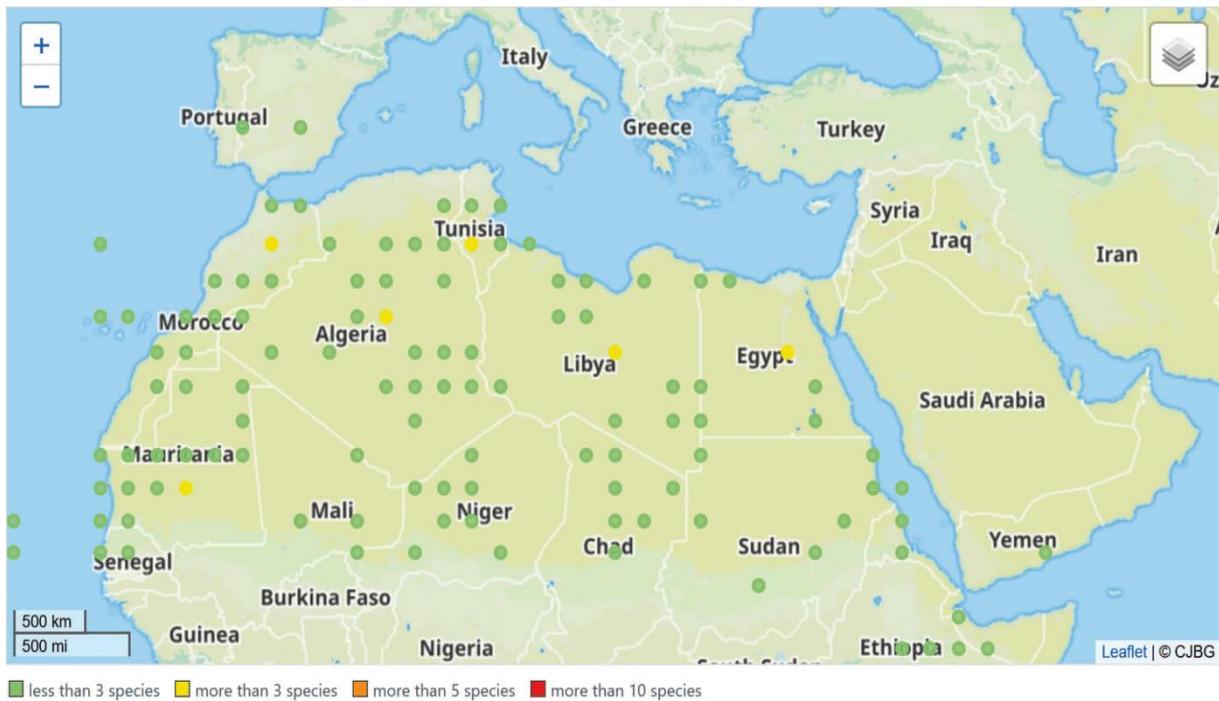


Figure 8 : Répartition géographique des espèces de Cistanche (Al Yasmina, 2022)

4.5. Usage et utilisation

La partie aérienne de *Cistanche violacea* est utilisée en décoction pour traiter le diabète sucré, les maux d'estomac et la diarrhée. Tandis que, la partie souterraine de cette plante, est utilisée comme farine pour ces caractéristiques aphrodisiaques (**Hamliche et Maiza, 2006 ; Baba Aissa, 2011**), De plus, la partie aérienne de cette plante est utilisée comme un condiment (**Maiza et al., 1993**).

Selon **Nada et El-Chaghaby en 2015**, la famille des plantes parasites Orobanchacée, est un groupe de plantes comestibles inhabituel. Néanmoins, elles ont également des applications médicales (**Zhang et al., 2018**). Les applications traditionnelles des Orobanchacée sont été progressivement confirmées par les investigations pharmacologiques modernes (**Wang et al., 2017**). Elle comprit l'impuissance, l'infertilité féminine, la leucorrhée morbide, les métrorragies abondantes, une sensation de froid dans les aînés et les genoux et la constipation chronique chez les personnes âgées (**Shanghai, 1977**).

La dose tolérée d'extrait hydro-éthanolique de *Cistanche tubulosa* pour la toxicité orale aiguë est de 10 g/kg pc. Par conséquent, il s'agit d'un extrait non toxique qui peut être utilisé pour créer des repas nutritifs (**Wang et al., 2017**).

Les chercheurs prétendent qu'il a des propriétés sédatives et vasorelaxantes (**Lu, 1998 ; Yoshikawa et al., 2006**), ainsi que la capacité d'améliorer le comportement sexuel et

d'apprentissage (Sato et al., 1985). L'espèce *Cistanche* est largement utilisée en Chine, mais il est également utilisé en Asie du Sud-Est, au Japon et dans d'autres pays comme complément alimentaire nutritif pour la santé des hommes. Dans l'édition 2010 de la Pharmacopée chinoise, les tiges de *C. deserticola* et *C. tubulosa* ont été traditionnellement utilisées comme stimulants de la circulation sanguine, traitement contre l'impuissance, le lumbago, la faiblesse corporelle et les toniques (Namba, 1994 ; Kobayashi et al., 1989).

4.6. Composition chimique

Les alcaloïdes, les flavonoïdes, les tanins, les saponines et les anthocyanes ont tous été identifiés lors d'un criblage phytochimique de la plante *Cistanche violacea* réalisé par Bouchouka (2016).

Selon les résultats de Bouziyani et al., en 2022 ont trouvé cinq composants, Sesamin, β -sitostérol, Tricin, β -sitosterol-3-O-D-glucoside, et Mannitol, qui ont tous été isolés après analyse chimique de trois extraits de la partie aérienne, les quatre substances présentent une bonne activité antioxydante.

Selon Bougandoura et al., en 2016, ont identifié cinq substances chimiques reconnue et un nouvel iridoïde et un nouveau glycoside phényléthanoïde de la fraction soluble dans l'acétate d'éthyle de l'extrait hydro alcoolique des parties aériennes de *Cistanche violacea* Desf.

*Partie II : Partie
expérimentale*

Matériel et Méthodes

Nous avons réalisé notre partie expérimentale au sein du laboratoire de recherche "Antibiotiques, Antifongiques, Physico-chimie, Synthèse et Activités Biologiques (Lapsab), Département de Biologie, Faculté des Sciences Naturelles et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Abou bekr Belkaïd (Tlemcen).

L'objectif principal de ce travail est de tester *in vitro* l'effet des extraits bruts hydrométhanoliques, préparés par macération ou décoction, et leurs fractions d'acétate d'éthyle des racines de *Cistanche violacea* sur l'activité de l'enzyme α -amylase.

À cette fin, nous avons mené les deux études suivantes :

- ❖ **Etude phytochimique** : extraction du matériel végétal à partir de la partie souterraines (les racines) de *Cistanche violacea*, les tests phytochimiques et le dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins de différents extraits
- ❖ **Etude biologique** : Recherche de l'effet inhibiteur des extraits préparés des racines de *C. violacea* vis-à-vis l'activité de l' α amylase.

1. Matériel végétal

1.1. Préparation du matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans notre étude est les racines de *Cistanche violacea*, récoltées durant le mois de mars 2022, dans la région de Moghrar wilaya de Naâma (Algérie) (**Figure 9**)



Figure 9 : la racine de *Cistanche violacea*.

Le matériel végétal a été séché à l'abri de lumière dans un endroit sec et à température ambiante afin de conserver au maximum l'intégrité moléculaire. Après séchage, les racines ont été broyées et stockées soigneusement en vue de réaliser des analyses ultérieures (**Figure 10**).



Figure 10 : Les racines de *Cistanche violacea* séchées et broyées (photo de laboratoire).

1.2. Extraction du matériel végétal

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

1.2.1. Préparation de l'extrait hydro-méthanolique par macération

10 g du matériel végétal séché et broyé de notre plante sont combinés à 150 ml du mélange eau/méthane (30:70) (v/v) à température ambiante pendant 48 heures à l'abri de la lumière. Après filtration, le filtrat hydrométhanolique est soumis à une évaporation du méthanol à l'aide d'un rotavapor à 60°C et un séchage dans une étuve à 37°C. L'extrait sec obtenu (**EBM**) est conservé à l'abri de l'humidité jusqu'à son utilisation.

1.2.2. Préparation de l'extrait hydro-méthanolique par décoction

10 g du matériel végétal séché et broyé de notre plante est mis en contact avec 200 ml d'un mélange eau/méthane (30:70) (v/v) dans un ballon rodé, Le tout est placé au-dessous d'un réfrigérateur. L'ensemble est placé sous reflux dans un chauffe ballon pendant 45 minutes à une température d'ébullition constante. Après filtration, le filtrat hydrométhanolique est soumis à une évaporation du méthanol à l'aide d'un rotavapor à 60°C et un séchage dans une étuve à 37°C. La matière sèche obtenue (**EBD**) est conservée à l'abri de l'humidité jusqu'à son utilisation.

1.2.3. Préparation d'extrait acétate d'éthyle par fractionnement (liquide /liquide)

Après l'évaporation du méthanol de l'extrait hydro-méthanolique, préparé par macération ou décoction, nous avons procédé à une extraction liquide-liquide, à l'aide d'une ampoule à décanter, en utilisant des solvants à polarités différentes :

- L'hexane, est utilisé en premier, pour éliminer les pigments et les graisses ;
- La phase aqueuse récupérée est traitée par acétate d'éthyle (v/v) (deux lavage) ;
- La phase organique acétate d'éthyle récupérée est évaporée à sec à l'aide d'un Rotavapor à 60°C ;
- La fraction acétate d'éthyle est récupérée

Les extraits bruts hydrométhanoliques préparés par macération ou décoction (**EBM et EBD**) et leurs fractions acétate d'éthyle, respective, (**FAEM et FAED**) sont conservés à l'abri de la lumière, afin de réaliser des tests phytochimiques et biologiques.

1.2.4. Calcul de rendements :

Le rendement pour chaque extrait est exprimé en pourcentage et calculé selon la formule suivante :

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

(%) : Rendement exprimé en %.

M : Masse en gramme « g » de l'extrait sec résultant.

M₀ : Masse en gramme « g » du matériel végétal.

La figure 11 représente un schéma qui résume les différentes méthodes de préparation des extraits et des fractions préparées à partir des racines séchées et broyées de *Cistanche violacea*.

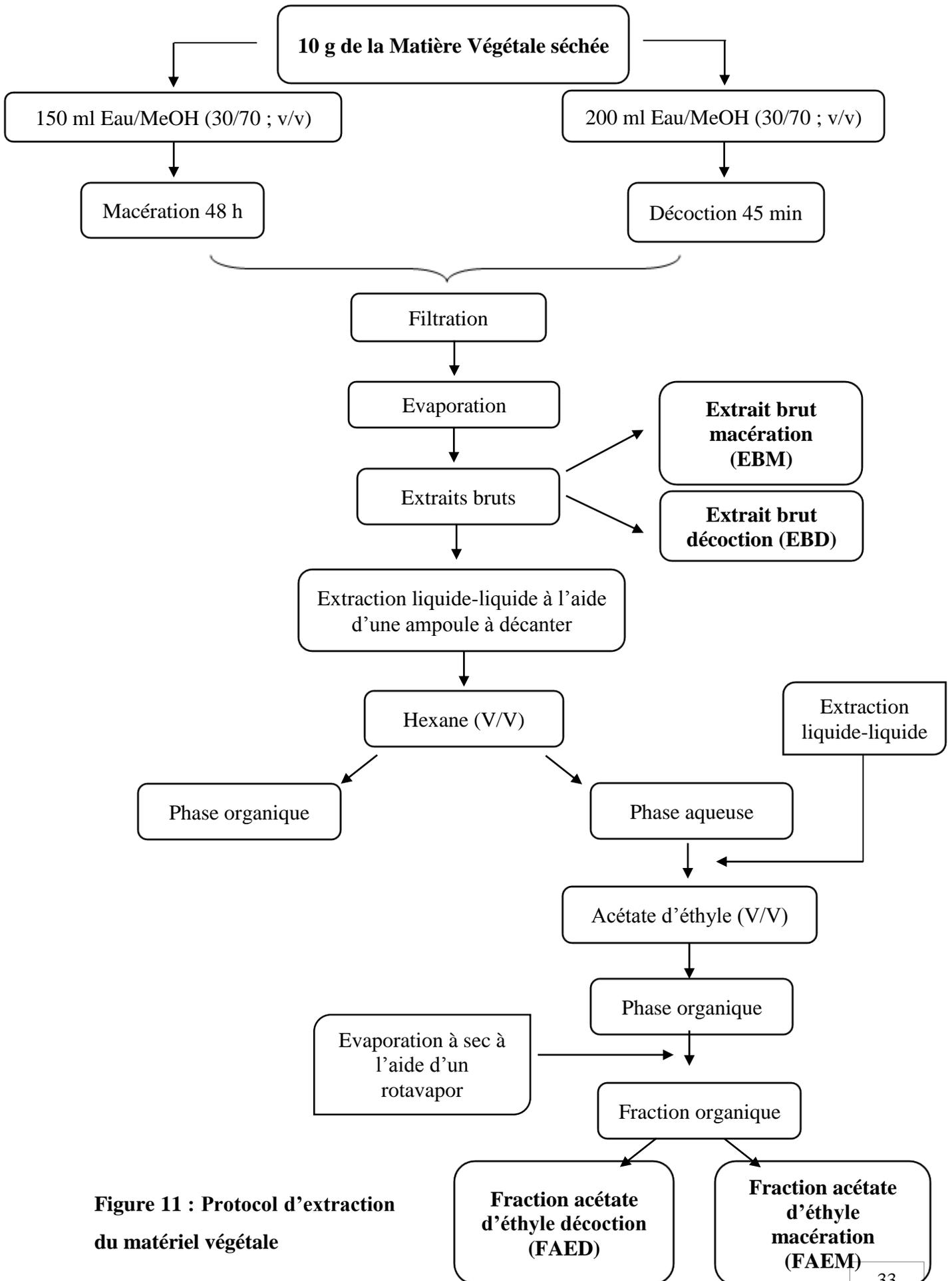


Figure 11 : Protocol d'extraction du matériel végétale

2. Tests phytochimiques

Les extraits préparés ont fait l'objet des tests phytochimique, qualitatifs, afin de détecter la présence ou l'absence de certaines familles chimiques. Ces tests sont réalisés par les méthodes décrites par **Bruneton (1999) et Harbone (1998)**.

Pour cela nous avons réalisé des tests qualitatifs suivant :

2.1. Composés phénoliques :

❖ Tanins

A 1 ml de chaque extrait, nous avons ajouté 0,25ml de FeCl_3 (1%). La présence des tanins est indiquée par une coloration verdâtre ou bleu-noirâtre.

❖ Flavonoïdes

A 1 ml d'extrait, nous avons ajouté 1 ml de HCl concentré puis 3 coupes de tournure de magnésium. L'apparition d'une coloration rouge, rose ou orange prouve la présence des flavonoïdes.

❖ Quinones libres

A 1ml d'extrait, nous avons ajouté 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.

❖ Anthraquinones

A 1 ml de l'extrait, nous avons ajouté 1 ml de NH_4OH à (10%). L'apparition d'une coloration violette indique la présence des anthraquinones.

2.2. Composés azotés :

❖ Alcaloïdes

Dans deux tubes contenant 0,5ml d'extrait et quelques gouttes d'HCl, nous avons ajouté 0,5ml de réactif de Mayer dans le premier tube et 0,5ml de réactif de Wagner dans le second. L'apparition d'un précipité blanc ou brun, respectivement, révèle la présence des alcaloïdes.

2.3. Composés terpéniques

❖ Terpénoïdes

Test de Slakowski : A 1 ml d'extrait, nous avons ajouté 0,4ml de chloroforme et 0,6ml d'acide sulfurique. La formation de deux phases et un couleur marron à l'interphase indique la présence des terpénoïdes.

❖ Saponines

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

2.4. Composés réducteurs

A 1 ml d'extrait nous avons ajouté 1 ml de liqueur de Fehling (0,5ml de réactif A et 0,5ml de réactif B). Les tubes sont incubés au bain marie pendant 8 min. Un test positif est révélé par la formation d'un précipité rouge brique.

3. Dosage des composés phénoliques

Les extraits bruts eau-méthanol sont solubilisés dans l'eau distillé à une concentration de 1 mg/ml et les fractions organiques acétate d'éthyle sont solubilisées dans le méthanol à une concentration de 1 mg/ml pour la détermination des polyphénols totaux et des flavonoïdes.

3.1. Dosage des polyphénols totaux

❖ Principe

La quantité totale des polyphénols totaux et a été déterminée selon la méthode décrite par **Vermerius et Nicholson en 2006**

Le réactif de Folin-Ciocalteu, de couleur jaune, est utilisé. Il est composé d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) qui sont réduits pendant l'oxydation des phénols, en oxyde bleu de tungstène et de molybdène. L'intensité de la coloration bleue est proportionnelle à la quantité de composés phénoliques présents dans l'échantillon, avec un maximum d'absorption à 725 nm (**Vermerius et Nicholson, 2006**).

❖ Mode Opérateur

Les composés phénoliques totaux sont quantifiés comme suit :

- Mélanger 0,1ml d'extrait (1mg/ml) avec 2 ml de la solution de carbonate de sodium (NaCO_3) à 2% ;
- Agiter et incuber pendant 5 min ;
- Ajouter 0,1ml du réactif Folin-Ciocalteu (1N) et incuber pendant 30 minutes à température ambiante, et à l'abri de la lumière ;
- Mesurer l'absorbance au spectrophotomètre à 725 nm contre un blanc.

En parallèle, une gamme d'étalonnage a été réalisée dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme étalon à des concentrations allant de 50 à 500 $\mu\text{g/ml}$.

❖ Expression des résultats

Les résultats sont exprimés en microgramme Equivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait sec ($\mu\text{g Eq AG/mg ES}$). Chaque essai est répété trois fois.

3.2. Dosage des flavonoïdes

❖ Principe

Nous avons réalisé la méthode de dosage colorimétrique décrite par **Zhishen et al., (1999)** pour quantifier les flavonoïdes présents dans les extraits de la plante étudiée.

La méthode repose sur l'oxydation des flavonoïdes en milieu alcalin par le nitrite de sodium (NaNO_2) et le chlorure d'aluminium (AlCl_3), ce qui donne un complexe de couleur rose qui absorbe la lumière à 520 nm.

❖ Mode opératoire

- Mélanger 250 μl de l'extrait (1mg/ml) avec 1 ml d'eau distillée et 75 μl d'une solution de nitrite de sodium NaNO_2 (15%) ;
- Incuber pendant 6 min à température ambiante, ajouter 75 μl de trichlorure d'aluminium AlCl_3 (10%) ;
- Après 6 min d'incubation, ajouter 1 ml d'hydroxyde de sodium (4%) ;
- Compléter le volume total à 100 μl avec l'eau distillée ;

- Agiter le mélange et laisser incuber à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 30 min ;
- Mesurer l'absorbance à 520 nm.

En parallèle, une gamme d'étalonnage a été réalisée dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme étalon à des concentrations allant de 1,25 à 500 µg/ml.

❖ Expression des résultats

Les résultats obtenus sont exprimés en microgrammes d'équivalent catéchine par milligramme d'extrait sec (µg Eq C/mg ES). Chaque essai a été répété 3 fois.

3.3. Dosage des tanins condensés

❖ Principe

Le dosage des tanins condensés est réalisé par le réactif de la vanilline, selon la méthode décrite par **Sun et al., en 1998**.

Les tanins condensés se dépolymérisent en milieu acide et se transforment en réaction avec la vanilline en anthocyanidols de couleur rouge qui absorbe à 550nm. Cette couleur est proportionnelle à la quantité des tanins condensés présents dans les extraits.

❖ Mode opératoire

- Mélanger 50 µl de chaque extrait (1mg/ml) avec 1500µl de la solution vanilline/méthanol (4%, m/v) ;
- Agiter les tubes au vortex et ajouter 750µl du HCl (35%) ;
- Laisser le mélange incubé pendant 20min à température ambiante ;
- Mesurer l'absorbance à 550 nm.

En parallèle, une gamme d'étalonnage a été réalisée dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme étalon à des concentrations de 100 à 1000µg /ml.

❖ Expression des résultats

Les résultats sont exprimés en microgramme Equivalent catéchine par milligramme d'extrait sec (µg Eq C/mg E). Chaque essai a été répété 3 fois.

4. Évaluation de l'effet inhibiteur des extraits de *C. violacea* vis-à-vis l' α -amylase

4.1. Réactifs utilisés

4.1.1. Solution de l' α -amylase

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

4.1.2. Solution de substrat

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

4.1.3. Solution d'extrait

Les extraits secs de la plante étudiée (EBD, EBM, FAED, FEAM) sont dissous dans la solution tampon phosphate (0,02 M, pH 6,9). Une gamme de concentration croissante a été préparée variante de 0,0625 à 16 mg/ml.

4.1.4. Solution d'acarbose

Une solution d'acarbose commercialisé (**Gluconova 50 mg**) à différentes concentrations variantes de 0,125 à 4 mg / ml est préparée dans le tampon phosphate (0,02 M, pH 6,9)

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

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

4.2. Evaluation de l'effet inhibiteur de l' α amylase

❖ Principe

Le principe de cette méthode consiste à évaluer l'effet inhibiteur des extraits de la plante étudiée sur l'activité de l' α -amylase pancréatique. Le substrat utilisé est l'amidon. L'acarbose, une molécule de référence dans l'inhibition de cette enzyme, va servir comme témoin positif (Worthington, 1988).

En milieu alcalin et à chaud, l'oxydation des groupements aldéhydes et cétones libres des sucres 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.

❖ Mode opératoire

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

• Un tube d'essai :

- 200 μ l de solution enzymatique sont ajoutés à 200 μ l de solution d'extrait ;
- Le tout est agité et incubé pendant 10 min à 37° C ;
- 200 μ l de la solution d'amidon sont, ensuite, ajoutés et les tube sont incubés pendant 15 min à 37°C ;
- 400 μ l de DNSA sont ajoutés ;
- Les tubes sont introduits dans un bain marie bouillant pendant 5 min et déposé après dans un bain glaçant ce qui provoque un choc thermique.
- La réaction d'inhibition a été répétée 3 fois pour chaque extrait.

Dans les mêmes conditions, nous avons préparé :

- Un tube blanc (pour le control négatif) : 400 μ l de solution tampon + 200 μ l d'amidon;
- Un tube control négatif : 200 μ l de solution tampon + 200 μ l d'amidon + 200 μ l de solution enzymatique ;
- Un tube blanc (pour l'extrait) : 200 μ l de solution tampon +200 μ l de solution d'extrait +200 μ l d'amidon ;
- L'acarbose est utilisé comme témoin positif.

L'absorbance est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à 540 nm.

❖ Expression des résultats

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

$$I\% = (AA - AB / AA) * 100$$

AA : l'absorbance de control négatif. **AB** : l'absorbance d'échantillon.

Les CI_{50} (concentration inhibitrice de 50%) pour chaque extrait sont calculées à partir des courbes de régressions logarithmiques d'inhibition en fonction des concentrations.

5. Analyses statistiques

Dans toutes les expériences du dosage et d'évaluation de l'effet inhibiteur. Les données expérimentales obtenues ont été exprimées en moyenne \pm l'écart-type.

Moyenne : $m = \Sigma xi/n$

Ecart-type : $\sigma = \sqrt{v}$

*Résultats et
Interprétations*

1. Extraction

Les extraits obtenus à partir des racines de *Cistanche violacea* par différentes méthodes d'extraction présentent des aspects, des couleurs et des rendements variables (**Tableau 7**).

Tableau 7 : Caractéristiques des extraits bruts hydrométhanoliques et leurs fractions acétate d'éthyle des racines de *Cistanche violacea*

	Méthode d'extraction	Rendement (%)	Aspect	Couleur	Solubilité
Extrait Bruts	Macération	21,61	Visqueux	Marron foncé	Eau distillée
	Décoction	21,31	Visqueux	Marron foncé	Eau distillée
Fraction acétate d'éthyle	Macération	0,69	Caramélisé	Marron claire	Méthanol
	Décoction	1,25	Caramélisé	Marron claire	Méthanol

Selon les résultats du tableau 6, nous avons remarqué que les extraits bruts hydrométhanoliques sont récupérés sous forme Visqueux, de couleur marron foncé. Alors que, les fraction acétate d'éthyle ont présenté une couleur Marron clair et aspect caramélisé.

L'extrait bruts hydrométhanoliques sont solubles dans l'eau distillée, contrairement à leurs fractions acétate d'éthyle qui sont insoluble dans l'eau distillée et se solubilisent dans le méthanol.

Les rendements des extraits bruts hydrométhanoliques sont similaires ; l'extrait obtenu par macération a le rendement le plus élevé (21,61%), suivi par l'extrait obtenu par décoction (21,31%), tandis que les deux fractions acétate d'éthyle de l'extrait préparé par décoction et macération montrent les rendements les plus faibles 1,25% et 0,69%, respectivement.

2. Tests phytochimiques

Les résultats de l'analyse phytochimique (du screening phytochimique) réalisé sur les différents extraits bruts hydrométhanoliques, préparés par macération ou décoction, des racines de *Cistanche violacea* sont indiqués dans le **tableau 8**.

L'apparition d'une coloration ou d'une précipitation par l'intermédiaire des réactifs spécifiques témoigne la présence de certaines familles de composés chimiques dans les extraits testés.

Tableau 8 : Résultats des tests phytochimiques réalisés sur les deux extraits bruts hydrométhanoliques, préparés par macération ou décoction, des racines de *Cistanche violacea*.

Tests photochimiques	Les saponines	Anthraquinones	Alcaloïdes		Tannins	Terpénoïdes	Composés réducteurs	Flavonoïdes	Quinones libres
			Mayer	Wagner					
Macération	-	-	-	-	+++	+++	++	-	+
Décoction	-	-	-	-	+++	++	++	+	+

(+++): Fortement présent ; (++) : Moyennement présent ; (+) : Faiblement présent ; (-) : test négatif.

Les tests phytochimiques (Tableau 7) effectués sur les extraits bruts hydrométhanoliques des racines de *Cistanche violacea* ont révélé la présence des tanins des quinones libres, des terpénoïdes, et des composés réducteurs. Tandis que les flavonoïdes ne sont présents que dans l'extrait hydrométhanolique préparé par décoction. Nous avons également noté l'absence des anthraquinones, des anthocyanes, des alcaloïdes et des saponines.

3. Teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés

À l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visibles, des dosages quantitatifs des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés ont été réalisées. La méthode de Folin-Ciocalteu a été utilisée pour déterminer la teneur en polyphénols totaux, la méthode du trichlorure d'aluminium a été utilisée pour déterminer la teneur en flavonoïdes totaux ainsi que la méthode de la vanilline a été utilisée pour déterminer la quantité des tanins condensés. Les courbes d'étalonnage correspondantes ont été projetées avec les absorbances mesurées en fonction des concentrations (Figures 12, 13 et 14) et les résultats obtenus sont exprimés en $\mu\text{g Eq AG/mg ES}$ pour le dosage des polyphénols totaux et en $\mu\text{g Eq C/mg ES}$ pour le dosage des flavonoïdes et des tanins condensés.

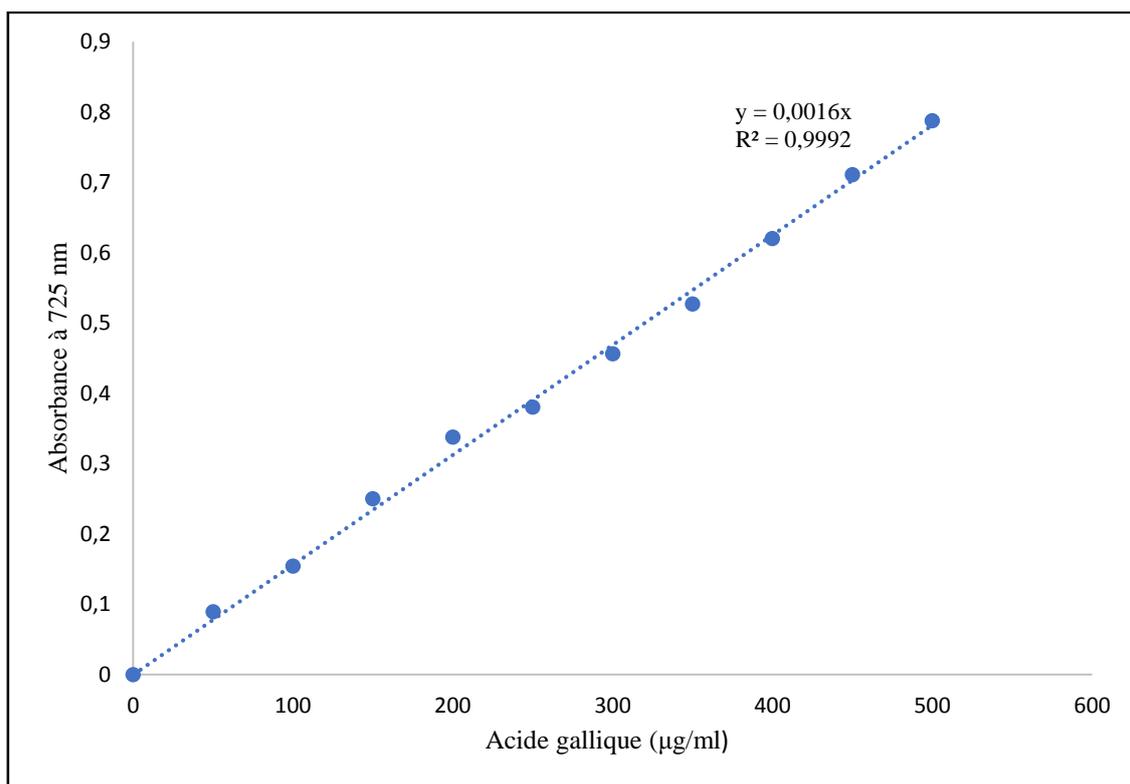


Figure 12 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

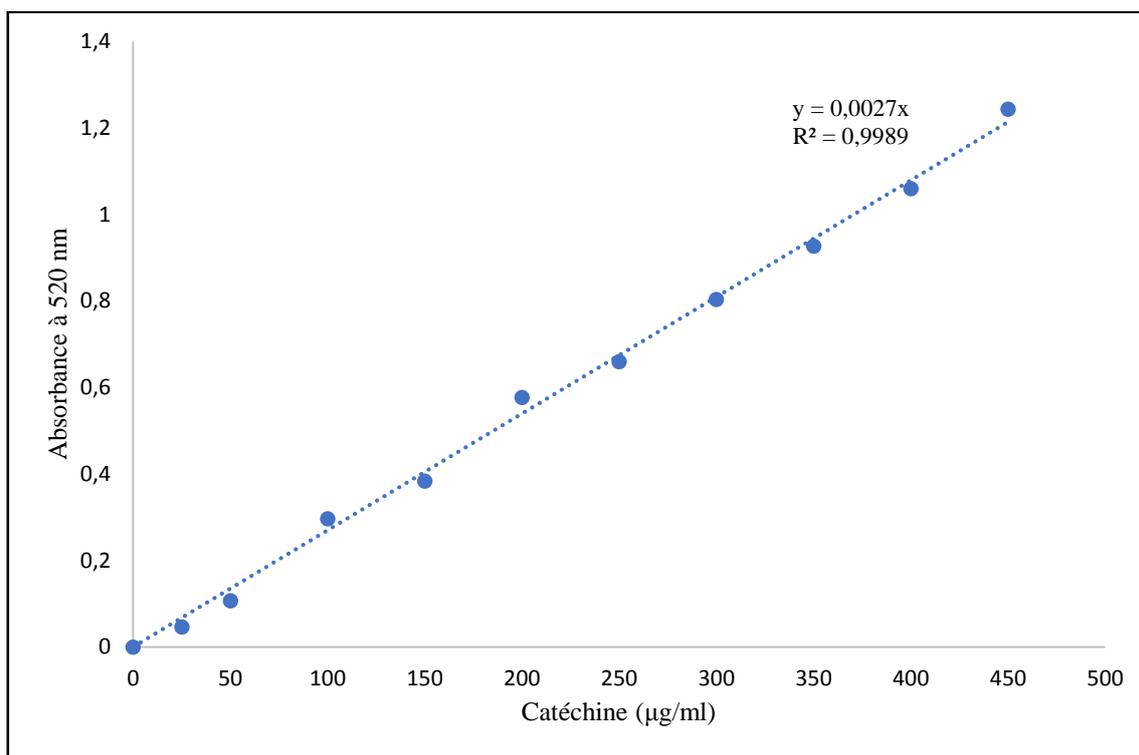


Figure 13 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes.

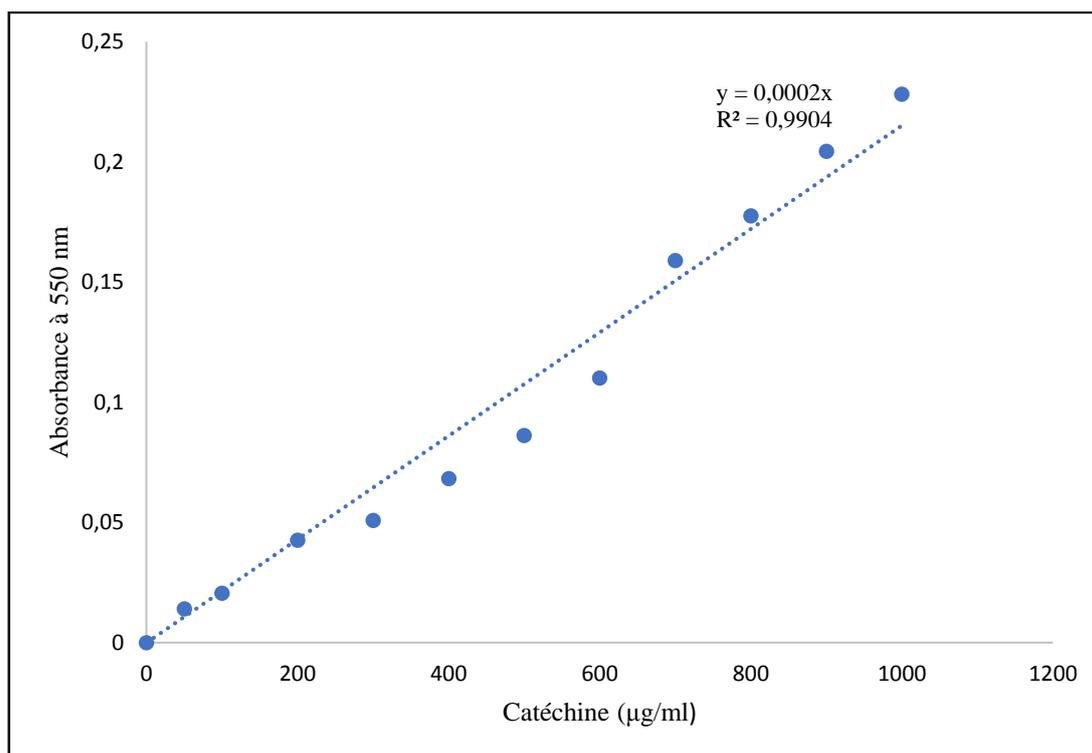


Figure 14 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés.

Les teneurs en polyphénols, en flavonoïdes totaux et en tanins des extraits bruts hydrométhanoliques préparés par macération ou décoction (EBM et EBD) et leurs fractions acétate d'éthyle (FAEM et FAED) sont regroupés dans le tableau 9.

Tableau 9 : Teneurs en polyphénols, flavonoïdes et en tanins des extraits bruts hydrométhanoliques et leurs fractions organiques acétate d'éthyle des racines de *Cistanche violacea*.

Les extraits	Méthode d'extraction	Polyphénols Totaux (µg Eq AG/mg ES)	Flavonoïdes (µg Eq C/mg ES)	Tannins (µg Eq C/mg ES)
Extrait brut Eau-méthanol (EB)	Macération	44,291± 2,861	56,555± 11.575	525,5± 77.5
	Décoction	47,958± 5.609	24,839± 2.508	326,333± 23.875
Fraction Acétate d'éthyle (FAE)	Macération	82,937± 6.750	112,345± 25.719	96,666± 55.353
	Décoction	56,958± 4.677	50,592± 5.922	96,166± 38.013

Les résultats sont présentés sous forme moyenne ± écartype après trois expériences.

Pour le dosage des polyphénols totaux, les deux fractions acétate d'éthyle de l'extrait brut préparé par macération et par décoction renferment les teneurs les plus élevées (82,937 µg Eq AG/mg ES et 56,958 µg Eq AG/mg ES, respectivement), suivi par l'extrait brut préparé par décoction (47,958 µg Eq AG/mg ES), et l'extrait brut préparé par macération (44,291 µg Eq AG/mg ES).

En ce qui concerne les teneurs en flavonoïdes totaux, La fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique obtenus par macération a enregistré la teneur la plus élevée (112,345 µg Eq AG/mg). Tandis que l'extrait brut préparé par décoction présente la teneur la plus faible, (24,839 µg Eq C/mg ES).

Les résultats du dosage des tanins condensés montrent que l'extrait brut hydrométhanolique préparé par macération a la plus forte teneur en tanins condensés (525,5 µg Eq C/mg ES), suivi par l'extrait brut obtenu par décoction avec une teneur de l'ordre de 326,333 µg Eq AG/mg ES. Les autres fractions organiques issues de macération et de décoction présentent des teneurs similaires, avec des teneurs de 96,666 µg d'Eq C/mg ES et 96,166 µg d'Eq C/mg ES, respectivement.

4. Effet des extraits de *Cistanche violacea* sur l'activité de l' α -amylase (*in vitro*)

Dans la présente étude nous avons évalué l'effet inhibiteur des extraits bruts hydrométhanoliques des racines de *Cistanche violacea* et leurs fractions vis-à-vis de l' α amylase en utilisant l'acarbose comme contrôle positif.

Les courbes logarithmiques des pourcentages d'inhibition des extraits en fonction des différentes concentrations d'extraits bruts et leurs fractions ainsi que l'acarbose sont présentées respectivement dans les figures 15 et 16 et les résultats sont exprimés en valeur de CI_{50} (**Tableau 10**).

Les résultats obtenus montrent que les extraits bruts hydrométhanoliques préparés par macération ou décoction (EBM et EBD) et leurs fractions acétate d'éthyle (FAEM et FAED) exercent un effet inhibiteur vis-à-vis de l' α -l'amylase. Cet effet inhibiteur est proportionnel à la concentration de chaque extrait.

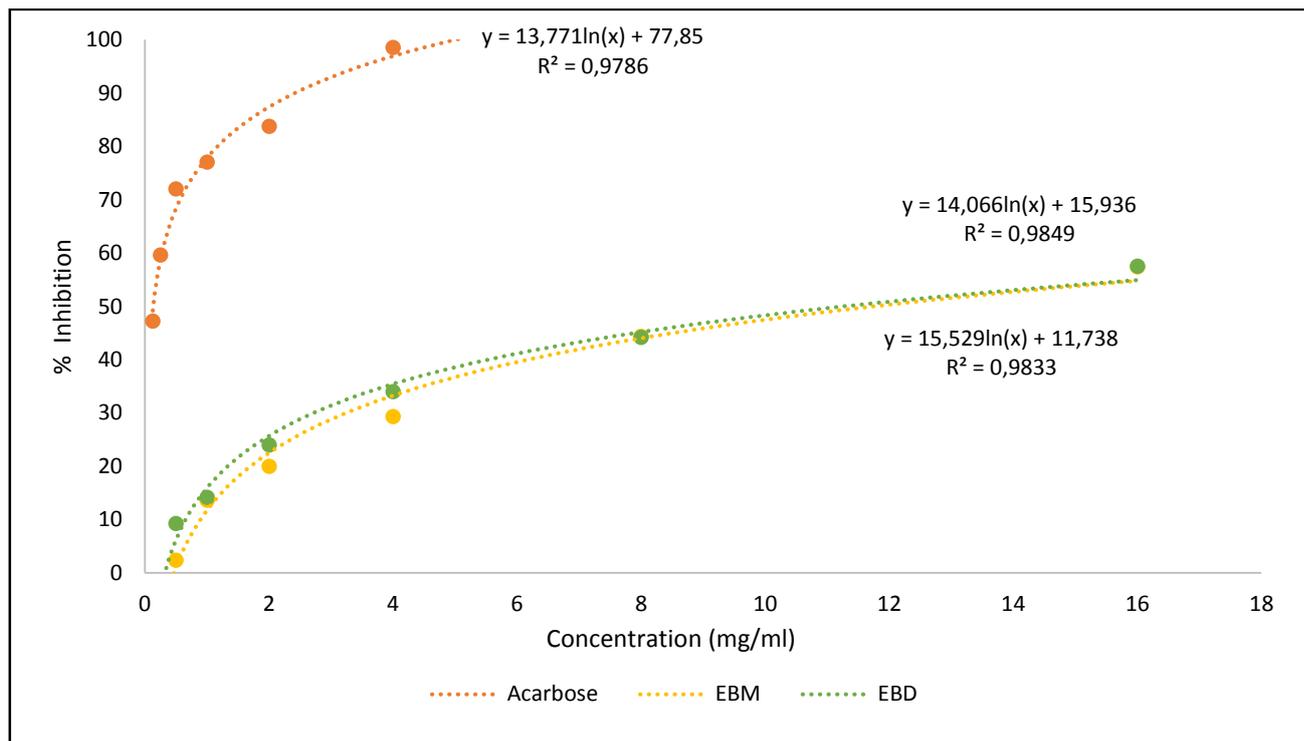


Figure 15 : L'évolution des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations de l'acarbose, l'EBM et l'EBD des racines de *Cistanche violacea*.

EBM : Extrait brut hydrométhanolique préparé par macération

EBD : Extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction.

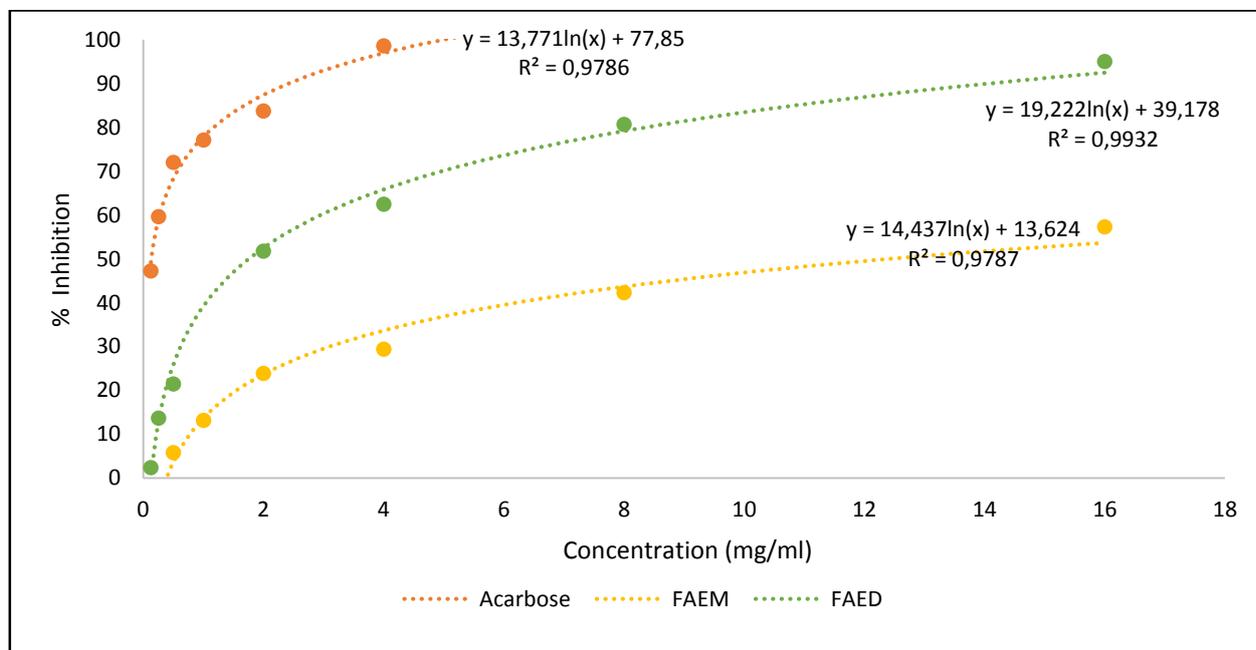


Figure 16 : L'évolution des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations de l'acarbose, la FAEM et la FAED des racines de *Cistanche violacea*.

FAEM : Fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique préparé par macération

FAED : Fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction.

Tableau 10 : Valeurs des CI_{50} de l'acarbose et des extraits des racines de *Cistanche violacea*.

Les extraits préparés	Méthode d'extraction	CI_{50} (mg/ml)
Acarbose	-	$0,132 \pm 0,004$
Extrait brut Eau-méthanol (EB)	Macération	$11,750 \pm 2,5$
	Décoction	$11,265 \pm 0,689$
Fraction organique acétate d'éthyle (FAE)	Macération	$12,424 \pm 2,352$
	Décoction	$1,886 \pm 0,13$

Les résultats sont présentés sous forme moyenne \pm écartype après trois expériences.

La meilleure activité inhibitrice a été enregistrée en présence de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut préparé par décoction (FAED) avec une CI_{50} d'ordre de 1,88 mg/ml suivi par l'extrait brut préparé par décoction ($CI_{50} = 11,26$ mg/ml), l'extrait brut préparé par macération ($CI_{50} = 11,75$ mg/ml) et la fraction acétate d'éthyle de l'extrait préparé par macération (FAEM) ($CI_{50} = 12,424$ mg/ml). Ces activités restent faibles par rapport au témoin positif (Acarbose) qui a enregistré une CI_{50} de l'ordre de 0,132 mg/ml.

Discussion

La valorisation des plantes médicinales et aromatiques suscite un intérêt croissant dans la recherche scientifique à l'échelle mondiale, et sont de plus en plus exploitées dans le domaine pharmaceutique à des fins thérapeutiques et cosmétiques. Dans ce contexte, la présente étude a porté sur l'étude phytochimique et l'évaluation de l'effet inhibiteur des extraits préparés par des racines de *Cistanche violacea* (famille des Orobanchacées) vis-à-vis de l' α -amylase.

Cistanche violacea est une espèce parasite sur plusieurs hôtes, citons : *Haloxylon articulatum* et *Limonistrum guyonianum*. Le parasitisme est une stratégie de vie très efficace et un mécanisme biologique reliant plusieurs espèces des plantes. Au contact des hôtes, la plante parasite se développe vers eux et pénètre sélectivement leurs tissus (Alia et al., 2021).

Dans la partie phytochimique nous avons procédé à la préparation des extraits bruts par macération ou décoction en utilisant le mélange eau-méthanol (30/70), suivie d'une extraction liquide-liquide en utilisant l'acétate d'éthyle.

Les extraits bruts hydrométhanoliques (EBD et EBM) et leurs fractions (FAED et FAEM) sont récupérés sous forme visqueux ou caramélisé de couleur marron dont leurs rendements d'extraction varient en fonction du solvant d'extraction utilisé, sachant que les extraits bruts révèlent les meilleurs rendements par rapport aux fractions et qui sont de l'ordre de 21,61% et 21,31% pour l'EBM et EBD, respectivement.

Bouchouka (2016), a obtenu un rendement de l'ordre de 37,60 % pour l'extrait méthanolique de la partie aérienne de *Cistanche violacea* préparé par l'appareil de Soxhlet.

L'extrait méthanolique des feuilles de *Cistanche violacea*, préparé par macération a montré un rendement de l'ordre de 18,89 % (Kacimi et Ammam Nouas, 2020).

Ben Attia et al. (2020) ont enregistré des rendements qui sont de l'ordre 27,3 % et 26,4 % pour l'extrait aqueux et méthanolique de la partie aérienne de *C. violacea*, respectivement.

Les tests phytochimiques que nous avons réalisés sur les extraits bruts hydrométhanoliques de *Cistanche violacea* ont révélé la présence des tanins, des flavonoïdes, des quinones libres, des terpénoïdes et des composés réducteurs et l'absence des alcaloïdes, des anthraquinones et des saponines.

L'étude réalisée par **Bouchouka (2016)**, a démontré la présence des alcaloïdes, des flavonoïdes, des tanins et des anthocyanes dans l'extrait méthanolique de la partie aérienne de *Cistanche violacea* préparé par l'appareil de Soxhlet.

Le dosage quantitatif des composés phénoliques, effectué sur les mêmes extraits de plante *Cistanche violacea* a permis d'enregistrer les taux les plus élevés en polyphénols totaux et en flavonoïdes dans la fraction acétate d'éthyle, de l'extrait brut préparé par macération (FAEM) avec des teneurs d'ordre de $82,937 \pm 6.750 \mu\text{g Eq AG/mg ES}$ et $112,345 \pm 25.719 \mu\text{g Eq C/mg ES}$, respectivement. Concernant les taux des tanins l'extrait brut préparé par macération (EBM) a présenté le taux le plus élevé avec une teneur de l'ordre de $525,5 \pm 77.5 \mu\text{g Eq C/mg ES}$.

Ben Lacheheb et Houamed (2019) ont trouvé des teneurs de l'ordre de 116 mg Eq AG/g E en polyphénols totaux et de $11,891 \text{ mg Eq Qu / g E}$ en flavonoïdes pour l'extrait méthanolique des fleurs de *C. violacea*.

De plus, l'étude réalisée par **Chenguel (2019)** a enregistré des teneurs en polyphénols et en flavonoïdes de l'ordre de $167,74 \pm 22,36 \text{ mg E AG / g E}$ et $26,76 \pm 2,69 \text{ mg E Q / g E}$ pour l'extrait méthanolique respectivement des fleurs de *Cistanche tinctoria*

Les variations observées dans l'analyse qualitatif et quantitatif peuvent être liés à plusieurs facteurs tels que les facteurs climatiques et environnementaux, la polarité du solvant utilisé, la période de récolte, la partie utilisée, le stade de développement de la plante, la méthode et la durée d'extraction.

Le potentiel antidiabétique des extraits bruts hydrométhanoliques (EBM et EBD) des racines de *Cistanche violacea* et leurs fractions d'acétate d'éthyle (FAEM et FAED) a été étudié en évaluant leurs effet inhibiteur vis-à-vis de l' α -amylase. Les résultats obtenus ont montré que la fraction acétate d'éthyle, récupéré de l'extrait brut préparé par décoction (FAED) a enregistré la meilleure activité inhibitrice avec une CI_{50} de l'ordre de $1,88 \text{ mg/ml}$. Tandis que la fraction acétate d'éthyle obtenue de l'extrait brut préparé par macération (FAEM) a présenté la plus faible activité inhibitrice ($CI_{50} = 12,424 \text{ mg/ml}$). Ces résultats restent inférieurs par rapport à celle de l'acarbose qui a présenté une CI_{50} de l'ordre de $0,132 \text{ mg /ml}$.

Selon notre recherche bibliographique, nous n'avons pas trouvé des travaux publiés sur l'effet inhibiteur de *Cistanche violacea*, vis-à-vis l' α -amylase.

Certaines familles de métabolites secondaires ont montré un effet inhibiteur de l' α -amylase comme les terpénoïdes, les alcaloïdes et les composés phénoliques (Sales et al., 2012). Sachant que les composés phénoliques notamment les flavonoïdes sont les meilleurs inhibiteurs (Sun et al., 2019).

L'effet inhibiteur des extraits bruts hydrométhanoliques de *Cistanche violacea* et leurs fractions vis-à-vis de l' α -amylase pourrait être attribué à leurs teneurs en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins.

La Fraction d'acétate d'éthyle de *Salvia officinalis L* préparé par Décoction, la fraction d'acétate d'éthyle de *Clausena indica* préparé par macération et la fraction de de *Prosopis cineraria* préparé par macération a enregistré une bonne activité inhibitrice sur l' α -amylase avec une CI_{50} d'ordre de $46,50 \pm 2,68 \mu\text{g/ml}$, et $860 \mu\text{g} / \text{ml}$, et $40,29\mu\text{g} / \text{ml}$ respectivement (Mahdi et al., 2020 ; Hoang Anh et al., 2020 ; Soni et al., 2018).

Conclusion

Conclusion

Au terme de notre étude, nous avons pu mettre en évidence la composition phytochimique des racines de *Cistanche violacea*, séchées, et broyées, récoltées au niveau de la région de Moghrar wilaya de Naâma. Ainsi, nous avons consacré ce travail à l'évaluation de l'effet inhibiteur vis-à-vis l' α -amylase des extraits bruts hydrométhanoliques et de ses fractions acétate d'éthyle préparés par deux méthodes : la macération et la décoction des racines de cette plante.

Les résultats obtenus au cours de cette étude ont montré que les racines de *Cistanche violacea* contiennent des polyphénols (flavonoïdes, tanins et quinones libres), les composés réducteur et des terpénoïdes.

L'extrait d'acétate d'éthyle préparé par macération est le plus riche en polyphénols totaux et en flavonoïdes avec des teneurs de l'ordre de l'ordre de $82,937 \pm 6,750 \mu\text{g Eq AG/mg ES}$ et $112,345 \pm 25,719 \mu\text{g Eq C/mg ES}$, respectivement. Mais cela ne nous a pas indiqué qu'il possède l'effet inhibiteur le plus puissant, car on a enregistré une CI50 de 1,88 mg/ml pour l'extrait acétate d'éthyle préparé par décoction.

Notre résultat final montre que les extraits préparés des racines de *Cistanche violacea* peuvent être considérées comme inhibiteur vis-à-vis l' α -amylase riches en composants bioactifs.

Bien que ces résultats soient encourageants, des recherches supplémentaires sont encore nécessaires :

- Étude cinétique enzymatique de l' α amylase en présence et en absence des extraits, en précisant le type d'inhibition.
- Identification des composés phénoliques par des techniques spectrométriques et chromatographiques : RMN, spectrométrie de masse, HPLC, ...
- Tester l'impact de ces extraits sur l'hyperglycémie postprandiale chez les animaux de laboratoire *in vivo*
- De rechercher d'autres mécanismes antidiabétiques à partir des extraits de cette plante.

*Références
bibliographiques*

A

- Abdellaoui, I. (2021). Recherche des plantes antidiabétiques à effet inhibiteur L'enzyme α -amylase. Mémoire de Master Biochimie. Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen.
- ADA (American Diabetes Association). (2017). Standards of medical care in diabetes.
- Agrawal, K. C. (1984). Ecological investigations of *Cistanche tubulosa* Wight, Proceedings of the 3rd International Symposium of Parasitic Organisms, edited by C. Parker, L.J. Musselman, R.M. Polhill, and A.K. Wilson, 31-39.
- Ait, H., Leghlimi, S., Dakhmouche, L., Bennamoun, Z., & Meraihi. (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.
- Al Yasmina. (2022). Contributions à l'étude de la flore du Maghreb & du Sahara Al Yasmina. Rev Botanique. 3 :2
- Alia, F., Chouikh, A., Djahra, A. B., Bousbia Brahim, A., Nani, S., & Tliba, A. (2021). Comparative study of some physicochemical and biological properties of effect host species variation on the relationship Saharan parasitic plant *Cistanche violacea* (Desf.) Beck. 13(4), 1-2.
- Allali, H., Benmehdi, H., Dib, M.A., Tabti, Ghalem, S., & Benabadji, N. (2008). Phytotherapy of diabetes in west Algeria. Asian journal of chemistry. 20(4), 270.
- Assanga, S. B. I., Lujan, L. M. L., Ruiz, J. C. G., McCarty, M. F., Cota-Arce, J. M., Espinoza, C. L. L., & al., (2020). Comparative analysis of phenolic content and antioxidant power between parasitic *Phoradendron californicum* (Torr.) and their hosts from Sonoran Desert. Results in Chemistry. 2(100079), 1-13.
- Azzi, R., Djaziri, R., Lahfa, F., Sekkal, F. Z., Benmehdi, H., & Belkacem, N. (2012). Ethnopharmacological survey of medicinal plants used in the traditional treatment of diabetes mellitus in the North Western and South Western Algeria. 6 (10), 2041-2050

B

- Baba Aissa, F. (2011). Encyclopedie des plantes utiles., Editions El Maarifa, Alger.
- Balick, M. J. (1990). Ethnobotany and the identification of therapeutic agents from the rainforest. In: Chadwick D.J., Marsh J. (eds) Bioactive Compounds from Plants. CIBA Foundation Symposium. John Wiley & Sons, Chichester. 22–39.

Références bibliographiques

- Belkacem, N. (2009). Contribution à l'étude des propriétés antidiabétiques de *Punica granatum* (Grenadier) chez le rat diabétique Mémoire Magistère en biologie. Département de biologie, Faculté des sciences, université de Tlemcen.
- Ben Attia, I., Zucca, P., Marincola, F. C., Nieddu, M., Piras, A., Rosa, A., et al., (2020). Evaluation of the Antioxidant and Cytotoxle Activities on Cancer Cell Line of Extracts of Parasitie Plants Harvested in Tunisia. 70 (3), 253-263.
- Ben Lacheheb, A., et Houamed, M. (2019). Contribution à une étude de l'activité phytochimique et antioxydante du plante parasite du désert *Cistanche violacea* (Dest.) Berk. Mémoire de master université El Ouadi.
- Berry, D. R., & Paterson, A. (1990). Enzymes in the food industry C. J. Suckling (ed.), Enzyme Chemistry Chapman and Hall, 310-311.
- Bouchouka, E. (2016). Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes Sahariennes. Thèse., univ. BADJ Mokhtar-Annaba.
- Bougandoura A, Brigida D, Souad A, Monica S, Mekkioua R, Fiorentino A. (2016). Chemical constituents and in vitro anti-inflammatory activity of *Cistanche violacea* Desf. (Orobanchaceae) extract. Fitoterapia 109, 248-253.
- Bouzayani, B., Koubaa, I., Frikha, D., Samet, S., Ben Younes, A., Chawech, R., & al., (2022). Spectrometric analysis, phytoconstituents isolation and evaluation of *in vitro* antioxidant and antimicrobial activities of Tunisian *Cistanche violacea* (Desf). 76, 3031-3050.

C

- Castagna, J., Kurihara, F., Amsler, E., Soria, A., Barbaud, A. (2022). Quelques Déboires avec la Phytothérapie. Disappointment with herbal medicines. Rev Française d'allergologie, 1-2
- Chenghuel, A. (2019). Phytochemical study and biological activity of different extract from flowers of parasitic plant *Cistanche tinctoria* (Desf.) Berk. Mémoire de master université El-Oued.

D

- Debouba, M., Balti, R., & Zouari, S. (2012). Antioxydant capacity and total phenols richness of *Cistanche violacea* hosting *Zygophyllum album*. 4(3), 399-402.
- DeFronzo, R. A. (1999). Pharmacologic therapy for type 2 diabetes mellitus. Annals of internal medicine, 131(4), 281-303.

Références bibliographiques

- Dehimat, A., Azizi, I., & Baraggan-Montero, V. (2021). In vitro antioxidant and inhibitory potential of leaf extracts of *Varthemia sericea* against key enzymes linked to type 2 diabetes. *Jordan Journal of Biological Sciences*. All rights reserved. 14(1).
- Donga, J. J., Surani, V. S., Sailor, G., Chauhan, S. P., Seth, A. K. (2011). A systematic-review on natural medicine used for Therapy of diabetes mellitus of some Indian Medicinal plants. *An international journal of pharmaceutical sciences. Pharma Science Monitor*; 2 (1), 976-7908.

E

- Eddouks, M., Ouahidi, M. L., Farid, O., Moufid, A., Khalidi, A., & Lemhadri, A. (2007). L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Maroc. *Phytothérapie*, 5(4), 194-203.
- El- Abhar, H., Schaalán, M. (2014). Phytotherapy in diabetes: review on potential mechanistic perspectives. *World J Diabetes*. 5, 176-197.
- Etxeberria, U., Garza, A., Campion, J., Martinez, J. A., & Milagr F. (2012). Antidiabetic effects of natural plant extracts via inhibition of carbohydrate hydrolysis enzymes with emphasis on pancreatic α amylase. *Expert Opin. Ther. Targets* 16(3), 269-271.

F

- FAAD : Fédération Algérienne des Associations de diabétiques (FAAD). (2016). Journée nationale des diabétiques. Relizane.
- Faiveley, M. (2010). Procédés biochimiques et chimiques en agroalimentaire. Produits d'origine végétale. Fabrication des bières. Techniques-ingénieur. ENILBIO Poligny. France.
- Fédération Internationale du Diabète FID. 2017. *Diabetes Atlas*, 8ème édition.
- FID (Fédération Internationale Du Diabète) (2019) *Atlas du diabète 9eme Edition*
- Flora Arabia III by E. Blatter may be found in *Rec. Bot. Surv. India* 8: 1921, 351
- Foley, M. J. Y. (2004). *Orobanchaceae of the Arabian Peninsula*, *Anales jardinbotanico de Madrid*, 58(2), 231-237.

G

- Goldberg, B. (1999). *Alternative Medicine: The Definitive Guide*. Tiburon, Calif : Future Medicine Publishing.
- Goodman, L., Brunton, L.L., Chabner, B., Knollmann, B., Goodman, C. & Gilman's. (2012). *The pharmacological basis of therapeutics*. New York : McGraw-Hill Medical.

Références bibliographiques

- Grover, J.K., Yadav, S., & Vats, V. (2002). Medicinal plants of India with anti-diabetic potential. *J. of Ethnopharmacol* ; 81: 81-100

H

- Hajj, A., Khabbaz, L., Mourad, C., Maroun, C. (2017). Individualisation du traitement des patients diabétiques. *Kine- sither Rev.* ; 18(195), 1-9.
- Hammiche, V., Maiza, K. (2006). Traditional medicine in Central Sahara: Pharmacopoeia of Tassili N'ajjer. *J. Ethnopharmacol*, 105, 358–367.
- Hamza N., Berke B., Umar A., Cheze C., Gin H., Moore N. (2019). A review of Algerian medicinal plants used in the treatment of diabetes. *J Ethnopharmacol*, 238: 111841.
- Hamza, N., Berke, B., Cheze, C., Agli, A.N., Robinson, P., Gin, H. & Moore, N. (2010). Prévention of type 2 diabetes induced by high fat diet in the C57BL/6J mouse by two medicinal plants used in traditional treatment of diabetes in the East of Algeria. *Journal of ethnopharmacology* ; 128(2), 513-518.
- Hoang Anh, L. H., Xuan, T. D., Dieu Thuy, N. T. D., Quan, N. V., & Trang, L. T. (2020). Antioxidant and α -amylase Inhibitory Activities and Phytochemicals of *Clausena indica* Fruits. *Medicines*. 7(3): 10.
- Hui, H., & Tang, G. (2009). Hypoglycemic herbs and their action mechanisms. *Chinese Medicine* ; 4(1), 1-11.

I

- Ishikawa, A., Yamashita, H., Hiemori, M., Inagaki, E., Kimoto, M., Okamoto, M., & al., (2007). Characterization of inhibitors of post prandial hyperglycemia from the leaves of *Nerium indicum*. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*. 53, 16-173.

J

- Jarald, E., Joshi, S. B., & Jain D. C. (2008). Diabetes and herbal medicine. *Iranian Journal of Pharmacology and therapeutics* ; 7, 97-106
- Jean Bruneton. (1999). *Pharmacognosie phytochimie plante médicinales*. Lavoisier 3 : (VII)

K

- Kacimi, A., et Ammam Nouas, S. (2020). Estimation du contenu phénolique et de l'activité antioxydante d'un extrait brut d'une plante *Cistanche violacea (Desf.) Beck*. Mémoire de Master Académique. Université Echahid Hamma Lakhder El-Ouadi.
- Kandra, L. (2003). α -amylase of medical and industrial importance. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*; 666, 487–498.

Références bibliographiques

- Khacheba, I., & Benamar, H. (2008). Effets des extraits de quelques plantes médicinales locales - sur l' α -amylase. Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme d'Ingénieur d'Etat en Biologie. Université Amar Telidji - Laghouat.
- Kobayashi, H., Oguchi, N., Takizawa, T., Miyase, A., Ueno, K., & Usmanghani, M. (1987). New Phenylethanoid Glycosides from *Cistanche tubulosa* (SCHRENK) HOOK. f. I., *Chem. Pharm. Bull.*, 35, 3309-3314.

L

- Laoufi, H., Benariba, N., Adjdir, S., & Djaziri, R. (2017). In vitro α -amylase and α -glucosidase inhibitory activity of *Ononis angustissima* extracts. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 7(02): 191-198.
- Li, Z., Lin, H., Gu, L., Gao, J., & Tzeng, C. M. (2016). Herba *Cistanche* (Rou Cong-Rong): one of the best pharmaceutical gifts of traditional
- Lu, M. C. (1998). Studies on the sedative effect of *Cistanche deserticola*, *J. Ethnopharmacol.*, 59, 161-165.

M

- MacGregor, E., Janecek, S., & Svensson, B. (2001). Relationship of sequence and structure to specificity in the α -amylase family of enzymes. *Stefanikova 3, Slovakia. Rev biochim biophys acta*, 1546, 1-20.
- Mahdi, S., Azzi, R., & Lahfa, F. B. (2020). Evaluation of in vitro α -amylase and α -glucosidase inhibitory potential and hemolytic effect of phenolic enriched fractions of the aerial part of *Salvia officinalis* L. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*. 14(4): 689-694.
- Maiza, K., Brac de la Perrière, R. A. & Hammiche, V. (1993). Médicaments et aliments : Some Parasitic Angiosperms of Sudan, *Hydronaceae, Orobanchaceae, and Cuscuta (Convolvulaceae)*, *Notes RBG Edinb*, 42 (1984), 21–38.
- Marles, R. J., & Farnsworth N. (1996). antidiabetic plants and their active constituent. 1(3), 85-135.
- Médail, F., Pavon, D., Diadema, K., & Salanon, R. (2011). Sur la présence d'une très rare orobanche, *Phelipanchelavandulacea* (Rchb.) pomel en principauté de monaco. *Riviera Scientifique*, 95, 31–42.
- Miot, A., Ragot, S., & Hammi, W. (2012). Prognostic value of resting heart rate on cardiovascular and renal outcomes in type 2 diabetic patients: a competing risk analysis in a prospective cohort. *Diabetes Care* ; 35: (20), 69–75.

N

- Nada, A.S., & El-Chaghaby, G. A. (2015). Nutritional evaluation, phytoconstituents analysis and biological activity of the parasitic plant *Orobanchecrenata*. *Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences*, 5(1), 171–180.
- Namba, T. (1994). In *The Encyclopedia of Wakan-Yaku (Traditional Sino-Japanese Medicines) with Color Pictures (Vol II)*, Hoikusha publishing Co. ltd. Osaka, 80.
- Nissen, S. E., & Wolski, K. (2007). Effect of rosiglitazone on the risk of myocardial infarction and death from cardiovascular causes. *New England Journal of Medicine*; 356 (24): 2457-2471.
- Nouadri, T. (2011). L' α -amylase de *Penicillium camemberti* PL21 : Production, Purification, Caractérisation et Immobilisation. Thèse de Doctorat. Biochimie /Biotechnologies. Constantine : Université Mentouri.
- NT. WS. Beniston. 1984. *Fleurs d'Algérie*. Entreprise national du livre 3 Bd Zirout Youcef Alger : éd 1822/84 (197).

O

- Odhav, B., Kandasamy, T., Khumalo, N., Baijnath, H. (2010). Screening of African traditional vegetables for their α -amylase inhibitory effect. *Journal of Medicinal Plants Research*; 4(14), 1502-1507.
- Oubré, A. Y., Carlson, T. J., King, S. R., & Reaven, G. M. (1997). From plant to patient: an ethnomedical approach to the identification of news drugs for the treatment of NIDDM. *Diabetologia*. 40: 614-617.
- Ozenda., P. (1991). *Flore et Végétation du Sahara*. Éd. CNRS, Paris. 662.

P

- Piwowarczyk, R., Ochmian, I., Lachowicz, S., Kapusta, I., Sotek, Z., & Baszak, M. (2020). Une étude de cas de *Cistanche armena* illustrant les relations et les interactions entre les parasites phytochimiques et les hôtes. *Science de l'environnement total* 716 (137071), 1–11.
- Ponnusamy, S., Haldar, S., Mulani, F., Zinjarde, S., Thulasiram, H., & RaviKumar, A. (2015). Gedunin and Azadiradione: Human Pancreatic A-Amylase Inhibiting Limonoids from Neem (*Azadirachta indica*) as Anti-Diabetic Agents. 10(10), 1 – 19.

Q

Références bibliographiques

- Quezel, P., & Santa. S., (1963). Nouvelles flores de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Paris. CNRS France. 852 ; 854.

R

- Rahman, A. U., & Zaman, K. (1989). Medicinal plants with hypoglycemic activity. *J Ethnopharmacol.* 26: 1-55. 9.
- Reuser, A. J. J., & Wisselaar, H. A. (1994). An evaluation of the potential side-effects of α -glucosidase inhibitors used for the management of diabetes mellitus. *European journal of clinical investigation*, 24(3), 19-24.
- Rhabasa-Lhoret R., Chiasson J.L. (2004). (Eds.), *International Textbook of Diabetes Mellitus*, vol. 1, third ed. John Wiley & Sons Ltd., UK. 901–914.

S

- Sales, P. M., Souza, P. M., Simeoni, L. A., Magalhães, P. O., & Silveira, D. (2012). α -Amylase Inhibitors: A Review of Raw Material and Isolated Compounds from Plant Source. *J Pharm Pharmaceut Sci.* 15(1), 141 – 142.
- Sánchez Pedraja, Ó., Moreno Moral, G., Carlón, L., Piwowarczyk, R., Laínz, M., Schneeweiss, G. M. (2005). *Index of Orobanchaceae*.
- Sato, T., Kozima, S., Kobayashi, K., & Kobayashi, H. (1985). Pharmacological studies on *Cistanchis Herba*. Effects of the constituents of *Cistanchis Herba* on sex and learning behavior in chronic stressed mice (1) *Yakugakuzasshi : Journal of the Pharmaceutical Society of Japan*, 105, 1131-1144.
- Scheen A-J. (2015). Antidiabétiques oraux dans le traitement du diabète de type 2 : perspectives historique et médico - économique. *Médecine des maladies Métaboliques ;* 9(2):186-197
- Shanghai, A. (1977). *Jiangsu New Medical College, Dictionary of Chinese Materia Medica*, Shanghai Science and Technology Press, 895-897.
- Soni, L. K., Dobhal, M. P., Arya, D., Bhagour, K., Parasher, P., & Gupta, R. S. (2018). In vitro and in vivo antidiabetic activity of isolated fraction of *Prosopis cineraria* against streptozotocin-induced experimental diabetes: A mechanistic study. *Biomedicine & Pharmacotherapy.* 108: 1015–1021.
- Soumyanath, A. (2006). *Traditional Herbal Medicines for Modern Times: Antidiabetic plants*. CRC Press. 6, 19-82.
- Sun, B., Ricardo-da-Silva, J. M. & Spranger, I. 1998. Critical factors of vanillin assay for Catechins and Proanthocyanidins. *J. Agricultural and Food Chemistry.* 46: 4267-4274.

Références bibliographiques

- Sun, L., Warren, F. J., & Gidley, M. J. (2019). Natural products for glycaemic control: Polyphenols as inhibitors of α -amylase. *Trends in Food Science and Technology*, 91, 262–273.

V

- Vermerius, W., & Nicholson, R., 2006. Isolation and Identification of Phenolic Compounds. In: *Phenolic Compound Biochemistry*. Springer, Dordrecht, p. 35-191.

W

- Wang, M. W., Hao, X., & Chen, K. (2007). Biological screening of natural products and drug innovation in China, *Phil. Trans. R. Soc. B*; 362: 1093-1105
- Wang, N., Ji, S., Zhang, H., Mei, S., Qiao, L., & Jin, X. (2017). HerbaCistanches: anti-aging. *Aging Dis* 8(6), 740–759.
- Wang, T., Zhang, X., Xie, W., & Ma, Y. C. (2012). *Cistanche deserticola* “Desert Ginseng”: a review. *Am J Chin Med*, 40(06), 1123–1141.
- Whitcomb, D. C., & Lowe, M. E. (2007). Human pancreatic digestive enzymes. *Dig Dis Sci*; 52: 1-17.
- Worthington C. C. (1988). *Worthington enzyme manual: enzymes and related biochemicals*. Worthington Biochemical Corporation.
- Yoshikawa, H., Matsuda, T., Morikawa, H. H., Xie, S., Nakamura, O., & Muraoka, M. (2006). Phenylethanoidoligoglycosides and acylatedoligosugars with vasorelaxant activity from *Cistanchetubulosa*, *Bioorg. Med. Chem.*, 14, 7468-7475.

Z

- Zengin, G., Yildiztugay, E., Aktumsek, A., Guler, G. O., & Cakmak, Y. S. (2011). Registres des produits naturels. Activités antioxydantes de l'extrait méthanolique et de la teneur en acides gras de *Centaurea villosa* DC. Subsp. *Hayekiana* Wagenitz. 5(2), 123–132.
- Zhang, A., Yang, X., Li, Q., Yang, Y., Zhao, G., Wang, B., & Wu, D. (2018). Immunostimulatory activity of water-extractable polysaccharides from *Cistanche deserticola* as a plant adjuvant *in vitro* and *in vivo*. *PLOS ONE*, 13(1), e0191356.
- Zhang, C. Z., Wang, S. X., Zhang, Y., Chen, J. P., & Liang, X. M. (2005). In vitro estrogenic activities of Chinese medicinal plants traditionally used for the management of menopausal symptoms. *J Ethnopharmacol.* 98(3), 295–300.
- Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W., 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem.* 64, 555-559.