

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلم



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la  
Recherche Scientifique

جامعة أبو بكر بلقايد - تلمسان

Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMCEM



كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون

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

Département de Biologie

Laboratoire de recherche

« Antibiotiques, Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique »

MÉMOIRE

Présenté par

RAMDANE Bouchra et BENALLAL Soumia

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Sciences biologiques

Option : Biochimie appliquée

*Thème*

Contribution à l'évaluation de l'effet inhibiteur de  
l'*Arbutus unedo* sur l'alpha amylase.

Soutenu le 22 Juin 2023, devant le jury composé de :

Président	BENARIBA N.	M.C.A	Université de Tlemcen
Encadrant	MEDJDOUB H.	M.C.B	Université de Tlemcen
Examineur	BOUALI W.	M.C.A	Université de Tlemcen

Année Universitaire 2022/2023

## ملخص

مرض السكري هو مرض استقلابي يتميز بارتفاع سكر الدم المزمن الذي يمكن أن يسبب عدة مضاعفات في الجسم. يسمح التحكم الجيد في نسبة السكر في الدم منع أو تقليل حدوث هذه المضاعفات. يتم علاجه بالأنسولين ومضادات السكر الفموية التي يمكن أن تسبب آثارًا جانبية خطيرة، على عكس النباتات الطبيعية التي تسبب القليل لرؤيتها في جميع الآثار الجانبية.

يستند الهدف من هذا العمل إلى البحث عن التأثير المثبط  $\alpha$ -أميلاز من خلال مستخلصات المصل الخام والمنقى لثمرة *Arbutus unedo* L. من عائلة Ericaceae، والتي توجد على نطاق واسع في منطقة تلمسان. تبدأ دراستنا بتوصيف مستخلصات المصل من خلال البحث عن الأحماض الأمينية والمركبات الفينولية وقياس درجة الحموضة وطيف FT-IR وتحليل كمي لتحديد مستويات البروتين والسكر

عائد المستخلص الخام هو  $1.45 \pm 1.10\%$  وبالنسبة للمستخلص المنقى هو  $3.60 \pm 0.45\%$  وهو أعلى قليلاً من الآخر. وبالتالي، أظهرت الاختبارات وجود الأحماض الأمينية في كلا المستخلصين بينما توجد العفص فقط في المستخلص الخام. وتبين نتيجة التحليل الفيزيائي لجهد الهيدروجين (pH) لمستخلص الخام أن قيمة الأس الهيدروجيني الحمضي 3.43 تتناقض مع نتيجة المستخلص المنقى بقيمة الأس الهيدروجيني 8.02. محتويات البروتين 46.49 و 17.49% و 2.77 و 0.24% بينما السكريات  $1.14 \pm 0.12\%$  و  $0.08 \pm 0.07\%$  للمستخلص الخام والنقي على التوالي. بينما يُظهر تحليل FT-IR أطياف مميزة من المصل

بالإضافة إلى ذلك، تظهر النتائج التي تم الحصول عليها تثبيطاً لالفا-أميلاز عن طريق مستخلصات المصل، ولكن مع قيم  $IC_{50}$  المتغيرة. المستخلص الخام ( $IC_{50} = 2.153$  ملغ/مل) من هذا النبات تسبب في التأثير المثبط الأكثر فاعلية بالمقارنة مع المستخلص المنقى ( $IC_{50} = 5.17$  ملغ/مل)، والذي لا يزال أقل من خلال الإمداد للجزيء المرجعي، أكاربوز ( $IC_{50} = 0.16$  ملغ/مل).

في ضوء النتائج التي تم الحصول عليها في دراستنا، يمكننا أن نستنتج أن *Arbutus unedo* يمكن أن يمارس تأثيراً على تنظيم ارتفاع سكر الدم بعد الولادة عن طريق تثبيط نشاط لالفا-أميلاز، وبالتالي تقليل امتصاص الجلوكوز.

**الكلمات الرئيسية:** *Arbutus unedo* L.، الفا-أميلاز، الصمغ الخام، الصمغ منقى.

## Résumé

Le diabète sucré est une maladie métabolique caractérisée par une hyperglycémie chronique qui peut provoquer plusieurs complications dans le corps. Un bon contrôle glycémique permet d'empêcher ou de réduire la survenue de ces complications. Il est traité par l'insuline et les antidiabétiques oraux qui peuvent causer des effets secondaires graves, contrairement aux plantes naturelles qui causent peu voir par du tout des effets secondaires.

L'objectif de ce travail repose sur la recherche de l'effet inhibiteur de l' $\alpha$ -amylase par les extraits de mucilage brut et purifié du fruit d'*Arbutus unedo* L. de la famille des Ericacée, largement répandu dans la région de Tlemcen. Notre étude commence par une caractérisation des extraits de mucilage en recherchant les acides aminés, les composés phénoliques, mesure de pH, un spectre FT-IR et une analyse quantitative visant à l'identification des taux de protéines et de sucres.

Le rendement en extrait brut est de  $1,45 \pm 1,10\%$  et pour l'extrait purifié est de  $3,60 \pm 0,45\%$  qui est un peu plus élevé à l'autre. Ainsi, les tests ont montré la présence des acides aminés dans les deux extraits par contre les tannins sont trouvés seulement dans l'extrait brut. Le résultat de l'analyse physique de potentiel d'hydrogène (pH) de l'extrait brut montre une valeur de pH acide qui est de 3,43 contredisait au résultat de l'extrait purifié basique avec une valeur de pH de 8,02.

Les teneurs en protéines sont  $46,49 \pm 17,49\%$  et  $2,77 \pm 0,24\%$  alors que les sucres sont  $1,14 \pm 0,12\%$  et  $0,08 \pm 0,07\%$  pour le mucilage brut et purifié respectivement. Tandis que l'analyse par FT-IR montre des spectres caractéristiques des mucilages.

De plus, les résultats obtenus montrent une inhibition de l' $\alpha$ -amylase par les extraits de mucilage, mais avec des valeurs d' $IC_{50}$  variables. L'extrait brut ( $IC_{50} = 2,153$  mg/ml) de cette plante a causé l'effet inhibiteur le plus puissant par rapport à l'extrait purifié ( $IC_{50} = 5,17$  mg/ml), et qui reste inférieur par rapport à la molécule de référence, Acarbose ( $IC_{50} = 0,16$  mg/ml).

A la lumière des résultats obtenus dans notre étude, nous pouvons conclure qu'*Arbutus unedo* peut exercer un effet sur la régulation de l'hyperglycémie postprandiale par inhibition de l'activité de l' $\alpha$ -amylase, et par la suite, une réduction de l'absorption du glucose.

**Mots clés :** *Arbutus unedo*L. ,  $\alpha$ -amylase, mucilage brut, mucilage purifié.

## Abstract

Diabetes mellitus is a metabolic disease characterized by chronic hyperglycemia that can cause several complications in the body. Good glycemic control helps prevent or reduce these complications. It is treated with insulin and oral antidiabetics that can cause serious side effects, unlike natural plants that cause little to see by any side effects.

The objective of this work is based on the research of the inhibitory effect of  $\alpha$ -amylase by the extracts of raw and purified mucilage of the fruit of *Arbutus unedo* L. of the Ericaceae family, widely responded in the region of Tlemcen. Our study begins with a characterization of mucilage extracts by searching for amino acids, phenolic compounds, pH measurement, a FT-IR spectrum and a quantitative analysis to identify protein and sugar levels.

The extract yield is 1.45 1.10% and for the purified extract is 3.60 0.45% which is slightly higher than the other. Thus, tests have shown the presence of amino acids in both extracts whereas tannins are found only in the raw extract. The result of the physical analysis of the hydrogen potential (pH) of the crude extract shows an acid pH value which is 3.43 contradicted the result of the purified extract with a pH value of 8.02.

Protein contents are 46.49 17.49% and 2.77 0.24% while sugars are 1.14 0.12% and 0.08 0.07% for raw and purified mucilage respectively. While the FT-IR analysis shows characteristic spectra of mucilage.

In addition, the results obtained show inhibition of  $\alpha$ -amylase by mucilage extracts, but with variable IC<sub>50</sub> values. The raw extract (IC<sub>50</sub> =2.153mg/ml) of this plant caused the most potent inhibitory effect compared to the purified extract (IC<sub>50</sub> =5.17mg/ml), which remains lower by supply to the reference molecule, Acarbose (IC<sub>50</sub> =0.16 mg/ml).

In the light of the results obtained in our study, we can conclude that *Arbutus unedo* can exert an effect on the regulation of postprandial hyperglycemia by inhibiting the activity of  $\alpha$ -amylase, and subsequently, a reduction in glucose absorption.

**Keywords:** *Arbutus unedo* L.,  $\alpha$ -amylase, gross mucilage, purified mucilage.



## *Remerciement*



*Nous remercions avant tous **ALLAH**, le tout puissant, de nous avoir guidé toutes les années d'études et nous avoir donné la volonté, la patience et le courage pour terminer ce travail.*

*Nous tenons à remercier profondément, notre promotrice **Mme MEDJDOUB H.** maître de conférences B à l'université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, pour avoir accepté de nous encadrer, de nous assister et de nous prodiguer de précieux conseils pour réaliser ce travail et ses remarques objectives et aussi pour ses précieuses orientations, son aide, son soutien moral, son encouragement, sa gentillesse et ses qualités humaines.*

*Nous remercions également la présidente du jury Melle **BENARIBA N.** Maitre de conférences A au département de Biologie, Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen., pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider le jury de notre soutenance.*

*Nous remercions également Mme **BOUALI W.** Maitre de conférences A au département de Biologie, Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen, d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Nous adressons un grand merci à nos familles et toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à notre travail.*

*Nous tenons à remercier également **Pr GHALEM Said**, directeur du laboratoire des substances naturelles et bioactives, pour son accueil et l'aide précieuse pour la réalisation de certaines analyses. Vous trouverez ici ainsi que les ingénieurs du laboratoire, notre sincère gratitude.*

*Sincèrement*



# *Dédicace*

## *Je dédie ce travail*

*À mes très chers parents « Belarbi et Chadia » qui m'ont toujours soutenu pendant mon parcours d'étude, je leur souhaite la santé et le bonheur. « Que Dieu vous protège pour moi. »*

*À tous mes professeurs surtout Mme MEDJDOUB Houria.*

*À mes très chers frères : Zakaria, Ilyes, Sidahmed, qui ont cru en mes capacités et m'ont encouragé à arriver là où je suis aujourd'hui.*

*À ma chère sœur Yousra et ma belle-sœur Amel, je les remercie de leurs conseils et soutien durant mes cursus.*

*À mes amis OUASTI Amel et EMBOUAZA Doha qui m'ont toujours encouragé et soutenu dans les moments les plus durs, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout-puissant, vous protège et vous garde.*

*À mes très chers cousins : Khouloud, Salima, Souhila, Douaa, Chaimaa, Hanae, Fatima.*

*Ainsi mon très cher binôme Soumia, j'ai eu le grand honneur de partager mon travail avec elle.*



*R. Bouckra*



# *Dédicace*

*A mes chers parents*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être. Je vous remercie pour tout le soutien, l'amour que vous me portez et vos prières tout au long de mes études. Puisse dieu vous accorde santé, bonheur et longue vie inchallah. Je vous aime beaucoup.*

*A tous mes professeurs surtout Mme MEDJDOUB Houria*

*A mon frère «Abderrahmane» et ma sœur « Basmala »*

*Qu'Allah, les tout-puissants, les protège et les garde. Je les souhaite une vie pleine de bonheur et de succès*

*A ma grand-mère«Zora»*

*Qui m'a accompagné avec ses prières, sa douceur, puisse Allah lui prêter longue vie et beaucoup de santé et de bonheur.*

*A mes oncles, mes tantes, mes cousins et mes cousines*

*A mon fiancé Zouheir*

*Mes chers amie EMBOUAZZA Doha ET AOUSTI Amel*

*A mon binôme BOUCHRA*

*Qui m'accompagnait durant mon chemin d'études supérieures, pour son soutien moral, sa patience et son encouragement*



*B. Soumia*



## Liste des abréviations

<b>ADOs</b>	Les médicaments antidiabétiques oraux.
<b>APP</b>	L' $\alpha$ -amylase pancréatique de porc.
<b>Asp 231</b>	Aspartate 231.
<b>Asp 328</b>	Aspartate 328.
<b>Asp 206</b>	Aspartate 206.
<b>Asp297</b>	Aspartate 297.
<b>C1</b>	Carbone anomérique.
<b>C-2</b>	Carbone numéro 2.
<b>C-3</b>	Carbone numéro 3.
<b>C4</b>	Carbone numéro 4.
<b>CL-</b>	Les ions chlorure.
<b>CIO3</b>	Le chlorate.
<b>CuSO4</b>	Sulfate de cuivre.
<b>DNSA</b>	Acide dinitrosalicylique.
<b>DPP-4</b>	Les inhibiteurs de la dipeptidyl peptidase-4.
<b>DT1</b>	Diabète sucré de type 1.
<b>DT2</b>	Diabète sucré de type 2.
<b>E-S</b>	Complexe enzyme/substrat.
<b>Fe Cl 3</b>	Chlorure de fer.
<b>FOS</b>	Fructo-oligosaccharides.
<b>FT-IR</b>	Infrarouge a transformé de fourier .
<b>GGM</b>	Les galactoglucomannanes.
<b>GIP</b>	Glucose-dépendent Insulinotropic Polypeptide.
<b>Glu 261</b>	Glutamate 261.



<b>Glu230</b>	Glutamate 230.
<b>GM</b>	Glucomannanes.
<b>GOS</b>	Galacto-oligosaccharides.
<b>HbA1c</b>	L'hémoglobine glyquée.
<b>HCOO</b>	Acide formique
<b>IC50</b>	Concentrations inhibitrices à 50%.
<b>iSGLT2</b>	Les inhibiteurs des Co transporteurs sodium-glucose de type 2.
<b>KBr</b>	Bromure de potassium.
<b>KI</b>	L'iodure de potassium.
<b>Manp</b>	Mannopyranosyl.
<b>MSE</b>	Les mucilages extrudés.
<b>Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub></b>	Phosphate d'hydrogène disodique.
<b>NaCl</b>	Sodium chloride.
<b>NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub></b>	Phosphate monosodique
<b>NaOH</b>	Sodium hydroxide.
<b>NO<sub>3</sub></b>	Nitrate.
<b>NPH</b>	Neutral protamine hagedorn.
<b>OH</b>	Les groupes polaires.
<b>pH</b>	Potentiel hydrogène.
<b>phi</b>	Potentiel hydrogène isotonique.
<b>PPAR-<math>\gamma</math></b>	Peroxysome proliferator-activatedreceptor gamma.
<b>SAB</b>	Sérum albumine bovine
<b>SHH</b>	Hyper osmolarité hyper glycémique.
<b>SUR</b>	Sulfonylureareceptor.
<b>TP</b>	Tampon phosphate.
<b>TZDs</b>	Thiazolidinediones.
<b>XOS</b>	Xylo-oligosaccharides.

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Illustration des sites et des mécanismes d'action principaux des différentes classes d'antidiabétiques oraux .....	10
<b>Figure 2:</b> La structure cristalline de l'alpha amylase .....	11
<b>Figure 3:</b> Quelques ressources naturelles à une activité inhibitrice de l'alpha amylase .....	13
<b>Figure 4:</b> Répartition géographique mondiale d'Arbutus unedo .....	21
<b>Figure 5:</b> L'écorce d'arbousier .....	22
<b>Figure 6:</b> Feuilles d'arbousier .....	22
<b>Figure 7:</b> Fleurs en forme de cloche .....	22
<b>Figure 8:</b> Fruit d'arbousier à différents états de maturation .....	22
<b>Figure 9:</b> L'arbuste de l'Arbutus unedo .....	22
<b>Figure 10:</b> Le fruit d'Arbutus unedo L. ....	26
<b>Figure 11:</b> L'extraction des fruits d'Arbutus unedo dans le Soxhlet .....	27
<b>Figure 12:</b> L'extraction des fruits d'Arbutus unedo par macération .....	28
<b>Figure 13:</b> Mucilage brut .....	37
<b>Figure 14:</b> Mucilage purifié .....	37
<b>Figure 15:</b> Spectre Infrarouge de l'extrait de mucilage brut d'Arbutus unedo. ....	41
<b>Figure 16:</b> Spectre Infrarouge de l'extrait des mucilages purifiés d'Arbutus unedo .....	41
<b>Figure 17:</b> Pourcentage d'inhibition (%) en fonction de la concentration d'acarbose (mg/ml) ..	42
<b>Figure 18:</b> Pourcentage d'inhibition (%) en fonction des concentrations de mucilage brut ...	43
<b>Figure 19:</b> Pourcentage d'inhibition (%) en fonction des concentrations de mucilage purifié	44

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1:</b> Classification taxonomique d'arbutus unedo .....	20
<b>Tableau 2:</b> La composition chimique de différentes parties de l'arbousier. ....	23
<b>Tableau 3:</b> Composition en pourcentage des extraits d'Arbutus unedo. ....	38
<b>Tableau 4 :</b> Les tests phytochimiques des extraits de mucilage brut et purifié.....	40
<b>Tableau 5 :</b> Analyse des spectres infrarouges des extraits de mucilage de l'arbousier.....	43

## Table de matière

Remerciement	
Dédicace	
Résumé	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des matières	
Introduction générale .....	01

### Première partie : Synthèse bibliographique

#### Chapitre I : diabète sucré et alpha amylase

<b>1</b>	<b>Diabète sucré .....</b>	<b>5</b>
1.1	Définition .....	5
1.2	Classification.....	5
1.2.1	Le diabète de type 1.....	5
1.2.2	Le diabète de type 2.....	5
1.2.3	1.2.3. Le diabète gestationnel .....	5
1.2.4	Autres types du diabète .....	6
1.3	Critère de diagnostic du diabète.....	6
1.4	Les complications du diabète sucré.....	6
1.4.1	Les complications à court terme (aigues) .....	6
1.4.2	Les complications à long terme (chronique).....	7
1.5	Traitements du diabète sucré .....	7
1.5.1	Traitements de DT1.....	7
1.5.2	Traitements de DT2.....	8
1.5.2.1	Mesures hygiéno-diététiques .....	8
1.5.2.2	Traitements médicamenteux .....	8
1.5.2.3	Traitement du diabète sucré par les plantes médicinales .....	10
<b>2</b>	<b>Alpha Amylase.....</b>	<b>10</b>
2.1	Définition .....	10
2.2	Structure de l'α-amylase .....	11
2.3	L'inhibition de l'alpha amylase .....	13
2.4	Les activateurs de l'alpha amylase.....	14
2.5	Caractéristiques de l'α-amylase .....	14
2.6	Différentes origines .....	14
2.6.1	Origine animale.....	14
2.6.2	Origine végétale .....	14
2.7.3	Origine microbienne et fongique .....	15

#### Chapitre II : *Arbutus unedo*

<b>1</b>	<b>La phytothérapie .....</b>	<b>15</b>
1.1	Les plantes médicinales0 .....	15
1.1.1	Définition.....	15
1.1.2	Formes d'utilisation.....	15
1.2	Les plantes antidiabétiques .....	16

1.3	Métabolites de la plante .....	16
1.4	Les polysaccharides(PS).....	16
1.4.1	Les mucilages.....	17
1.4.1.1	Les polysaccharides dérivés du mannose : « mucilages neutres » .....	17
1.4.2	Application de mucilage .....	18
<b>2</b>	<b>Présentation d'Arbutus unedo .....</b>	<b>19</b>
2.1	Définition .....	19
2.2	Classification d'Arbutus unedo .....	19
2.3	Nomenclature .....	20
2.4	Répartition géographique.....	20
2.5	Description botanique.....	21
2.6	Composition chimique.....	22
2.7	Usage traditionnel .....	23
2.8	Toxicité .....	23

## **La deuxième partie : Etude expérimentale**

### **Matériel et Méthodes**

1	Objectif .....	26
2	Matériel végétal.....	26
3	Extraction des mucilages brut et purifié .....	26
3.1	Extraction des mucilages bruts .....	27
3.2	Extraction des mucilages purifiés .....	28
4	rendement .....	30
5	Caractérisation des mucilages.....	30
5.1	Dosage des protéines .....	30
5.2	Dosage des sucres.....	31
5.3	Le pH des mucilages.....	31
5.4	Tests de mise en évidence de quelque famille de molécules .....	31
5.5	Analyse spectroscopique par infrarouge .....	32
6	Effet inhibiteur des mucilages sur l'alpha-amylase .....	32

### **Résultats et discussion**

1	Extraction du mucilage brut.....	37
2	Extraction du mucilage purifié.....	37
3	Caractérisation de mucilage.....	38
3.1	Dosage des sucres et des protéines.....	38
3.2	Tests de mise en évidence de quelques familles de molécules .....	39
3.3	Analyse spectroscopique par Infrarouge .....	40
4	Inhibition de l'alpha-amylase .....	42
4.1	Inhibition par l'acarbose .....	42
4.2	Inhibition par l'ectrait brut .....	42
4.3	inhibition par l'ectrait purifié .....	44
	<b>Conclusion .....</b>	<b>47</b>
	<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>49</b>

# Introduction

Le diabète sucré a atteint 422 millions de personnes dans le monde et est responsable de 4 millions de morts/ans.

Le diabète sucré est un groupe de maladies métaboliques caractérisé par une hyperglycémie chronique résultant d'un défaut de la sécrétion et/ou l'action de l'insuline (**Organization, 2019**) cette maladie peut impliquer une variété de facteurs génétiques et environnementaux.

Les personnes atteintes de diabète sucré peuvent avoir de nombreuses complications graves, la plupart de ces complications s'aggraveront progressivement en augmentant significativement le risque de morbidité et de mortalité.

L'objectif du traitement du diabète est de prévenir et de retarder l'apparition et la progression des complications qui affectent l'organisme, ainsi que pour maintenir la glycémie en valeurs normales (**Zhang et al., 2023**).

De remarquables progrès thérapeutiques ont amélioré la prise en charge du diabète au cours des dernières décennies.

La phytothérapie est une médecine naturelle qui est basée sur l'emploi des plantes antidiabétiques et de leurs extraits. Elle a constitué l'essentiel de la pharmacopée tout au long de l'antiquité et jusqu'aux temps actuelles (**Schlienger, 2014**).

Ces procédés thérapeutiques ont une action directe ou indirecte sur les voies du diabète en tant qu'enzyme inhibitrice " l'alpha amylase" (**Alam et al., 2019**). L'inhibition de cette enzyme retarde le temps d'hydrolyse de glucides, permettant le contrôle glycémie plasmatique postprandiale (**Li et al., 2022**).

En Algérie, plusieurs plantes sont utilisées traditionnellement pour traiter le diabète sucré ; parmi elles, *Arbutus unedo L.*, qui est une plante persistantes caractéristiques de la région méditerranéenne, ainsi que d'autres régions avec des étés chauds et des hivers pluvieux doux (**Morgado et al., 2018**).

L'objectif de cette étude est de tester in vitro l'effet inhibiteur des extraits de mucilages de fruit d'*Arbutus unedo L.* sur l'activité de l' $\alpha$ -amylase ainsi que la caractérisation des extraits de mucilage.

Pour cela, les étapes suivantes sont réalisées :



- Préparation des extraits de mucilages : brut et purifié.
- Les tests de caractérisation des extraits de mucilage.
- Evaluation de l'effet inhibiteur des extraits des mucilages sur l'activité de l' $\alpha$ -amylase.

Le présent travail est réalisé au niveau du laboratoire de recherches Antibiotiques, Antifongiques physico chimique : synthèse et activité biologique.

# **Synthèse bibliographique**

**Chapitre I :**  
**Diabète sucré, Alpha amylase**

## 1 Diabète sucré

### 1.1 Définition

Le diabète est une maladie métabolique définie par l'élévation chronique de la concentration

de glucose dans le sang dont l'origine est un trouble lié à la sécrétion de l'insuline et/ou un trouble de l'action de cette hormone (**DeFronzo et al., 2015**).

L'insuline est une hormone hypoglycémique produite par les cellules  $\beta$  pancréatiques. Elle implique dans le contrôle du glucose dans le sang puisque c'est la seule hormone ayant une action hypoglycémisante (**Magnan et Ktorza, 2005**).

Les personnes atteintes du diabète peuvent ressentir des symptômes dont l'intensité est variable telle que la polyurie, la polydipsie, la perte de poids, la polyphagie et une plus grande sensibilité à certaines infections et une vision altérée ainsi qu'à la croissance (**Colberg et al., 2010**).

### 1.2 Classification

#### 1.2.1 Le diabète de type 1

Le diabète de type 1 est une maladie spécifique d'organe déclenchée par plusieurs facteurs. Il se caractérise par une carence en insuline à cause de la destruction de la cellule  $\beta$  des îlots de Langerhans pancréatique, il touche généralement le sujet jeune avant 30 ans (**Canada, 2018**). C'est une atteinte de nature soit auto-immune la plus fréquente, dans laquelle une immunité cellulaire anormale détruit les cellules  $\beta$  pancréatiques (**Tenenbaum et al., 2018**).

#### 1.2.2 Le diabète de type 2

Le diabète de type 2, nommé précédemment diabète non insulino-dépendant est la forme la plus fréquente du diabète, C'est une maladie chronique et évolutive dans le temps caractérisé par une hyperglycémie liée soit à une résistance à l'insuline et une carence relative en insuline ou une anomalie de la sécrétion d'insuline (**Michels et al., 2003**).

#### 1.2.3 1.2.3. Le diabète gestationnel

Le diabète gestationnel est l'une des principales complications médicales de la grossesse, caractérisé par un taux de sucre dans le sang anormalement élevé chez la femme enceinte. Il apparaît en général vers la fin du 2<sup>ème</sup> trimestre de grossesse (**Vambergue, 2010**). Généralement cette forme est transitoire et disparaît après l'accouchement. Les

femmes atteintes de diabète gestationnel sont plus susceptibles d'avoir un diabète de type 2 à l'avenir (Fougere, 2019).

#### 1.2.4 Autres types du diabète

Il existe également quelques types moins courants de diabète secondaire et associé à une cause bien définis, surtout les maladies d'origine génétique, il s'agit aussi aux diabètes pancréatiques ou associés à d'autres maladies ou à des médicaments (Punthakee *et al.*, 2018).

### 1.3 Critère de diagnostic du diabète

Les critères diagnostiques du diabète sont fondés sur l'analyse d'échantillons de sang veineux et des méthodes utilisées en laboratoire.

- ✓ Glucose plasmatique à n'importe quel moment égale ou supérieure à 2 g/l et symptômes typiques d'un diabète sucré.
- ✓ Une hémoglobine glyquée  $\geq 6,5\%$  comparable à un taux de glucose plasmatique à jeûne (c'est-à-dire après période de jeûne de  $>8$  heures)  $\geq 7$  mmol/l ( $\geq 1,26$  g/l).
- ✓ Glucose plasmatique 2 heures après charge orale provoquée de glucose ( $\geq 2$ g/l) (Pirson *et al.*, 2016).

### 1.4 Les complications du diabète sucré

#### 1.4.1 Les complications à court terme (aigues)

- **Acidocétose**

C'est une complication métabolique due à un manque d'insuline associé à une augmentation des hormones de contre-régulation, cette association conduit à une augmentation de la production de glucose hépatique et rénal et induit une lipolyse avec production de corps cétoniques qui est capable de provoquer un coma acidocétosique (Tenoutasse *et al.*, 2010).

- **Hypoglycémie**

L'hypoglycémie est une complication indissociable du traitement du diabète, c'est avoir une glycémie ou un taux de glucose interstitiel trop bas inférieur à 0,5 g/L, qui survient surtout chez patiente diabétique traitée avec de l'insuline (Orban et Ichai, 2011).

- **Le coma hyperosmolaire : hyper osmolarité hyper glycémique (SHH)**

C'est une forme sévère de décompensation diabétique. Elle se caractérise par une hyperglycémie ( $> 30$  mmol/l) et une déshydratation sévère car elle survient chez des sujets incapables de compenser sa perte (polyurie sans polydipsie) et non l'acidose cétonémique

(cétonémie (si dosée) < 3 mmol/l) avec une hyper osmolarité (Tonicité > 320 mOsm/l). Le SHH diffère de l'acidocétose diabétique par sa physiopathologie, son traitement et sa mortalité plus élevée (**Lucas-Amichi et Andronikof, 2015**).

#### 1.4.2 Les complications à long terme (chronique)

Les complications chroniques du diabète comprennent deux composantes : la micro-angiopathie où les complications surviennent dans les yeux (la rétinopathie), les reins (néphropathie) et les nerfs (neuropathie) et la macro-angiopathie qui atteint les artères du cœur et du cerveau (**King, 2008**).

### 1.5 Traitements du diabète sucré

L'objectif des traitements du diabète est de diminuer la mortalité et les syndromes métaboliques liés au diabète afin de vivre une vie aussi normale que possible. Le traitement du diabète vise donc à ramener la glycémie (taux de sucre dans le sang) dans les limites de la normale, mais pas seulement. L'assurance d'une meilleure prévention dépend la contribution du patient qui concerne d'éviter tous les facteurs de risque et donc de contrôler le mode de vie (**Wens et al., 2007**).

#### 1.5.1 Traitements de DT1

Après chaque repas, la glycémie post prandiale s'élève et déclenche par la suite la sécrétion de l'insuline par l'organisme. Pour une personne non diabétique, la glycémie peut augmenter légèrement, puis s'abaisser à un taux normal, et le glucose est converti en réserves et en énergie. Ce système ne fonctionne pas correctement chez les personnes qui développent un diabète. Le traitement du diabète du type 1 repose sur des injections sous-cutanées d'insuline plusieurs fois par jour par des seringues à insuline jetables, des aiguilles fines et des stylos, des analyseurs glycémiques et des auto-piqueurs qui permettent de faire les injections facilement. L'autosurveillance de la glycémie est réalisée grâce à l'utilisation la pompe à insuline et du pancréas artificiel. Par ailleurs, l'hémoglobine glyquée (HbA1c) apporte un moyen d'estimation de la glycémie qui doit être inférieure à 6,5% (**Robert, 2009**).

L'insuline humaine obtenue par le génie génétique possède la même structure que l'insuline produite

par un pancréas humain. Il peut être préparé en association avec du zinc ou avec une protéine, la protamine (insuline NPH). Ceci explique les différences de cinétique de résorption après injection sous-cutanée (Dorchy, 2006).

## 1.5.2 Traitements de DT2

### 1.5.2.1 Mesures hygiéno-diététiques

La diététique est un élément essentiel du traitement du diabète, repose sur une modélisation du déséquilibre entre l'alimentation et les apports calorique. L'activité physique modérée telle que la marche joue un rôle majeur dans la prévention du diabète par le contrôle du poids. L'hygiène alimentaire consiste à privilégier les aliments qui augmentent peu le taux de sucre dans le sang (les fruits, les légumineuses) pour d'éviter d'augmenter le rapport calorique, ensuite la restriction calorique doit être portée sur les graisses (les graisses saturées). En fait, la composition d'un régime alimentaire pour diabétiques est similaire à celle recommandée par les nutritionnistes pour la population générale (Rorive *et al.*, 2005).

### 1.5.2.2 Traitements médicamenteux

Si les adaptations du mode de vie ne suffisent pas à normaliser la glycémie, des médicaments antidiabétiques sont prescrits. Le traitement doit viser à corriger la sécrétion de l'insuline par l'administration des médicaments insulinosécréteurs et/ou à réduire l'insulinorésistance par des agents insulinosensibilisateurs (Scheen *et al.*, 2007).

#### A. Les médicaments antidiabétiques oraux "ADOs " anti hyperglycémiant

##### ➤ Les biguanides

Ils sont représentés par la metformine qui diminue la production hépatique de glucose et augmente l'insulinosensibilité du tissu musculaire. En l'absence de contre-indications l'acidose lactique, insuffisance rénale, l'augmentation des risques cardiovasculaires, la metformine représente donc la première intention pour le diabète sucré de type 2 et l'un des agents anti-hyper glycémique le plus prescrit dans le monde (Salvatore *et al.*, 2019).

##### ➤ Inhibiteur de l' $\alpha$ -glucosides intestinales

Comme leur nom l'indique il inhibe la dégradation des glucides complexes en monosaccharides absorbables. Ce médicament retarde donc l'absorption des glucides et aboutit à une réduction des glycémies postprandiales. Il est caractérisé par son efficacité limitée de baisser le taux d'HbA1c et la bénignité de ses effets indésirables (troubles digestifs). Dans cette catégorie d'antidiabétique on trouve l'acarbose, voglibose, miglitol (A. J. Scheen, 2015).



- **Les inhibiteurs des cotransporteurs sodium-glucose de type 2 iSGLT2 (ou les gliflozines)**

#### **Canagliflozine/ dapagliflozine /empagliflozine**

Les iSGLT2 agissent en inhibant la réabsorption du glucose au niveau tubulaire rénal, en forçant une glucosurie. Par cette action indépendante de l'insuline ils améliorent le contrôle de la glycémie, à jeun et postprandiale, et diminuent le taux (HbA1c), sans induire le risque accru d'hypoglycémie (Scheen, 2018).

- **Thiazolidinediones (TZDs) ou glitazones**

Pioglitazone, Rosiglitazone agissent comme agonistes des récepteurs nucléaires PPAR- $\gamma$  (peroxysome proliferator-activated receptor gamma) surtout présents dans les adipocytes provoquent la diminution de la résistance à l'insuline dans le foie, dans les tissus périphériques, et réduisent la glycémie, la gluconéogenèse hépatique et de la lipémie. Leurs avantages devraient être soigneusement évalués par rapport aux risques (Giglio *et al.*, 2022).

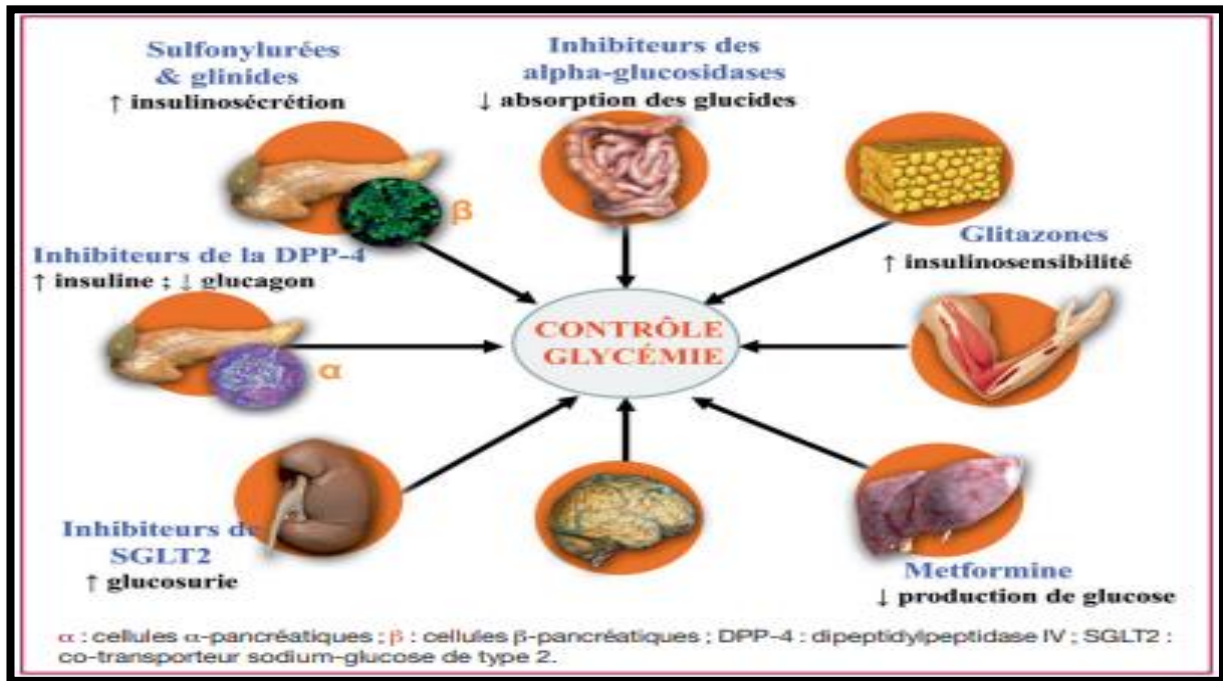
#### **B. Les médicaments antidiabétiques oraux "ADOs" hypoglycémiantes (secrétagogues)**

- **Les sulfonylurées (sulfamides)**

Nombreuses molécules sont actuellement appartenues à la classe des sulfamides tels que le gliclazide, la glimépiride, le glipizide, et la glibenclamide. Ils se lient à un récepteur spécifique présent sur la membrane des cellules  $\beta$  pancréatiques, appelé sulfonyleurea receptor (SUR). En agissant sur les cellules  $\beta$  ils stimulent la sécrétion d'insuline par fermeture des canaux potassiques, indépendamment du niveau de la glycémie. Parmi ces effets secondaires présente le risque d'hypoglycémie, le gain de poids (Bouaré, 2022).

- **Les inhibiteurs de la dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) ou les gliptines**

**Sitagliptine, Saxagliptine, Vildagliptine**



**Figure 1:** Illustration des sites et des mécanismes d'action principaux des différentes classes d'antidiabétiques oraux (Scheen, 2015b).

Se placent en concurrence avec les sulfamides. Le mécanisme des inhibiteurs de la DPP-4 est d'augmenter les niveaux incrétines : Glucose-dépendent Insulinotropic Polypeptide (GIP) une hormone libérée de l'intestin grêle qui améliore la libération de l'insuline après le repas et diminue les taux d'hémoglobine glyquée (HbA1c) (Scheen, 2015a).

### 1.5.2.3 Traitement du diabète sucré par les plantes médicinales

Les plantes ont été utilisées dans un but thérapeutique dans la plupart des domaines de la pathologie. Depuis l'antiquité, une multitude d'herbes, d'épices et différentes parties de la plante ont été décrites dans le traitement de la maladie et la régulation du métabolisme glucidique partout dans le monde. Près de 1200 espèces de plantes sont utilisées en médecine populaire pour traiter le diabète. Le traitement est basé sur l'utilisation des plantes sous forme de décoction, d'infusion, macération, etc. (Holaly *et al.*, 2017).

## 2 Alpha Amylase

### 2.1 Définition

Le tractus digestif humain a une variété d'alpha-amylases, notamment l'amylase pancréatique qui facilite le processus de digestion de l'amidon présent dans l'alimentation en hydrolysant la liaison α (1-4) glycosidique (Mahnashi *et al.*, 2023) générant du maltotriose et

du maltose (à partir d'amylose) ou de glucose, de maltose et de dextrine limite (d'amylopectine) (Mafakher *et al.*, 2023).

## 2.2 Structure de l' $\alpha$ -amylase

L' $\alpha$ -amylase (E.C 3.2.1.1) est la meilleure enzyme amylolytique appartenant à la classe des hydrolases (Janeček *et al.*, 2014) contenant 512 acides aminés dans une chaîne unique d'oligosaccharides d'un poids moléculaire de 57,6 k Da. Il possède une structure en trois dimensions capable de se lier au substrat et, par l'action de groupes catalytiques, favorise la rupture des liaisons glycosidiques. C'est une enzyme calcique qui a un rôle important dans la stabilité de la structure tridimensionnelle et un activateur allostérique (Souza et Magalhães, 2010). Cette protéine contient 3 domaines caractéristiques : A, B et C (Figure 2) (Zhang *et al.*, 2017). Le domaine catalytique A est le plus vaste, avec une structure en forme de tonneau  $(\beta/\alpha)_8$ . Le domaine B qui est inséré entre le brin  $\beta_3$  et l'hélice  $\alpha_3$  du  $(\beta/\alpha)_8$ . Le domaine C a une structure de  $\beta$ -feuille attachée au domaine B par simple boucle. Le site catalytique de cette enzyme se place dans une fente entre les domaines A et B et se compose de trois résidus acides aminés : un glutamate (Glu230) et deux résidus d'aspartate (Asp206) et (Asp297) (Mafakher *et al.*, 2022).

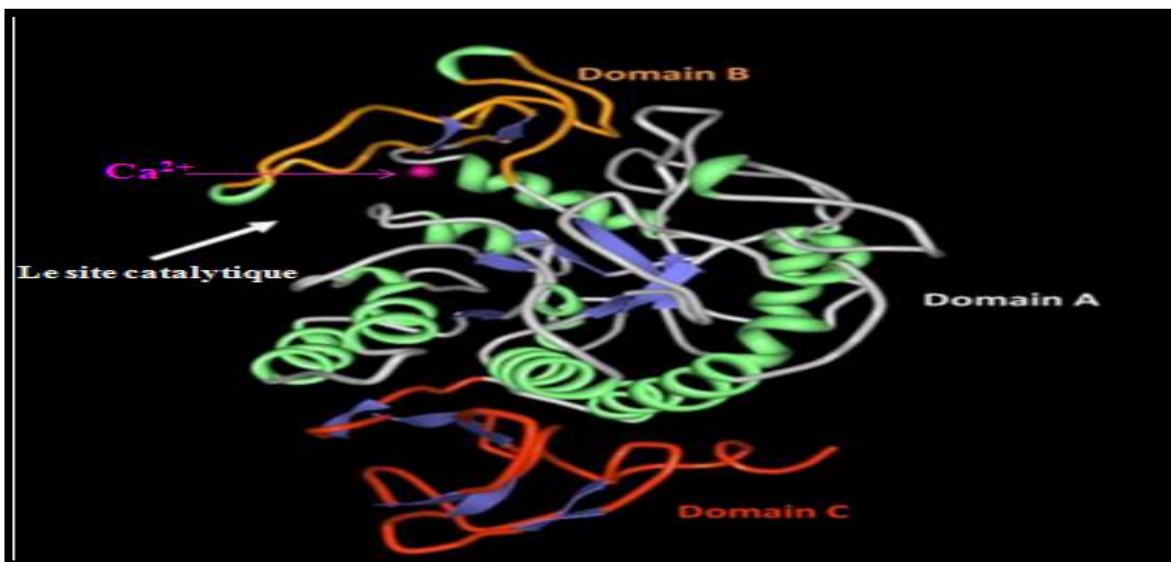


Figure 2: La structure cristalline de l'alpha amylase (Zhang *et al.*, 2017).

Les  $\alpha$ -amylases sont des enzymes à action endogène qui prend en charge la dégradation des macromolécules d'amidon à l'intérieur afin de les métaboliser en molécules plus petites (Tiwari *et al.*, 2015). En général, on pensait que les  $\alpha$ -amylases décomposent l'amidon polymérisé de façon aléatoire c.-à-d. : la rupture de n'importe quelle liaisons  $\alpha$  (1-4) (Gupta *et al.*, 2003). Mais différents modèles d'action de l'amylase ont été distingués, tels que :

**Les amylases à action d'attaque multiple** : est définie comme le nombre de liaisons brisées après la première attaque hydrolytique (aléatoire) avant de se dissocier dues le substrat pendant la durée de vie d'un complexe E-S. La direction de cette attaque est vers l'extrémité non réductrice du substrat.

L'action d'attaque multiple est une intermédiaire entre la chaîne unique et le mécanisme multi-chaîne. Dans le premier, la polymère molécule est successivement hydrolysée complètement avant dissociation du complexe E-S tandis que, dans le second une seule liaison est hydrolysée par rencontre effective (Bijttebier *et al.*, 2008).

La catalyse de l'enzyme implique l'intervention des trois acides aminés du site actif : Asp 231 (nucléophile catalytique), Glu 261(donneur catalytique de l'hydrogène) et Asp 328 (l'aide de catalyse). En fait, la réaction catalytique se déroule en 3 étapes (Nielsen *et al.*, 2001) :

**Etape 1. Formation du complexe enzyme/substrat** : L'enzyme se lie en affinant à l'intérieur ou aux extrémités réductrices de la chaîne provoque leur déformation et elle est stabilisée par de nombreuses liaisons hydrogènes entre les acides aminés du site de fixation enzymatique et les groupes polaires (OH) de la chaîne du carbonique.

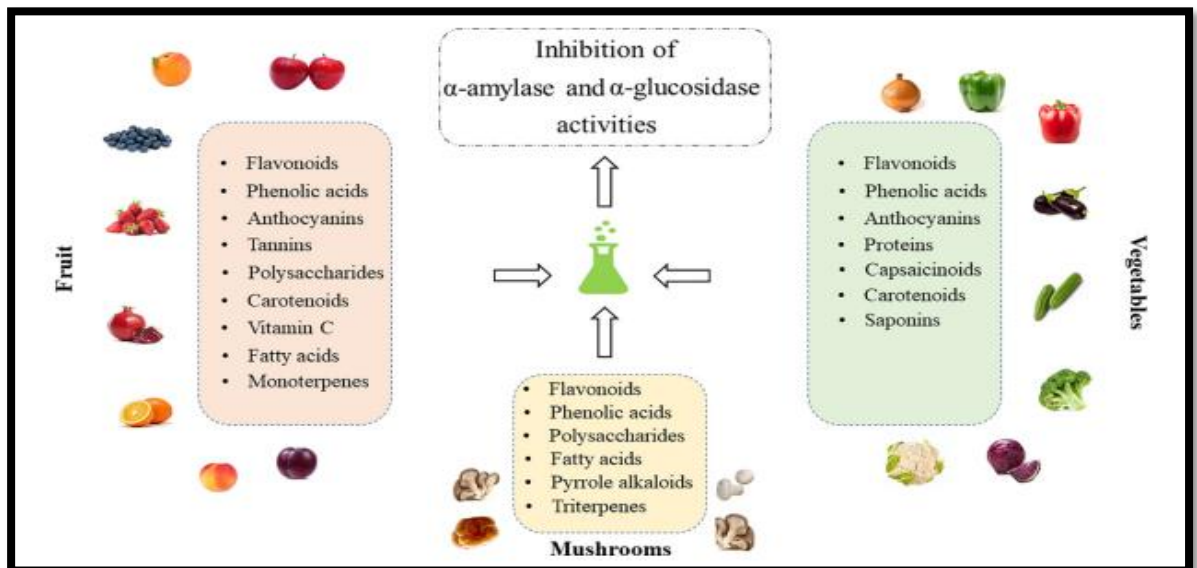
**Etape 2. L'attaque de la liaison  $\alpha$  (1-4)** : La rupture de la liaison osidique sur le C4 de la chaîne est à l'origine de l'attaque de Glu sous sa forme protoné. Il produit un atome d'hydrogène pour l'atome d'oxygène de la liaison oside. D'autre part, l'acide aspartique ionisé au pH optimal de l'enzyme il établit un lien covalent avec le carbone anomérique (C1), qui permet ensuite la libération de la 1ère partie de la chaîne du carbone.

**Etape 3. Le retour à l'état initial de l'enzyme** : Le clivage la liaison covalente entre l'acide aspartique et le C1 est réalisée par une molécule d'eau qui va hydroxylé ce carbone anomérique, L'acide glutamique, chargé négativement, recueille le proton à partir de la molécule d'eau. Le groupe OH instable résiduel se lie au carbone anomérique ou C1. Cette

réaction permet l'expulsion de la deuxième partie de la chaîne de carbone (Youmbai et Sahraoui, 2021).

### 2.3 L'inhibition de l'alpha amylase

Il y a beaucoup de stratégies thérapeutiques pour l'intervention du diabète de type II. Les inhibiteurs compétitifs de ces enzymes peuvent être une stratégie importante pour empêcher avec succès l'augmentation de la glycémie en ralentissant l'absorption du glucose (Mahnashi *et al.*, 2023). Cependant, on sait que les médicaments sont associés à divers effets secondaires donc l'utilisation des ressources naturelles riches en métabolites secondaires est le potentiel d'être privilégiée pour l'inhibition d l' $\alpha$ -amylase. La figure 3 résume quelques classes des composés présents dans les fruits, les légumes et les champignons (Papoutsis *et al.*, 2021).



**Figure 3:** Quelques ressources naturelles à une activité inhibitrice de l'alpha amylase (Papoutsis *et al.*, 2021).

## 2.4 Les activateurs de l'alpha amylase

Étant donné que cette enzyme joue un rôle essentiel dans le contrôle de la glycémie, de nombreuses études ont été réalisées sur les composés qui influent sur son activité. Les ions chlorure ( $Cl^-$ ) sont des activateurs allostériques bien connus de cette enzyme. D'autres anions ont aussi une incidence sur l'enzyme pancréatique humaine. À titre d'exemple, le nitrate ( $NO_3$ ), le chlorate ( $ClO_3$ ) et le formate ( $HCOO$ ) sont des activateurs de l'enzyme, de la même façon que le chlorure, où des ions acides ont été trouvés pour augmenter l'effet de chlorure auparavant limité (**Kashani-Amin *et al.*, 2013**).

## 2.5 Caractéristiques de l' $\alpha$ -amylase

Les alpha-amylases offrent généralement les meilleurs résultats sur une large gamme de pH de 6,7 à 7,0 et tolèrent des milieux alcalins mieux que les solutions acides. Leur activité se dégrade avec le temps, avec élévation de la température, et avec une concentration accrue de saccharides glucose et maltose, qui inhibent l'action hydrolytique (**Tomasik et Horton, 2012**).

## 2.6 Différentes origines

Les alpha-amylases sont des enzymes répandues dans tous les règnes "chez les animaux, les plantes végétales, les bactéries et les champignons."

### 2.6.1 Origine animale

Deux sources de l' $\alpha$  amylase animale existent, l'un à partir de la salive humaine dans laquelle la digestion de l'amidon commence dans la cavité buccale par une  $\alpha$ -amylase salivaire appelée ptyaline. C'est une métalloenzyme calcique, l'une des enzymes les plus essentielles de la salive. Puis la digestion se continue dans l'intestin grêle par l' $\alpha$ -amylase pancréatique (**Tiwari *et al.*, 2015**). Tandis que le deuxième source c'est l' $\alpha$ -amylase pancréatique de porc (APP) (**Koukiekolo, 2001**).

### 2.6.2 Origine végétale

Les actions enzymatiques notamment de l' $\alpha$ -amylase dans les cellules du scutellum et de l'aleurone au cours de la germination des céréales jouent un rôle important dont l'hydrolyse partielle de l'amidon conduit ainsi la formation des sucres (glucose, maltose ...) qui constitue une source d'énergie pour le développement de l'embryon (**Fardet, 2019**).

### 2.6.3 Origine microbienne et fongique

Les  $\alpha$ -amylases proviennent de sources bactériennes en particulier le genre *Bacillus*, et de sources fongiques y compris les *Aspergillus* et certaines espèces de *Penicillium* sont plus couramment utilisées dans l'industrie en raison de leur haut rendement, résistance au pH et de leur stabilité thermique (Movahedpour *et al.*, 2022).



## **Chapitre II: *L'Arbutus unedo***

## **1 La phytothérapie**

La phytothérapie est une discipline évoluée au cours du temps destinée à prévenir et traiter certains troubles fonctionnels et/ou pathologies à l'aide d'utilisation de les plantes entières ou une partie de la plante. Il repose sur l'efficacité de toutes les molécules contenues dans une plante médicinale.

En phytothérapie, il est possible d'utiliser la plante médicinale elle-même ou sous différentes formes telles que les médicaments, les compléments alimentaires et les dispositifs médicaux (Mavel, 2021).

### **1.1 Les plantes médicinales**

#### **1.1.1 Définition**

Les plantes médicinales sont des drogues végétales utilisées pour ses propriétés thérapeutiques, elles forment un réservoir pour les pharmacopées du monde. En effet, On peut utiliser une ou plusieurs de leurs parties, racines, feuilles, fleurs. Ces composés biologiquement actifs peuvent être isolés à l'aide de divers procédés tels que la macération, la décoction et l'infusion. Depuis l'antiquité, les plantes médicinales sont utilisées comme des médicaments pour la prise en charge des maladies humaines (Ouedraogo *et al.*, 2021).

#### **1.1.2 Formes d'utilisation**

Les plantes médicinales ont fait l'objet d'une grande diversité de remèdes naturels tels que :

##### **1. L'infusion**

C'est une méthode qui consiste à tremper le matériel végétal dans un volume d'eau spécifiée froide ou bouillie et laissé l'infuser pendant une durée court définie (Azwanida, 2015).

##### **2. Décoctions**

Cette manière de procéder vise à extraire les composés thermostables, de matériaux de plantes dures (p. ex., racines et écorces) .Elle consiste à déposer les plantes séchées dans le percolateur, ajoutés avec de l'eau bouillante pendant une période donnée à une vitesse modérée. Elle permet d'obtenir des extraits concentrés (Azwanida, 2015).

##### **3. Macération**

Ceci consiste à mettre une plante fraîche ou séchée, en contact avec un solvant froid pendant plusieurs heures ou jours. Cette méthode permet d'extraire en douceur les principes

actifs. Suite à la filtration le résultat obtenu appelé le macérât. Ce dernier est le plus long à obtenir et qui se conserve le moins de temps (**Chabrier, 2010**).

### 1.2 Les plantes antidiabétiques

Le diabète et ses complications sont un problème majeur dans la gestion thérapeutique des diabétiques et le succès du traitement serait très intéressant. Récemment, ont pris conscience qu'un supplément thérapeutique composé d'extraits de plantes qui contribuent dans le fonctionnement cellulaire particulièrement dans la prévention, l'apparition et le traitement du diabète, et qui fournissent également médicaments effectif dans le monde entier (**Bouaré, 2022**).

### 1.3 Métabolites de la plante

Les plantes possèdent des métabolites dits «primaires» : les protéines, les glucides y compris le mucilage et les lipides qui sont produits dans toutes les cellules et qui jouent un rôle majeur dans le métabolisme et la reproduction de ces cellules (**Guignard, 2006**).

Par opposition il y a les métabolites« secondaires » qui se différent d'une espèce à un autre. On peut classer en plusieurs grands groupes : les polyphénols, les alcaloïdes, les terpènes et stéroïdes. Chacune de ces classes contient un ensemble très diversifié de composés biologiquement actifs (**Krief, 2003**).

### 1.4 Les polysaccharides (PS)

Aussi appelés (glycanes ou polyosides) sont des macromolécules formées par la polymérisation des oses liés entre eux par des liaisons osidiques covalentes (**Dimopoulou, 2013**). Les polysaccharides végétaux appartiennent à trois groupes principaux; les polysaccharides de structure (cellulose, pectines et hémicelluloses) qui entourent la paroi de chaque cellule (**Angone et al., 2010**). Les polysaccharides de réserve tels que (amidon, inuline) aussi des oligosaccharides contenant des liaisons résistantes aux enzymes hydrolytiques humaines (fructo-oligosaccharides[FOS] ,xylo-oligosaccharides[XOS],galacto-oligosaccharides [GOS]) (**Partie, 2021**). Les gommés comme (gomme arabique), et enfin les mucilages sont des mélanges de polysaccharides hétérogènes qui forment en contact de l'eau des gels (**Daraghmah et Qubbaj, 2021**).

### 1.4.1 Les mucilages

Le mucilage est une substance gluante polysidique caractérisée par la formation d'un hydrogel qui encapsule la graine lors l'exposition des graines matures avec l'eau. Couramment, le mucilage se place sous forme de matrice extracellulaire entre la paroi cellulaire primaire et la membrane plasmatique (Tsai *et al.*, 2021).

Le mucilage est une substance polymérique complexe fortement ramifiée, sa composition chimique est largement dominée par les glucides hétérogènes qui se composent de monomères tels que D-xylose, L-arabinose, D-galactose, L-rhamnose, L-mannose, D-glucose, ou L-fucose liés par des liaisons glycosidiques et même les acides uroniques (acide D-galacturonique ou acide D-glucuronique). On constate également la présence des protéines, lipides, minéraux et eau de. Les composants mineurs trouvés dans le mucilage comprennent les tanins, les flavonoïdes, les stérols et les alcaloïdes (Dybka-Stepień *et al.*, 2021).

#### 1.4.1.1 Les polysaccharides dérivés du mannose : « mucilages neutres »

Les mannanes sont des polymères constitués par une chaîne principale comportant des résidus mannose liés par des liaisons  $\beta$ -(1,4). On distingue 4 types :

- 1/ les mannanes linéaires dit « pur » formé d'un résidu de mannose.
- 2/ les glucomannanes.
- 3) les galactomannanes.
- 4) les galactoglucomannanes.

Ces polyosides susceptibles être solubles ou insolubles dans l'eau par rapport à leur degré de substitution par le galactose et/ou de la présence de groupements acétyles qui estérifient les fonctions(OH) du mannose (Chateigner-Boutin *et al.*, 2020).

##### ➤ Glucomannanes (GM)

C'est une fibre alimentaire, très visqueux extrait de la racine de l'igname d'éléphant ou Konjic, qui est originaire d'Asie (Keithley et Swanson, 2005).

Ce copolymère linéaire est soluble dans l'eau avec une masse molaire qui se varie de 4.105 à 2.106 g.mol<sup>-1</sup> .Il est constitué d'une chaîne polysaccharidique de D-mannopyranosyle et D-glucopyranosyle liés en  $\beta$ -(1→4) avec des groupes acétyliques attachés à la chaîne principale (Nervo, 2010).

C'est que les liens  $\beta$ -(1→4) ne peuvent pas être hydrolysés par l'amylase salivaire et pancréatique de l'humain, le GM déplacer dans le côlon où il se fermente par des bactéries résidentes. Il peut absorber jusqu'à 50 fois de son propre poids en eau (**Keithley et Swanson, 2005**).

➤ **les galactomannanes**

Les galactomannanes ont une structure polymérique hétérogène, constituée d'une chaîne principale d'unités de mannose liées par des liaisons  $\beta$ -1,4-glycosidiques et d'unités de côté galactose lié au mannose par des liaisons  $\alpha$ -1,6-glycosidiques (**Yadav et Maiti, 2020**).

Ils sont des polysacches de réserve d'énergie des graines de légumineuses endospermiques, ont déjà été utilisés en tant que prébiotiques dans les produits alimentaires. Il existe quatre principales sources de galactomannans : le cricquet haricot, guar, tara et fenugrec. Ils sont même utilisés comme facteurs de viscosité et leur solubilité augmentent en fonction du degré de substitution galactosylique (**Prajapati et al., 2013**).

➤ **les galactoglucomannanes(GGM)**

Ce sont les majeures hémicelluloses dans les résineux. Ils sont composés d'unités -d-mannopyranosyl (Manp) et d-glucopyranosyl liées en  $\beta$ -(1-4) avec des groupes secondaires d-galactopyranosyl simples liés en  $\alpha$ -(1-6) de Manp. L'acétylation a lieu au niveau des groupes hydroxyles C-2 ou C-3 du Manp avec un degré d'environ 0.26 (**Zhao et al., 2020**).

### 1.4.2 Application de mucilage

✓ **Application pharmaceutique**

Le mucilage trouve différentes utilisations dans des applications larges en tant qu'adjuvant dans les produits pharmaceutiques tels que : diluants, liant, désintégrant dans les comprimés, épaississants dans les liquides oraux, colloïdes protecteurs dans suspensions, agents de formation de film dans les films transdermiques et parodontaux et agents gélifiants pour application topique sur la peau (**Archana et al., 2013**).

A cause des diverses propriétés trouvées pour le mucilage, il est largement utilisé dans le domaine médical par la voie topique ou orale pour les systèmes urinaires, respiratoire, gastro-intestinal, reproducteur et musculo-squelettique, les troubles de la peau. De plus, ils s'étendent également au diabète, cancer, stimulation immunitaire, et ont des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes (**Tosif et al., 2021**).

### ✓ Application alimentaire

Il peut améliorer la durée de conservation, la capacité de stockage et limite la perte d'humidité, donc, largement utilisé comme un film comestible dans les industries d'emballage alimentaire (Tosif *et al.*, 2021).

Nombreuses études ont montré que l'utilisation du mucilage dans l'industrie alimentaire, y compris les produits de boulangerie, les émulsions de viande, les produits laitiers fermentés, la crème glacée et d'autres aliments sert à améliorer et préserver la qualité des produits (Goksen *et al.*, 2023).

### ✓ Application cosmétique

Les mucilages de certaines sources telles que le coing et d'aloès sont utilisés dans les crèmes, lotions et savons grâce à leur capacité de rétention d'eau ainsi que leurs propriétés hydratantes (Dybka-Stepień *et al.*, 2021).

## 2 Présentation d'*Arbutus unedo*

### 2.1 Définition

*Arbutus unedo* L. habituellement appelé arbutus, est un arbuste persistant appartenant à la famille des éricacées (Bajoub *et al.*, 2023). C'est une plante originaire de la région méditerranéenne, pousse naturellement dans les populations ou comme arbres solitaires en Egypte, Maroc, Tunisie, Algérie ... (Özcan et Uslu, 2023).

L'arbousier est une plante connue à Tlemcen sous le nom de «sessnou» ou «Lendj». Elle à révéler une forte résistance à conditions environnementales extrêmes et à la capacité de se régénérer après incendie de forêt (El Haouari *et al.*, 2021).

### 2.2 Classification d'*Arbutus unedo*

Selon les classifications botaniques, la position taxonomique de est représentée dans le tableau 01.

**Tableau 1:** Classification taxonomique d'*Arbutus unedo* (Moualek, 2018).

<b>Règne</b>	Végétal
<b>Embranchement</b>	Spermatophytes
<b>Sous- Embranchement</b>	Angiospermes
<b>Classe</b>	Dicotylédanes
<b>Sous-classe</b>	Gamopétales
<b>Ordre</b>	Ericales
<b>Famille</b>	Ericaceae
<b>Genre</b>	<i>Arbutus</i>
<b>Espèce</b>	<i>Arbutus unedo</i>

### 2.3 Nomenclature

Nom scientifique : *Arbutus unedo*L.(Wahid *et al.*, 2019).

Nom Français : Arbousier (Moualek, 2018).

Nom commun : Arbre à fraises (Moualek, 2018).

Nom Bérébere: Sasnou , assisnou(Wahid *et al.*, 2019 ; Moualek, 2018).

Nom Anglais: Strawberry tree (Özcan et Haciseferoğulları, 2007).

Nom Arabe : Lendj (Koula et Souhila, 2014).

### 2.4 Répartition géographique

L'*Arbutus unedo*, souvent appelé arbre aux fraises, est présent dans diverses régions du globe. Elle est beaucoup plus fréquente dans les régions à climat non continental avec une distribution méditerranéenne, se trouvant dans le nord-est de l'Afrique (excluant l'Égypte et la Libye), à l'ouest et au sud de l'Europe et dans l'Asie occidentale. D'ailleurs elle peut être trouvée en Amérique du Nord (Wahid *et al.*, 2019).

En Algérie, l'arbousier est bien représenté dans le tell algérien, principalement dans les forêts



de chêne-liège (des régions de Jijel, Skikda et El Taraf) (Tounsia, 2015).



**Figure 4** : Répartition géographique mondiale d'*Arbutus unedo*  
(Moualek, 2018).

## 2.5 Description botanique

L'arbousier est un arbuste à feuilles persistantes (Fig.9) avec une hauteur de 1,5 à 3 m, mais occasionnellement peut atteindre de 9 à 12 m (Celikel *et al.*, 2008).

Les jeunes rameaux sont rougeâtres, rugueux et poilus, et l'écorce est brun pâle (Fig.5). Les fleurs blanchâtres arrangées en grappes (Fig.7) sont bisexués, à symétrie axiale et à 10 étamines. Elles sont gamosépales et gamopétales et sont caducs (Rejeb *et al.*, 2021).

Les feuilles sont de couleur vert foncé et à tige courte, simples, arrangées en alternance, avec des bords dentelés, coriaces (Fig.6). Et pour les fruits du ce fraisier sont sphériques de couleur orangée à rouge (Fig.8), se mûrissent fréquemment en automne et en hiver, en retard Septembre /mi-octobre à début décembre (Bebek Markovinović *et al.*, 2022).



**Figure 8 :** Fruit d'arbousier à différents états de maturation (Martins *et al.*, 2022).



**Figure 7 :** Fleurs en forme de cloche (Martins *et al.*, 2022).



**Figure 9 :** L'arbuste de *l'arbutus unedo* (Mohammedi, 2020).



**Figure 6 :** Feuilles d'arbousier

(<http://www.jardin-ecologique.fr>).



**Figure 5 :** L'écorce d'arbousier

(<https://jardinage.lemonde.fr/dossier-248-arbousier-arbutus->

## 2.6 Composition chimique

Les analyses photochimiques faites par plusieurs auteurs (Ait-Youcef, 2006 ; Miguel *et al.*, 2014 ; Moualek, 2018 ; Rejeb *et al.*, 2021) montrent que la composition chimique des différentes parties d'Arbousier est très variée.

**Tableau 2:** La composition chimique de différentes parties de l'arbousier.

Partie de la plante	Composés phénoliques	Sucres	Autres
<b>Fruit</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Tannins</li> <li>▪ Flavonols</li> <li>▪ Anthocyanes</li> <li>▪ Acide ellagique</li> <li>▪ dérivés d'acide gallique</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Fructose</li> <li>▪ Glucose</li> <li>▪ Saccharose</li> <li>▪ Cellulose</li> <li>▪ amidon</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Protéines</li> <li>▪ vitamine E</li> <li>▪ vitamine c</li> <li>▪ Acide <math>\alpha</math>-linoléique</li> <li>▪ Minéraux</li> <li>▪ potassium</li> <li>▪ calcium</li> <li>▪ phosphore</li> </ul>
<b>Feuille</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Tannins</li> <li>▪ Flavonoïdes</li> <li>▪ Catéchine</li> <li>▪ Quercitrine</li> <li>▪ Arbutin</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Arbutoside</li> <li>▪ Unédoside</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ l'hydroquinone</li> </ul>
<b>Racine</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Anthocyanes</li> <li>▪ Flavonoïdes</li> <li>▪ Flavonols</li> <li>▪ Arbutin</li> <li>▪ Acide caféique</li> </ul>		<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Composés mutagènes</li> </ul>

## 2.7 Usage traditionnel

Depuis longtemps toutes les parties de l'*Arbutus unedo* L. ont des rôles en Méditerranéen médecine populaire comme des remèdes traditionnels en raison de leur teneur élevée en composés phytochimiques caractérisent par leurs propriétés en diverse d'activités biologiques à savoir anti-inflammatoires, anti-hypertension et dans le traitement des maladies gastro-intestinales, urologiques et cardiaques (Mohammedi, 2020) aussi pour les effets antimicrobiens, antioxydants, et antidiabétiques (Bebek Markovinović et al., 2022).

## 2.8 Toxicité

Toutes les parties d'arbousier sont dangereuses surtout les feuilles si la dose est élevée car cette plante contient une toxine "l'andromonoécie" qui est responsable de vomissements et d'hypotension artérielle et pouvant même provoquer la mort.

A faible dose, il est consommé et qu'il ne présente pas de la toxicité (Aouadhi, 2010).

# Partie expérimentale

# Matériel et méthodes

## 1 Objectif

Le travail expérimental que nous avons réalisé a été effectué au sein du laboratoire de recherche antibiotiques, antifongiques, physico-chimie de la faculté des Sciences de la nature et de vie de l'université D'Abou-Bekr Belkaid Tlemcen.

L'objectif de cette étude est de tester *in vitro* l'effet inhibiteur des extraits de mucilages de fruit d'*Arbutus unedo* L. sur l'activité de l' $\alpha$ -amylase ainsi que la caractérisation des extraits de mucilage.

Pour cela, les étapes suivantes sont réalisées :

- Préparation des extraits de mucilages : brut et purifié.
- Les tests de caractérisation des extraits de mucilage : dosage des sucres, des protéines, tests phytochimiques, l'analyse physique de potentiel d'hydrogène (pH), l'analyse par Infrarouge.
- Activité biologique : l'inhibition de l'alpha-amylase.

## 2 Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé est constitué des fruits d'*Arbutus unedo* récoltés au début du mois de janvier 2023 dans la région de Nedroma, située au nord-ouest de Tlemcen, Algérie à proximité de la frontière marocaine.

Le fruit a été conservé au congélateur jusqu'à l'utilisation.



**Figure 10** : Le fruit d'*Arbutus unedo* L.

## 3 Extraction des mucilages brut et purifié

Le but de cette étape est d'extraire les mucilages contenus dans le fruit d'*Arbutus unedo*.

### 3.1. Extraction du mucilage brut

L'extraction se fait par la méthode décrite par (Kolhe *et al.*, 2014) avec modification, où il faut :

- Dans un premier temps, découper les fruits en petits morceaux.
- Mélanger 30g du matériel végétal avec 300ml d'eau distillée dans un ballon rodé surmonté d'un réfrigérant.
- Laisser le mélange bouillir pendant 1 heure.
- Laisser le mélange se refroidir pendant 2 heures.
- Filtrer le mélange sur une mousseline et récupérer l'filtrat.
- Ajouter 300 ml d'éthanol froid à 300 ml au filtrat. L'éthanol permet de précipiter les mucilages. Ce mélange est mis au froid (4°C) pendant 24 heures.
- Centrifuger le mélange à 4000 tours/min pendant 10 min afin de récupérer le culot.
- Eliminer le surnageant et rincé le culot avec l'éthanol
- Centrifuger le mélange encore une fois à 4000 tours/min pendant 10 min.
- Sécher le culot à 40°C pendant 24 heures.
- Le résidu obtenu est l'extrait du mucilage brut.



**Figure11** : L'extraction des fruits d'*Arbutus unedo* dans le soxhlet.

### 3.2 Extraction du mucilage purifié

- Dans un premier temps, les fruits sont découpés en très petits morceaux.
- Mélanger 10g du matériel végétal avec 100ml d'acétone dans un erlenmeyer.
- Laisser le mélange macérés pendant 48 heures à couvert par l'aluminium pour éviter le stress oxydatives.
- Filtrer le mélange par un papier filtre et récupérer l'infiltrat.
- Laisser le mélange bouillir pendant 1 heure dans le montage de soxhlet.
- Laisser le mélange se refroidir pendant 2 heures.
- Filtrer le mélange sur une mousseline et récupérer le filtrat. L'éthanol permet de précipiter les mucilages. Ce mélange est mis au froid (4°C) pendant 24 heures.
- Centrifuger le mélange à 4000 tours/min pendant 10 min afin de récupérer le culot.
- Eliminer le surnagent et rincé le culot avec l'éthanol
- Centrifuger le mélange encore une fois à 4000 tours/min pendant 10 min.
- Sécher le culot à 40°C pendant 24 heures.
- Le résidu obtenu est l'extrait du mucilage purifié.



**Figure12** :L'extraction des fruits d'*Arbutus unedo* par macération.



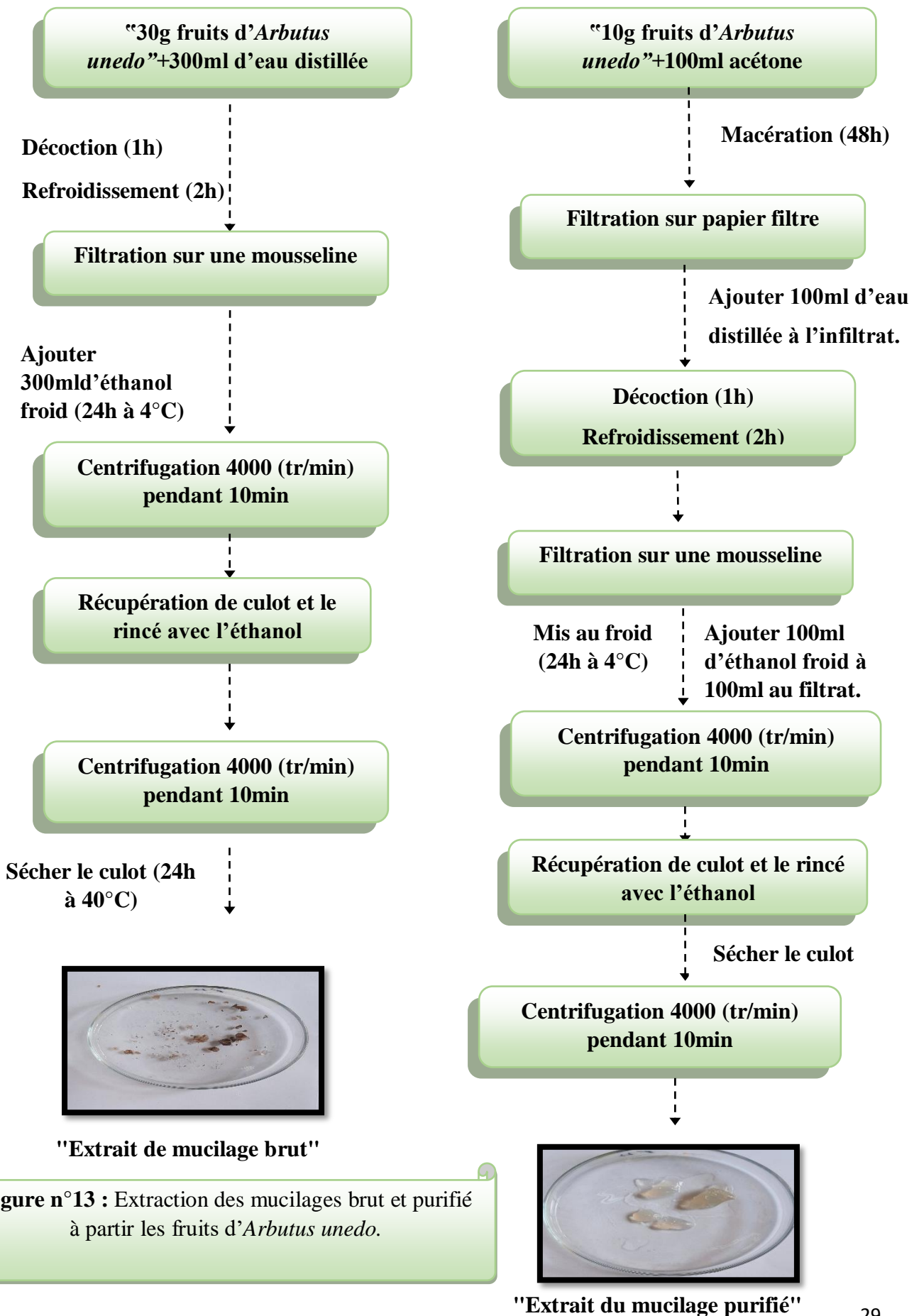


Figure n°13 : Extraction des mucilages brut et purifié à partir les fruits d'*Arbutus unedo*.

### 4 Rendement

Le rendement désigne la masse de l'extrait déterminée après évaporation du solvant, il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale de la plante soumise à l'extraction.

Le rendement de chaque mélange est calculé selon la formule suivante :

$$R = [(M2 - M1) / P] \times 100$$

- R : rendement en pourcentage %.
- M2 : la masse du tube après séchage (contient l'extrait) en gramme.
- M1 : la masse du tube vide en gramme.
- P : poids de matériel végétal prise d'essai.

### 5 Caractérisation des mucilages

#### 5.1 Dosage des protéines

##### ➤ Principe

Le dosage des protéines se fait par la méthode de Biuret selon (**Henry, 1964**). En solution alcaline les protéines forment avec les ions cuivriques un complexe coloré. L'absorbance est mesurable à 540 nm. La détermination des différentes concentrations se fait en se basant sur une droite d'étalonnage du sérum albumine bovine (SAB).

##### ➤ Dosage

**Etape1** : préparation du réactif de biuret pour 250 ml d'eau distillée.

- Solubiliser 11,5 g de NaOH dans 150 ml d'eau distillée.
- Ajouter les réactifs suivants successivement au mélange précédent : 0,28 g de CuSO<sub>4</sub> 0,25 g de KI et 1,48g de tartrate double sodium potassium.
- Ajuster le volume à 250 ml par l'eau distillée.

**Etape2** : préparation de la SAB.

- Peser 0,2 g de la SAB dans 20 ml de tampon.
- Réaliser des dilutions en cascade.

**Etape3** : préparation des extraits.

- Solubiliser l'extrait (brut ; purifié) dans le tampon.

**Etape4** : dosage

- Préparation une série de tubes, extraits, blanc et SAB. Prévoir 3 tubes (essais) pour chaque extrait ou pour le SAB.

- Dans les tubes, mettre 100 µl de la solution à doser (extrait ou SAB) et 1 ml du réactif de biuret.
- Le tube blanc qui contient (100 µl TP + 1 ml biuret) utilisé pour calibrer le spectrophotomètre.
- Les tubes sont incubés à l'ombre pendant 30 min puis l'absorbance est lue à 540 nm.

### ➤ Expression des résultats

$$\text{Pr(\%)} = [(C \times V) / P] \times 100$$

C : concentration en protéines de l'extrait en « mg/ml » (déterminée graphiquement).

V : volume de tampon en « ml ».

P : la prise d'essais « mg ».

Pr : taux de protéines.

## 5.2 Dosage des sucres

### ➤ Principe

La méthode de (**Dubois *et al.*, 1956**) permet de doser les sucres en utilisant le phénol et l'acide sulfurique concentré. En présence de ces deux réactifs, les oses donnent une couleur jaune-orange dont l'intensité est proportionnelle à la concentration des glucides. La densité optique est mesurée à 490 nm.

### ➤ Dosage

Les extraits obtenus sont solubilisés dans l'eau à différentes concentrations. Mélanger 1 ml de la solution obtenue avec 1 ml de phénol à 5% et 5 ml d'acide sulfurique pur. Laisser agir pendant 30 min et lire l'absorbance à 490 nm devant un blanc contenant 1ml d'eau distillée et 1ml de phénol avec 5 ml d'acide sulfurique. Une droite d'étalonnage de glucose est tracée afin d'estimer les concentrations des sucres dans les extraits analysés.

## 5.3 Le pH des mucilages

Solubiliser une quantité de 10 mg de chaque extrait de mucilage (brut et purifié) dans 10 ml d'eau distillée, préparer 3 essais. Le pH est mesuré à l'aide d'un pH mètre.

## 5.4 Tests de mise en évidence de quelque famille de molécules

### a. Acides aminés

- ❖ 1 ml d'extraits à tester est ajouté sur 2 ml de la solution de ninhydrine préparée dans l'acétone dont la concentration est 1%.

- ❖ Après le chauffage dans un bain-marie, un changement de couleur est observé dans les deux extraits.
- ❖ La présence des acides aminés donne une couleur violette (**Harborne, 1998**).

### b. Tanins

Ajouter 2 à 3 gouttes de solution de  $\text{FeCl}_3$  (2%) à 2 ml de chaque solution testée et laisser reposer quelques minutes. La présence des tanins donne une coloration bleue-noire et un précipité (**Karumi, 2004**).

## 5.5 Analyse spectroscopique par Infrarouge

### ➤ Principes

L'analyse par Infrarouge d'un échantillon permet de révéler la présence de certains groupements fonctionnels caractéristiques (**Capitani et al., 2016**). La spectrométrie Infrarouge est une méthode d'analyse physique rapide, basée sur l'excitation des molécules par des radiations Infrarouges. L'absorption des rayonnements de nombres d'ondes comprises entre 4000 et 400  $\text{cm}^{-1}$  en tant qu'énergie de vibration moléculaire modifie à la fois les états de rotation et de vibration des molécules (**López-León et al., 2022**).

### ➤ Méthode de Spectrométrie Infrarouge (PerKinElem)

Le spectre Infrarouge à transformé de fourier (FT-IR) d'extraits de mucilage brut et purifié est réalisés en pastilles de KBr (Bromure de potassium). Une quantité de pastille est étalée sur la pastille métallique et placer l'autre pastille métallique dans la partie supérieure et placer dans la presse hydraulique avec une pression de 10 ton, enlevé la pastille métallique supérieure pour récupérer la pastille de KBr et placer dans le support d'échantillon, mettre dans l'appareil d'Infrarouge pour tracer les pics qui sont enregistrés. Tous les spectres Infrarouges ont été enregistrés entre 4000 et 400  $\text{cm}^{-1}$ .

## 6 Effet inhibiteur des mucilages sur l'alpha-amylase

### ➤ Principe

Cette méthode consiste à évaluer l'effet inhibiteur des mucilages brut et purifié de fruit d'arbousier sur l'activité de l'alpha-amylase pancréatique d'origine porcine qui est proche d'un point de vue structural et cinétique de l'alpha-amylase humaine. Le substrat utilisé c'est l'amidon et l'acarbose molécule de référence est un contrôle positif. Les produits de cette réaction sont : des oligosaccharides, dextrans, maltose et glucose (**Worthington, 1988**). La quantité de produits formés est déterminée par la méthode de (**Lindsay, 1973**). Cette méthode

est basée sur le caractère réducteur des groupements aldéhydes et cétones libres des sucres. En milieu alcalin et à chaud, l'oxydation de ces fonctions provoque simultanément la réduction de l'acide 2,3-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.

### ➤ **Préparations des réactifs (Lindsay, 1973)**

#### ❖ **Réactif de DNSA (acide 3,5-dinitrosalicylique)**

1 g de DNSA est dispersé dans 40 ml d'eau distillée. Ensuite 30 g de tartrate double de sodium et de potassium sont ajoutés sous agitation. La solution obtenue est de couleur jaune opaque. L'addition de 20 ml d'une solution de NaOH (2N) rend le réactif limpide avec une couleur orange. Le volume obtenu est ajusté à 100 ml avec l'eau distillée. Le réactif obtenu est conservé à l'abri de la lumière et à 4°C.

#### ❖ **Solution de l'alpha-amylase**

L'enzyme utilisée est l'alpha-amylase (E.C.3.2.1.1) du pancréas porcine (PPA) sous forme lyophilisée (Fluka), son poids moléculaire est de 54 Da avec une activité spécifique de 13UI/mg, conservée à +4°C. 6mg de PPA sont solubilisés dans 20ml de solution tampon phosphate (0,02M, pH 6,9). La solution obtenue contient une activité enzymatique de 3,9UI/ml. L'optimum de l'activité de l'alpha-amylase d'origine porcine est à pH 6,9 pour une température de 37°C.

#### ❖ **Solution tampon phosphate (0,02M ; pH=6,9)**

On prépare la solution tampon de deux solutions, A et B.

La solution A est monobasique ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ) ( $M=119,98\text{g/mole}$ ) et B dibasique ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) ( $M=141,96\text{g/mole}$ ) à 0,02M et un pH final de 6,9 est fixé.

$$n=m/M \rightarrow m_A=n \times M = 119,98 \times 0,02=2,40 \text{ g}$$

$$n= m/M \rightarrow m_B=n \times M = 141,96 \times 0,02=2,84 \text{ g}$$

2,40 g du composé A ajustés avec l'eau distillée jusqu'à 1L.

2,84 g du composé B ajustés avec l'eau distillée jusqu'à 1L.

Ensuite, on mélange les deux solutions A et B pour avoir une concentration de 0,02 M et un pH=6,9.

#### ❖ **Solution de substrat (amidon)**

Le substrat de cette catalyse est l'amidon soluble. Il est préparé dans la solution tampon phosphate (0,02 M ; pH 6,9) à une concentration de 1% préalablement bouillir et refroidir afin de réaliser les tests sur l'alpha amylase.

Pour avoir une bonne activité enzymatique. On ajoute le NaCl à 6mM.

### ❖ Solution d'extrait

Différent concentration de mucilage sont préparées (2 ; 1 ; 0,5 ; 0,25 ; 0.125mg/ml) dans le tampon phosphate (0,02M ; pH 6,9) afin d'évaluer leur effet sur l'activité enzymatique de alpha-amylase.

### ❖ Solution de d'acarbose

L'acarbose «Glucobey®50 » est utilisé dans cette expérience comme molécule de référence afin de comparer son activité vis -à-vis de l'alpha amylase par rapport à celle des extraits.

Un comprimé de 50 mg est solubilisé dans le tampon phosphate afin d'avoir une concentration de 1 mg/ml d'acarbose.

### ➤ Mode opératoire

Les tests sont réalisés sur les mucilages brut et purifié.

Cette méthode est réalisée selon le protocole de (**Thalapaneni *et al.*, 2008**) avec modifications :

- On prépare une gamme de concentrations (dilution en cascade) et on teste l'effet de chaque concentration de l'extrait sur l'activité de l'alpha-amylase.
- **Tube blanc (pour le contrôle)** : 1 ml solution tampon + 0,5 ml d'amidon.
- **Tube blanc (pour l'extrait)** : 0,5 ml solution de tampon + 0,5 ml d'extrait +0,5 ml d'amidon.
- **Tube contrôle** : 0,5 ml de tampon phosphate + 0,5 ml d'amidon + 0,5 ml de solution enzymatique.
- **Tube d'essai** : □ 0,5 ml solution d'amidon + 0,5 ml solution d'extrait + 0,5 ml solution enzymatique.
  - On agite les tubes et on les incube pendant 15 min à 37°C.
  - On ajoute 1 ml de DNSA après l'incubation et on place les tubes dans un bain-marie bouillant pendant 8 min à 100°C.
  - Afin de stopper la réaction entre maltose et DNSA, On procède à un choc thermique en déposant les tubes dans un bain d'eau glacée.
  - On mesure les densités optiques au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 540 nm.

- Le calcul du pourcentage d'inhibition de chaque concentration d'extrait ou d'acarbose par rapport au contrôle (sans inhibiteur) se fait selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition de l}'\alpha\text{-amylase} = [(A \text{ Contrôle} - A \text{ échantillon}) / A \text{ Contrôle}] \times 100$$

- ❖ **A Contrôle** : Absorbance contrôle ; **A échantillon** : Absorbance échantillon.
- ❖ **IC 50** : la concentration inhibant 50% de l'activité enzymatique. Elle est calculée graphiquement.

# Résultats et discussion



### 1 Extraction du mucilage brut

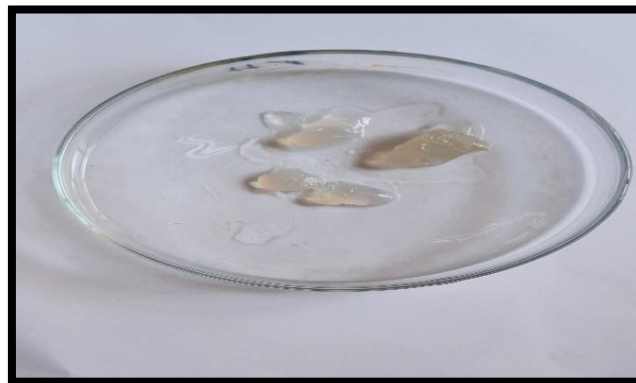
Grâce à l'ajout d'éthanol au filtrat, les mucilages se sont précipités. Après la centrifugation et le séchage, nous avons obtenu un extrait mucilagineux d'aspect solide de couleur marron (voir la figure n°13) avec un rendement de  $1,45 \pm 1,101\%$ .



**Figure13** : Mucilage brut.

### 2 Extraction du mucilage purifié

L'addition de l'éthanol au filtrat a entraîné la précipitation des mucilages. Après la centrifugation et le séchage, l'extrait de mucilage a pris une couleur blanchâtre d'un aspect gélifié (voir la figure n°14) avec un rendement estimé de  $3,606 \pm 0,45\%$ .



**Figure14** : Mucilage purifié.

Nous remarquons que l'extrait purifié a présenté un rendement plus élevé de 3,60% par rapport à l'extrait brut avec 1,45%.

En comparant nos rendements avec d'autres travaux, nous observons les nôtres sont inférieurs à ceux obtenus par **Sayyad et Sakhare, (2018)** et ont réalisé une étude sur l'isolement et la caractérisation du mucilage de graines d'*Ocimum basilicum* pour les performances de compression, présenté un rendement d'ordre de 30 % pour le mucilage séché.

Les travaux de **Sepúlveda et al., (2007)** sur l'extraction et la caractérisation du mucilage dans *Opuntia spp*, ont montré un rendement moyen estimé en mucilage après séchage de 1,48 % selon le poids frais qui est proche à notre rendement de l'extrait brut et de 19,4 % selon le poids sec.

L'étude de **Chatterjee et Mazumder, (2019)** sur l'extraction et la caractérisation de la Gomme d'okra, montre un rendement de mucilage de 10% qui est largement supérieur par rapport à nos résultats.

Cette variation dans le rendement peut être influencée par différents paramètres tel que : la période de récolte, l'organe de la plante, la durée de séchage, la méthode d'extraction, et la polarité des solvants utilisés (**Salminen, 2003**).

### 3 Caractérisation de mucilage

#### 3.1 Dosage des sucres et des protéines

Le tableau n°3 représente les résultats des dosages effectués sur les extraits de mucilages (brut et purifié) de l'arbousier.

**Tableau 3:** Composition en pourcentage des extraits d'*Arbutus unedo*.

	Mucilage brut	Mucilage purifié
<b>Protéines (%)</b>	46,49±17,49	2,77±0,24
<b>Sucres (%)</b>	1,14±0,12	0,08±0,07
<b>pH</b>	3,43±0,51	8,02±0,47

Les tests quantitatifs ont permis d'estimer les taux de protéines et des sucres dans les deux extraits. Pour les protéines, un taux de 46,49% est enregistré dans le mucilage brut et 2,77 % dans le mucilage purifié. Concernant le dosage des sucres, une valeur de 1,14% est

repérée dans le mucilage brut et 0,08% dans le mucilage purifié. Donc, nous pouvons constater que le mucilage brut est plus riche en protéines, et pour le taux en sucres est faible dans les deux extraits.

Le taux en protéines des extraits du mucilage est largement supérieur à ceux trouvés par **Bayar et al., (2016)** sur les extraits d'*Opuntia ficus Indica Cladodes* qui ont enregistré une faible teneur en protéines dans la fraction mucilage qui est de 0,83 % et un taux de sucre important estimé de 63,45 % dans leur mucilage qui se différencie à notre résultat.

**Silva et al., (2019)** ont révélé une teneur en protéines du mucilage vert des fruits de *Pereskia aculeata* Miller de 19,89 % qui est inférieure à celle-ci de notre mucilage brut et une teneur en sucre de 67,20% qui est plus élevée que celle observée dans nos résultats du mucilage des fruits d'arbousier.

De même, nos résultats en teneur en sucre sont énormément inférieurs à ceux-ci enregistrés par **(Archana, 2023)** qui a noté une teneur importante en sucre de 77,72 % dans les graines de *Lepidum sativum*.

Cela peut être dû aux conditions d'extraction, aux matières premières de départ et à la méthode utilisée pour la quantification des protéines et des sucres **(Bayar et al., 2016)**.

Le résultat de l'analyse physique de potentiel d'hydrogène (pH) de l'extrait brut montre une valeur de 3,43 signifiant qu'il a un caractère acide. Cela pourrait indiquer la possibilité de la présence des acides uroniques en nombre élevé contredisant au résultat de l'extrait purifié avec un caractère basique pH=8,02. Ce résultat pourrait montrer que le deuxième extrait contient moins d'acides uroniques.

Le pH de l'extrait brut est plus acide par rapport à celui trouvé par **Alalor et al., (2014)** et qui ont noté un pH de 6,1 sur l'extrait mucilagineux de *Colocasia esculenta*, une valeur proche de la neutralité. Aussi **Gupta et al., (2015)** ont estimé un pH de 6,90 pour le mucilage de *Hibiscus rosasinensis*.

### 3.2 Tests de mise en évidence de quelques familles de molécules

Le tableau n°4 résume les résultats des tests recherchant quelques familles de molécules dans l'extrait de mucilage brut et purifié.

**Tableau 4:** Les tests phytochimiques des extraits de mucilage brut et purifié.

	Mucilage brut	Mucilage purifié
Tannins	++	-
Acides aminés	++	+

++ : Moyennement positive      + : Faiblement positive      -Absence totale

Les tests phytochimiques réalisés sur le mucilage montrent une réaction très positive avec FeCl<sub>3</sub>, ce qui indique la présence des composés phénoliques dans l'extrait du mucilage brut par contre leur absence dans le mucilage purifié. Les acides aminés sont présents dans les deux extraits mais beaucoup plus dans l'extrait brut que purifié.

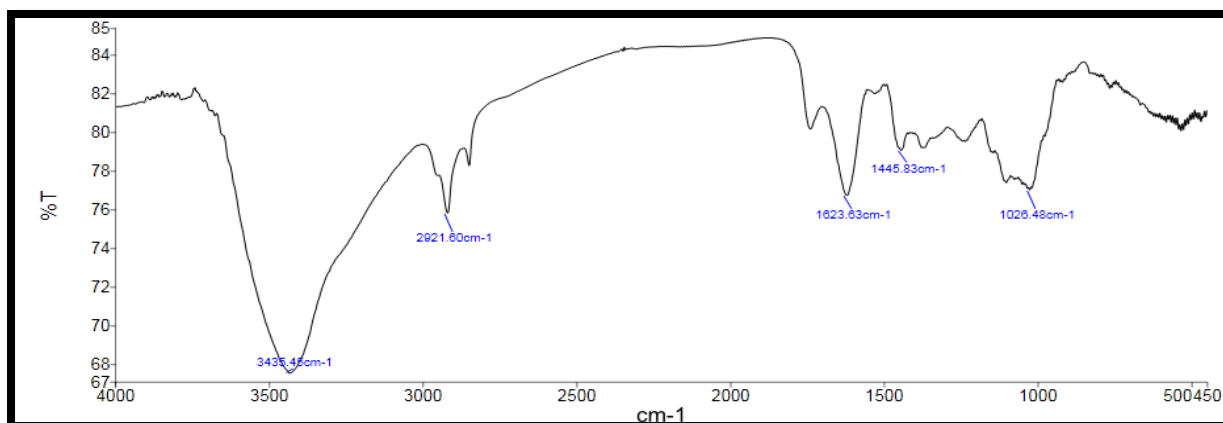
Une étude réalisée par **Gupta et al., (2015)** sur le mucilage des feuilles de *Hibiscus rosasiennes* a montré la présence des acides aminés qui est semblables à nos résultats, également signalé l'absence des tanins. Ce résultat est en accord avec notre étude sur l'extrait purifié.

Selon les résultats de **Manhivi et al., (2018)** les acides aminés étaient présents en quantités importantes dans les mucilages de *Cactus*.

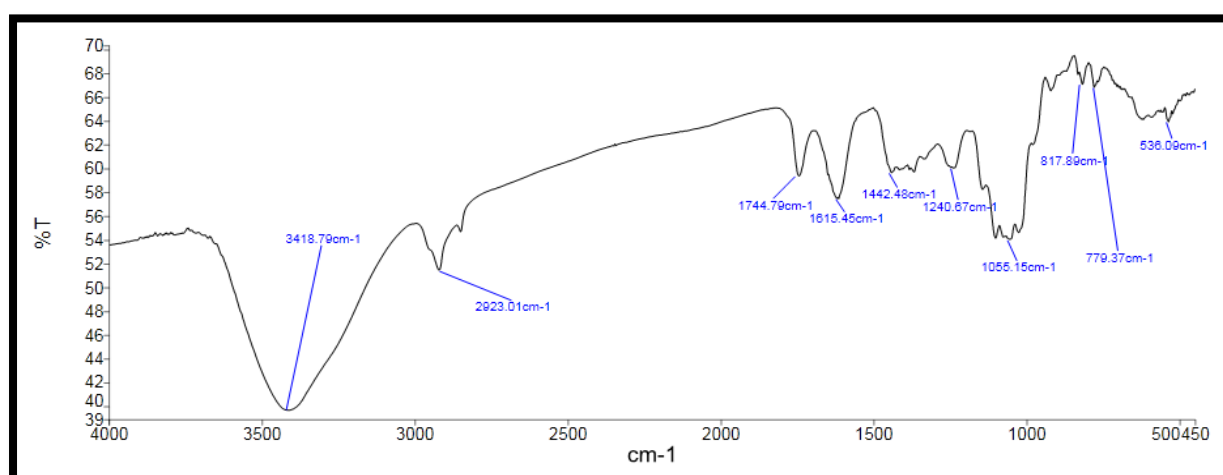
Les tanins sont absents dans le mucilage purifié, ces résultats peuvent être expliqués par la méthode d'extraction des mucilages plus précisément, la macération avec l'acétone a permis de précipiter les composés phénoliques dont les tannins qui indiquent l'absence de ces derniers dans l'extrait de mucilage purifié.

### 3.3 Analyse spectroscopique par Infrarouge

Les deux figures 15 et 16 représentent les spectres FT-IR d'extraits des mucilages brut et purifié. D'une manière générale, les spectres Infrarouges des extraits de polysaccharides hydrosolubles laissent apparaître une bande d'absorption large à 3400cm<sup>-1</sup> qui semblent correspondre à la vibration du groupement hydroxyle (OH).



**Figure 15 :** Spectre Infrarouge de l'extrait de mucilage brut d'*Arbutus unedo*.



**Figure16 :** Spectre Infrarouge de l'extrait des mucilages purifié d'*Arbutus unedo*.

Le tableau 5 montre l'analyse des spectres FT-IR obtenus pour les deux extraits. L'interprétation est caractéristique des polysaccharides hétérogène (Tan et Gan, 2016).

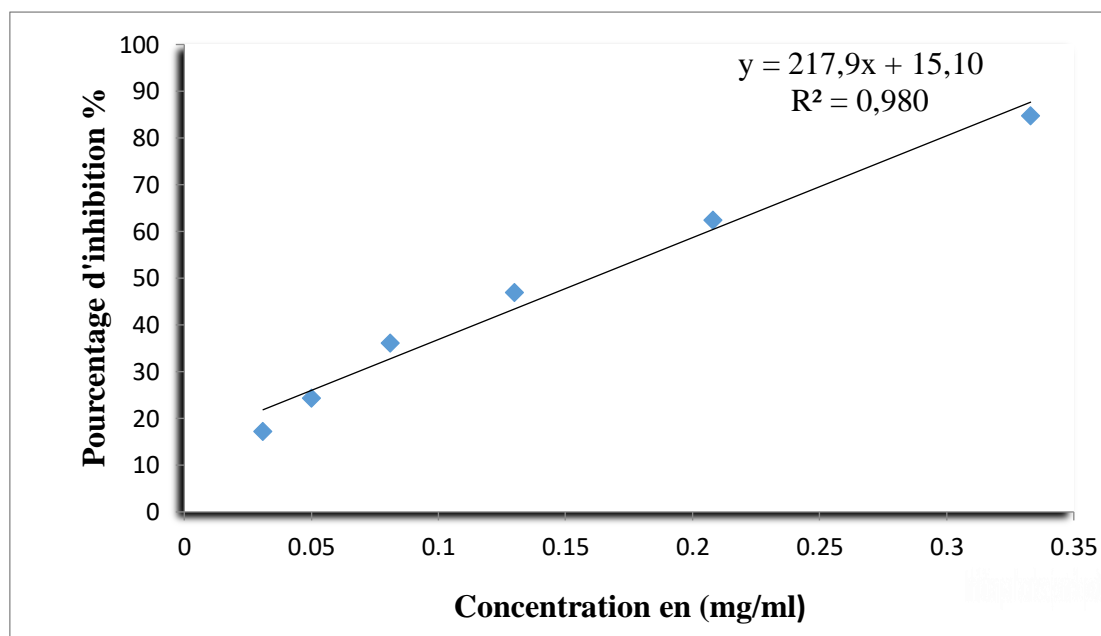
**Tableau 5 :** Analyse des spectres Infrarouge des extraits de mucilage de l'arbousier

Numéro	Nombre d'onde	Groupe Fonctionnel
1	3408-3548	-OH (groupe hydroxyle)
2	2800-300	C-H vibration et élongation
3	1622	-COO <sup>-</sup> (groupe carboxyle)
4	1100-1300	C-O
5	600-700	C-H
6	500-540	S-S (disulfure)

## 4 Inhibition de l'alpha-amylase

### 4.1. Inhibition par l'acarbose (contrôle positif)

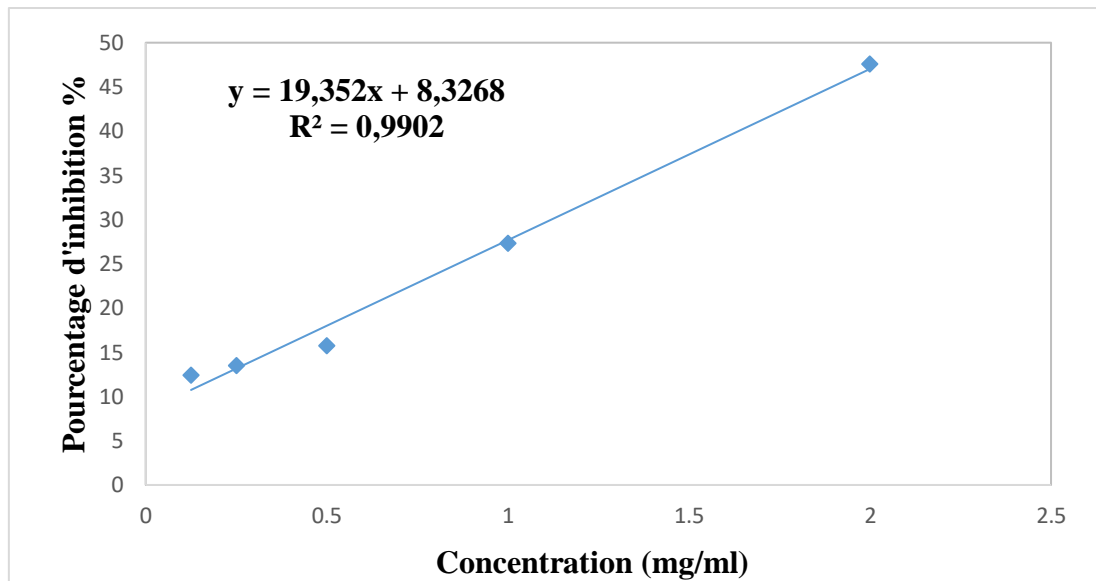
D'après les résultats présentés sur la figure n°17, nous pouvons remarquer une augmentation relativement importante des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations croissantes de l'acarbose, avec une IC<sub>50</sub> de 0,16 mg/ml.



**Figure17** : Pourcentage d'inhibition(%) en fonction des concentrations d'acarbose (mg/ml).

### 4.2. Inhibition par l'extrait de mucilage brut

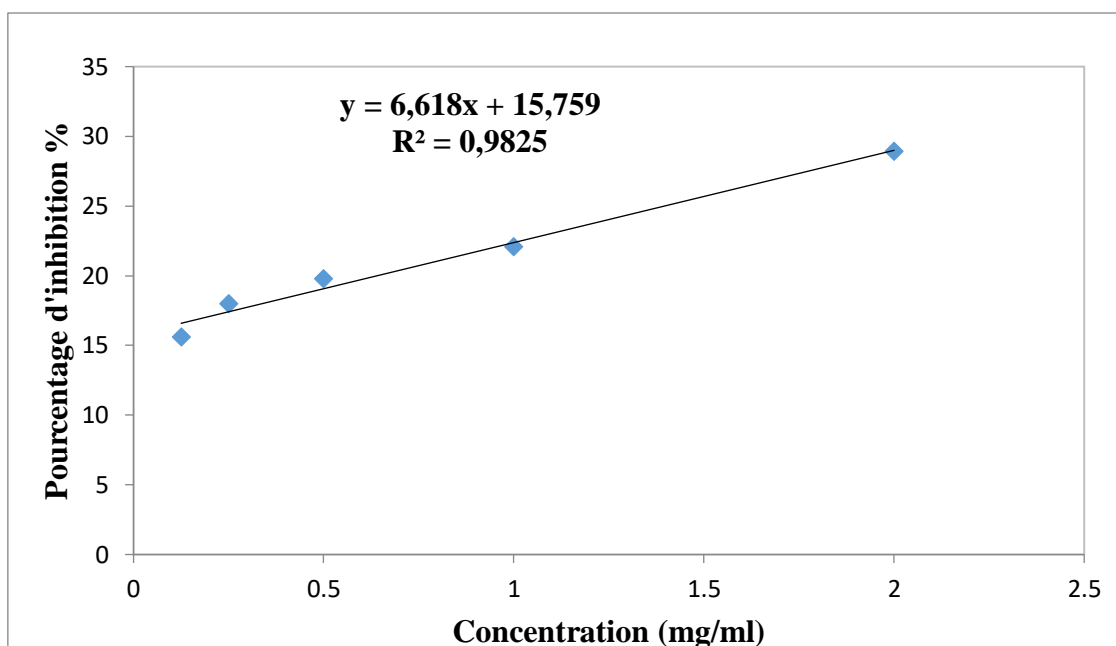
Le graphe dessiné sur la figure n°18, montre la variation des pourcentages d'inhibition de l'alpha-amylase par l'extrait de mucilage brut. Une IC<sub>50</sub> de l'ordre 2,153 mg/ml est enregistrée. Cette valeur est plus élevée par rapport à celle de l'acarbose (0,16 mg/ml) qui est une molécule de référence.



**Figure18 :** Pourcentage d'inhibition (%) en fonction des concentrations de mucilage brut (mg/ml).

#### 4.3. Pourcentages d'inhibition par l'extrait de mucilage purifié

La figure n°19 montre les pourcentages d'inhibition de l'alpha-amylase par l'extrait de mucilage purifié. L'IC<sub>50</sub> enregistrée est de l'ordre de 5,17 mg/ml. Cette valeur est supérieure à celle du mucilage brut (2,153 mg/ml).



**Figure19** : Pourcentage d'inhibition (%) en fonction des concentrations de mucilage purifié (mg/ml).

Les valeurs montrent une efficacité faible par rapport aux résultats trouvés par **Tedjani et al., (2023)** qui ont trouvé un effet inhibiteur important sur l'activité  $\alpha$ -amylase avec une  $IC_{50}$  de  $0,8 \pm 0,005$  mg/ml pour le mucilage de *Astragalus gyzensis Bunge* comparativement à l'acarbose comme témoin positif avec une  $IC_{50}$  de  $0,295 \pm 0,006$  mg/ml.

Aussi, l'effet de notre résultat est nettement inférieur à celle-ci trouvée par **Khan et al., (2023)** qui ont trouvé une  $IC_{50}$  de l'ordre de 0,85 mg/ml testée sur le mucilage brut d'okra *Abelmoschus esculentus* comparés à l'acarbose qui a démontré 100% d'inhibition dans les circonstances de leur essai.

Des données cohérentes ont été observées dans l'étude de **Chukwuma et al., (2018)** où les deux extraits de mucilage sec de l'amadumbe (*Colocasia esculenta*) et okra (*Abelmoschus esculentus*) présentaient un effet inhibiteur sur l'activité de la  $\alpha$ -amylase avec une valeur de  $IC_{50}$  de  $2,23 \pm 0,24$  mg/ml et  $2,57 \pm 0,34$  mg/ml respectivement.

Par comparaison, l'extrait de notre mucilage brut a montré un effet inhibiteur plus puissant par rapport à leurs extraits, mais concernant le mucilage purifié présentait une inhibition plus faible de l'absorption du glucose intestinal.

L'activité enzymatique peut être affectée par les drogues ou par de nombreux agents chimiques tels que le pH qui peuvent entraîner un changement d'ionisation des acides aminés de site actif et qui peuvent même influe sur la solubilité de la protéine.



L'activité inhibitrice de l'extrait brut s'interprète par leur acidité qui empêche les acides aminés de site actif (Glu261, Asp231, Asp328) de l'enzyme d'être ionisés négativement dans ce milieu acide.

L'effet inhibiteur sur l'alpha amylase pourrait être aussi du à la présence des composés phénoliques ou à sa richesse en acides aminés ou à la combinaison des extraits de mucilage au site actif libre de l'enzyme à la place de substrat (inhibition compétitive), ce qui bloque la réaction normalement catalysée par l'enzyme.

D'après ces résultats, nous avons suggéré que l'*Arbutus unedo* présente des propriétés inhibitrices importantes contre l' $\alpha$ -amylase et pourrait être utilisés comme un aliment fonctionnel anti-hyper glycémique pour la gestion du diabète.

# Conclusion

L'objectif de notre travail est de tester *in vitro* le pouvoir inhibiteur de mucilage d'*Arbutus unedo* sur l'activité de l' $\alpha$ -amylase.

Les tests de caractérisation de mucilage montrent que l'extrait de mucilage brut est plus riche en protéines avec une valeur de  $46,49 \pm 17,49\%$  par rapport au mucilage purifié  $2,77 \pm 0,24\%$  par contre les deux extraits ont une faible teneur en sucres  $1,14 \pm 0,12\%$  et  $0,08 \pm 0,07\%$  pour le mucilage brut et purifié respectivement. En plus les tests de mise en évidence montrent la présence des acides aminés dans les deux types de mucilages et pour les composés phénoliques (tannins) sont présents dans l'extrait brut et non dans l'extrait purifié.

Le résultat de l'analyse physique de potentiel d'hydrogène (pH) de l'extrait brut montre une valeur de pH acide qui est de 3,43 contredisait au résultat de l'extrait purifié avec une valeur de pH basique de 8,02.

L'effet inhibiteur de l' $\alpha$ -amylase par les différents extraits d'*Arbutus unedo* étudiés est confirmé par les résultats obtenus et qui sont dus à sa richesse en molécules bioactives puissantes.

A partir des résultats obtenus, nous pouvons conclure que l'*Arbutus unedo* est une plante antidiabétique qui a un pouvoir inhibiteur d' $\alpha$ -amylase remarquable et intéressant. Les valeurs d'IC<sub>50</sub> sont comme suit : 2,153 mg/ml ; 5,17 mg/ml pour les extraits brut et purifié respectivement.

A la lumière de ces résultats, il serait intéressant de réaliser d'autres recherches qui s'intéressent à :

- L'utilisation d'autres méthodes d'extraction avec d'autres solvants organiques, sur les parties de la plante (feuilles, fleurs et graines)
- L'identification structurale des mucilages du fruit d'arbousier
- La séparation des différents composants de mucilage pour tester leur effet sur le diabète sucré d'une manière générale et sur l' $\alpha$ -amylase précisément.
- La recherche d'autres effets biologiques, antioxydant, antimicrobien,

# **Références bibliographiques**

### A

- **Azwanida, N. (2015).** A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. *Med Aromat Plants*, 4(196), 2167-0412.
- **Alalor, C., Avbunudiogba, J., & Augustine, K. (2014).** Isolation and characterization of mucilage obtained from Colocasia esculenta. *International Journal of pharma and bio sciences*, 4(1), 25-29.
- **AIT-YOUSSEF, M. (2006).** Les plantes médicinales en Kabylie. Édition Ibis presse, Paris, 349 p.
- **Angone, S. A., Nguema-Ona, E., & Driouich, A. (2010).** La thérapie par les plantes en Afrique: activités immunostimulantes des polysaccharides de la paroi végétale. *Phytothérapie*, 8(4), 223-230.
- **Aouadhi, S. (2010).** Atlas de risques de la phytothérapie traditionnelle à l'étude de 57 plantes recommandées par les herboristes. *Mém. Mas. en toxicologie. Faculté de médecine de Tunisie*.
- **Archana, G., Sabina, K., Babuskin, S., Radhakrishnan, K., Fayidh, M. A., Babu, P. A. S., Sivarajan, M., & Sukumar, M. (2013).** Preparation and characterization of mucilage polysaccharide for biomedical applications. *Carbohydrate polymers*, 98(1), 89-94.
- **Archana, C. S.** Lepidium Sativum Mucilage: From Characterization to Prebiotic Assessment. *Int J Biomed Investig* 2023; 6: 143. doi: 10.31531/2581-4745.1000143 2 e-ISSN: 2581, 4745.
- **Alam, F., Shafique, Z., Amjad, S. T., & Bin Asad, M. H. H. (2019).** Enzymes inhibitors from natural sources with antidiabetic activity: A review. *Phytotherapy Research*, 33(1), 41-54.

### B

- **Bajoub, A., Ennahli, N., Ouaabou, R., Chaji, S., Hafida, H., Soulaymani, A., Idlimam, A., Merah, O., Lahlali, R., & Ennahli, S. (2023).** Investigation into Solar Drying of Moroccan Strawberry Tree (*Arbutus unedo* L.) Fruit: Effects on Drying Kinetics and Phenolic Composition. *Applied Sciences*, 13(2), 769.

- **Bebek Markovinović, A., Brčić Karačonji, I., Jurica, K., Lasić, D., Skendrović Babojelić, M., Duralija, B., Šic Žlabur, J., Putnik, P., & Bursać Kovačević, D. (2022).** Strawberry Tree Fruits and Leaves (*Arbutus unedo* L.) as Raw Material for Sustainable Functional Food Processing: A Review. *Horticulturae*, 8(10), 881.
- **Bijttebier, A., Goesaert, H., & Delcour, J. (2008).** Amylase action pattern on starch polymers. *Biologia*, 63(6), 989-999.
- **Bouaré, I. (2022).** *Plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du diabète, sources de molécules antidiabétiques comme la metformine issue de galéga officinalis L. Fabaceae USTTB*].
- **Bayar, N., Kriaa, M., & Kammoun, R. (2016).** Extraction and characterization of three polysaccharides extracted from *Opuntia ficus indica* cladodes. *International journal of biological macromolecules*, 92, 441-450.

### C

- **Canada, D. (2018).** *Diabetes Canada 2018 clinical practice guidelines for the prevention and management of diabetes in Canada*. Diabetes Canada.
- **Celikel, G., Demirsoy, L., & Demirsoy, H. (2008).** The strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) selection in Turkey. *Scientia Horticulturae*, 118(2), 115-119.
- **Chabrier, J.-Y. (2010).** PLANTES MÉDICINALES PLANTES MÉDICINALES ET FORMES ET FORMES D'UTILISATION EN PHY D'UTILISATION EN PHYTOTHÉRAPIE TOTHÉRAPIE TOTHÉRAPIE.
- **Chateigner-Boutin, A.-L., Saulnier, L., Lessire, M., Wacrenier, N., & Alleman, F. (2020).** Les polymères de mannose en production animale. 1. focus sur les structures chimiques rencontrées dans les aliments et les propriétés biologiques. *INRAE Productions Animales*, 33(4), 283-294.
- **Colberg, S. R., Sigal, R. J., Fernhall, B., Regensteiner, J. G., Blissmer, B. J., Rubin, R. R., Chasan-Taber, L., Albright, A. L., & Braun, B. (2010).** Exercise and type 2 diabetes: the American College of Sports Medicine and the American Diabetes Association: joint position statement. *Diabetes care*, 33(12), e147-e167.
- **Capitani, M. I., Matus-Basto, A., Ruiz-Ruiz, J., Santiago-García, J., Betancur-Ancona, D., Nolasco, S. M., Tomás, M. C., & Segura-Campos, M. (2016).**

Characterization of biodegradable films based on *Salvia hispanica* L. protein and mucilage. *Food and Bioprocess Technology*, 9, 1276-1286.

- **Chatterjee, S., & Mazumder, R. (2019).** Novel approach of extraction and characterization of okra gum as a binder for tablet formulation. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 12(1), 189-192.
- **Chukwuma, C. I., Islam, M. S., & Amonsou, E. O. (2018).** A comparative study on the physicochemical, anti-oxidative, anti-hyperglycemic and anti-lipidemic properties of amadumbe (*Colocasia esculenta*) and okra (*Abelmoschus esculentus*) mucilage. *Journal of Food Biochemistry*, 42(5), e12601.

### D

- **Daraghmah, F. S., & Qubbaj, T. (2021).** Impact of gum Arabic and cactus mucilage as potential coating substances combined with calcium chloride treatment on tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit quality attributes under ambient storage conditions. *Canadian Journal of Plant Science*, 102(2), 375-384.
- **DeFronzo, R. A., Ferrannini, E., Zimmet, P., & Alberti, G. (2015).** *International textbook of diabetes mellitus*. John Wiley & Sons.
- **Dimopoulou, M. (2013).** *Les polysaccharides de la bactérie lactique Oenococcus oeni, de l'élucidation de leurs structures et voies de biosynthèse à leur valorisation technologique* Bordeaux 2].
- **Dorchy, H. (2006).** Utilisation rationnelle des nouveaux analogues de l'insuline dans le traitement du diabète de type 1 chez les enfants et adolescents: expérience personnelle. *Archives de pédiatrie*, 13(9), 1275-1282.
- **Dybka-Stępień, K., Otlewska, A., Gózdź, P., & Piotrowska, M. (2021).** The renaissance of plant mucilage in health promotion and industrial applications: A review. *Nutrients*, 13(10), 3354.
- **DuBois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. t., & Smith, F. (1956).** Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry*, 28(3), 350-356.
- **Dybka-Stępień, K., Otlewska, A., Gózdź, P., & Piotrowska, M. (2021).** The renaissance of plant mucilage in health promotion and industrial applications: A review. *Nutrients*, 13(10), 3354.

### E

- **El Haouari, M., Assem, N., Changan, S., Kumar, M., Daştan, S. D., Rajkovic, J., Taheri, Y., & Sharifi-Rad, J. (2021).** An insight into phytochemical, pharmacological, and nutritional properties of *Arbutus unedo* L. from Morocco. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021.

### F

- **Fardet, A. (2019).** Augmentation du potentiel santé des graines par la prégermination et intérêt du «minimal processing». 3. Colloque «Futur du pain, pains du futur et autres aliments céréaliers»,
- **Fougere, É. (2019).** Le diabète gestationnel. *Actualités Pharmaceutiques*, 58(586), 57-59.

### G

- **Giglio, R. V., Papanas, N., Rizvi, A. A., Ciaccio, M., Patti, A. M., Ilias, I., Pantea Stoian, A., Sahebkar, A., Janez, A., & Rizzo, M. (2022).** An Update on the Current and Emerging Use of Thiazolidinediones for Type 2 Diabetes. *Medicina*, 58(10), 1475.
- **Goksen, G., Demir, D., Dhama, K., Kumar, M., Shao, P., Xie, F., Echeagaray, N., & Lorenzo, J. M. (2023).** Mucilage polysaccharide as a plant secretion: Potential trends in food and biomedical applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 123146.
- **Gupta, R., Gigras, P., Mohapatra, H., Goswami, V. K., & Chauhan, B. (2003).** Microbial  $\alpha$ -amylases:abiotechnological perspective. *Processbiochemistry*, 38(11), 1599-1616.
- **Gupta, S., Parvez, N., & Sharma, P. K. (2015).** Extraction and characterization of *Hibiscus rosasinensis* mucilage as pharmaceutical adjuvant. *World Appl. Sci. J*, 33(1), 136-141.

### H

- **Holaly, G. E., Efui Holaly, G., Kodjovi, A., Simplicite Damintoti, K., Kokou, A., Yao, A., Gérard, T., Blaise, A., Jacques, S., & Messanvi, G. (2017).** Composés bioactifs isolés des plantes à propriété anti-diabétique: Revue de littérature [Isolated



bioactive plant compounds with anti-diabetic property: Review]. *Int. J. Innov. Appl. Stud*, 19, 839-849.

- **Harborne, A. (1998).** *Phytochemical methods a guide to modern techniques of plant analysis*. Springer science & business media.
- **Henry, R. J. (1964).** *Clinical chemistry, principles and technics*.

### I

- **Iserin, P., Masson, M., Restellini, J., Ybert, E., De Laage de Meux, A., Moulard, F., Zha, E., De la Roque, R., De la Roque, O., & Vican, P. (2001).** *Larousse des plantes medicinales: identification, préparation, soins*. Editions Larousse, Paris, 15.

### J

- **Janeček, Š., Svensson, B., & MacGregor, E. A. (2014).**  $\alpha$ -Amylase: an enzyme specificity found in various families of glycoside hydrolases. *Cellular and molecular life sciences*, 71, 1149-1170.

### K

- **Karumi, Y. (2004).** Identification of Active Principles of M. balsamina (Balsam Apple) Leaf Extract Y. Karumi," PA. Onyeyili and "VO Ogugbuaja. *Journal of Medical Sciences*, 4(3), 179-182.
- **Kashani-Amin, E., Yaghmaei, P., Larijani, B., & Ebrahim-Habibi, A. (2013).** Xanthine derivatives as activators of alpha-amylase: Hypothesis on a link with the hyperglycemia induced by caffeine. *Obesity Research & Clinical Practice*, 7(6), e487-e493.
- **Keithley, J. K., & Swanson, B. (2005).** Glucomannan and obesity: a critical review. *Alternative therapies in health and medicine*, 11(6), 30-35.
- **King, G. L. (2008).** The role of inflammatory cytokines in diabetes and its complications. *Journal of periodontology*, 79, 1527-1534.
- **Koukiekolo, R. P. (2001).** *Mode d'action de l' $\alpha$ -amylase pancréatique de porc. Inhibition par les cyclodextrines et par l'inhibiteur protéique de Phaseolus,  $\alpha$ -AI, mise en évidence et caractérisation de sites secondaires Aix-Marseille 3*].
- **Koula, D., & Souhila, T. (2014).** Antibacterial Effect of Arbutus Unedo L. Fruit and Its Essential Oils on Salmonella Typhi (Atcc 14028) and Pseudomonas Aeruginosa

(Atcc 27853). *International Journal of Applied and Natural Sciences (IJANS)*, 3(6), 25-30.

- **Krief, S. (2003).** *Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (Pan troglodytes schweinfurthii) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées* Museum national d'histoire naturelle-MNHN PARIS].
- **Khan, S., Gul, H., Ahmed, A., & Shireen, F.** Anti-diabetic potential of water-soluble polysaccharide from okra pods mucilage diabetes.

### L

- **Lucas-Amichi, A., & Andronikof, M. (2015).** Coma hyperosmolaire. *LES URGENCES ENDOCRINIENNE*.
- **Lindsay, H. (1973).** A colorimetric estimation of reducing sugars in potatoes with 3, 5-dinitrosalicylic acid. *Potato Research*, 16(3), 176-179.
- **López-León, L., Sánchez-Ortiz, W., Guerrero, A. L., Ruiz-Ochoa, J. A., Lizárraga-Mendiola, L., & Castañeda-Robles, I. E. (2022).** Electrochemical evaluation of mucilage and cochineal pigments as a hybrid film coating on aluminum surfaces. *Materials Research Express*, 9(6), 065306.
- **Li, X., Bai, Y., Jin, Z., & Svensson, B. (2022).** Food-derived non-phenolic  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase inhibitors for controlling starch digestion rate and guiding diabetes-friendly recipes. *Lwt*, 153, 112455.

### M

- **Mafakher, L., Ahmadi, Y., Fard, J. K., Yazdansetad, S., Gomari, S. R., & Far, B. E. (2022).** Alpha-amylase immobilization; methods and challenges. *Pharmaceutical Sciences*.
- **Mafakher, L., Ahmadi, Y., Fard, J. K., Yazdansetad, S., Gomari, S. R., & Far, B. E. (2023).** Alpha-Amylase Immobilization: Methods and Challenges.
- **Magnan, C., & Ktorza, A. (2005).** Production et sécrétion de l'insuline par la cellule  $\beta$  pancréatique. *EMC-Endocrinologie*, 2(4), 241-264.
- **Mahnashi, M. H., Alam, W., Huneif, M. A., Abdulwahab, A., Alzahrani, M. J., Alshaibari, K. S., Rashid, U., Sadiq, A., & Jan, M. S. (2023).** Exploration of

Succinimide Derivative as a Multi-Target, Anti-Diabetic Agent: In Vitro and In Vivo Approaches. *Molecules*, 28(4), 1589.

- **Martins, J., Pinto, G., & Canhoto, J. (2022).** Biotechnology of the multipurpose tree species *Arbutus unedo*: a review. *Journal of Forestry Research*, 33(2), 377-390.
- **Mavel, M. (2021).** Prise en charge à l'officine des maladies hivernales à l'aide de la phytothérapie.
- **Michels, K. B., Solomon, C. G., Hu, F. B., Rosner, B. A., Hankinson, S. E., Colditz, G. A., & Manson, J. E. (2003).** Type 2 diabetes and subsequent incidence of breast cancer in the Nurses' Health Study. *Diabetes care*, 26(6), 1752-1758.
- **Miguel, M. G., Faleiro, M. L., Guerreiro, A. C., & Antunes, M. D. (2014).** *Arbutus unedo* L.: chemical and biological properties. *Molecules*, 19(10), 15799-15823.
- **Mohammedi, Z. (2020).** Étude de l'évolution de la capacité anti-radicalaire du fruit de l'*Arbutus unedo* L. à différents stades de maturation. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*.
- **Moualek, I. (2018).** *Activités biologiques de l'extrait aqueux de feuilles d'Arbutus unedo de la région de Tizi-Ouzou* [Université Mouloud Mammeri].
- **Movahedpour, A., Asadi, M., Khatami, S. H., Taheri-Anganeh, M., Adelipour, M., Shabaninejad, Z., Ahmadi, N., Irajie, C., & Mousavi, P. (2022).** A brief overview on the application and sources of  $\alpha$ -amylase and expression hosts properties in order to production of recombinant  $\alpha$ -amylase. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 69(2), 650-659.
- **Manhivi, V. E., Venter, S., Amonsou, E. O., & Kudanga, T. (2018).** Composition, thermal and rheological properties of polysaccharides from amadumbe (*Colocasia esculenta*) and cactus (*Opuntia* spp.). *Carbohydrate polymers*, 195, 163-169.
- **Morgado, S., Morgado, M., Plácido, A. I., Roque, F., & Duarte, A. P. (2018).** *Arbutus unedo* L.: From traditional medicine to potential uses in modern pharmacotherapy. *Journal of ethnopharmacology*, 225, 90-102.

## N

- **Nervo, R. (2010).** *Étude de l'oxydation et de l'hydrolyse en milieu diphasique solide-gaz des glucomannanes et d'autres polysaccharides* [Université Joseph-Fourier-Grenoble I].

- **Nielsen, J. E., Borchert, T. V., & Vriend, G. (2001).** The determinants of  $\alpha$ -amylase pH-activity profiles. *Protein Engineering, Design and Selection*, 14(7), 505-512.

### O

- **Orban, J.-C., & Ichai, C. (2011).** Complications métaboliques aiguës du diabète. In *Désordres métaboliques et réanimation* (pp. 347-360). Springer.
- **Ouedraogo, S., Yoda, J., Traore, T. K., Nitiema, M., Sombie, B. C., Diawara, H. Z., Yameogo, J. B., Djande, A., Belemnaba, L., & Kini, F. B. (2021).** Production de matières premières et fabrication des médicaments à base de plantes médicinales. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 15(2), 750-772.
- **Özcan, M. M., & Haciseferoğulları, H. (2007).** The strawberry (*Arbutus unedo* L.) fruits: chemical composition, physical properties and mineral contents. *Journal of Food Engineering*, 78(3), 1022-1028.
- **Özcan, M. M., & Uslu, N. (2023).** The Effects of Oven Dehydration on Bioactive Compounds, Antioxidant Activity, Fatty Acids and Mineral Contents of Strawberry Tree Fruit. *Processes*, 11(2), 541.
- **Organization, W. H. (2019).** Classification of diabetes mellitus.

### P

- **Papoutsis, K., Zhang, J., Bowyer, M. C., Brunton, N., Gibney, E. R., & Lyng, J. (2021).** Fruit, vegetables, and mushrooms for the preparation of extracts with  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase inhibition properties: A review. *Food Chemistry*, 338, 128119.
- **Partie, I. (2021).** Modulateurs du microbiote intestinal. *Microbiote intestinal et santé humaine*, 29.
- **Pirson, N., Maiter, D., & Alexopoulou, O. (2016).** Prise en charge du diabète gestationnel en 2016: une revue de la littérature. *Endocrinol Nutr*, 135(10), 661-668.
- **Prajapati, V. D., Jani, G. K., Moradiya, N. G., Randeria, N. P., Nagar, B. J., Naikwadi, N. N., & Variya, B. C. (2013).** Galactomannan: A versatile biodegradable seed polysaccharide. *International Journal of Biological Macromolecules*, 60, 83-92.

- **Punthakee, Z., Goldenberg, R., & Katz, P. (2018).** Definition, classification and diagnosis of diabetes, prediabetes and metabolic syndrome. *Canadian journal of diabetes*, 42, S10-S15.

### R

- **Rejeb, A., Allaf, K., & Hamrouni, L. (2021).** Notes physiologiques, ethnobotaniques et ethnopharmacologiques sur *Arbutus unedo* (L.). *Phytothérapie*, 19(3), 184-189.
- **Robert, J.-J. (2009).** Diabète de type 1: diagnostic, traitement par l'insuline, équilibre glycémique et complications. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2009(409), 19-21.
- **Rorive, M., Letiexhe, M., Scheen, A., & Ziegler, O. (2005).** Obésité et diabète de type 2. *Revue Médicale de Liège*, 60(5-6).

### S

- **Salvatore, T., Pafundi, P. C., Marfella, R., Sardu, C., Rinaldi, L., Monaco, L., ... & Sasso, F. C. (2019).** Metformin lactic acidosis: Should we still be afraid?. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 157, 107879.
- **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.
- **Scheen, A.-J. (2018).** Place des inhibiteurs des SGLT2 dans le traitement du patient diabétique de type 2. *Médecine des maladies Métaboliques*, 12(1), 22-30.
- **SCHEEN, A. (2015).** Comment je traite... A propos du positionnement des inhibiteurs de la DPP-4 (gliptines) dans le traitement du diabète de type 2. *Revue Médicale de Liège*, 70.
- **SCHEEN, A., RADERMECKER, R., Philips, J., Rorive, M., De Flines, J., Ernest, P., & Paquot, N. (2007).** Le traitement du diabète de type 2: entre insulinosensibilisateurs et insulinosécrétagogues. *Revue Médicale de Liège*, 62.
- **Souza, P. M. d., & Magalhães, P. d. O. (2010).** Application of microbial  $\alpha$ -amylase in industry-A review. *Brazilian journal of microbiology*, 41, 850-861.
- **Salminen, J.-P. (2003).** Effects of sample drying and storage, and choice of extraction solvent and analysis method on the yield of birch leaf hydrolyzable tannins. *Journal of Chemical Ecology*, 29, 1289-1305.

- **Sayyad, F., & Sakhare, S. S. (2018).** Isolation, characterization and evaluation of *Ocimum basilicum* seed mucilage for tableting performance. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 80(2), 282-290.
- **Sepúlveda, E., Sáenz, C., Aliaga, E., & Aceituno, C. (2007).** Extraction and characterization of mucilage in *Opuntia* spp. *Journal of arid environments*, 68(4), 534-545.
- **Silva, S. H., Neves, I. C. O., Oliveira, N. L., de Oliveira, A. C. F., Lago, A. M. T., de Oliveira Giarola, T. M., & de Resende, J. V. (2019).** Extraction processes and characterization of the mucilage obtained from green fruits of *Pereskia aculeata* Miller. *Industrial crops and products*, 140, 111716.
- **Schlienger, J.-L. (2014).** Diabète et phytothérapie: les faits. *Médecine des maladies Métaboliques*, 8(1), 101-106.

### T

- **Tan HF, Gan CY.** Polysaccharide with antioxidant,  $\alpha$ -amylase inhibitory and ACE inhibitory activities from *Momordica charantia*. *International journal of biological macromolecules*. 2016; 85: 487-496.
- **Tenenbaum, M., Bonnefond, A., Froguel, P., & Abderrahmani, A. (2018).** Physiopathologie du diabète. *Revue francophone des laboratoires*, 2018(502), 26-32.
- **Tenoutasse, S., Mouraux, T., & Dorchy, H. (2010).** L'acidocétose diabétique: diagnostic, prise en charge, prévention. *Rev Med Brux*, 31, 71-76.
- **Tiwari, S., Srivastava, R., Singh, C., Shukla, K., Singh, R., Singh, P., Singh, R., Singh, N., & Sharma, R. (2015).** Amylases: an overview with special reference to alpha amylase. *J Global Biosci*, 4(1), 1886-1901.
- **Tomasik, P., & Horton, D. (2012).** Enzymatic conversions of starch. *Advances in carbohydrate chemistry and biochemistry*, 68, 59-436.
- **Tosif, M. M., Najda, A., Bains, A., Kaushik, R., Dhull, S. B., Chawla, P., & Walasek-Janusz, M. (2021).** A comprehensive review on plant-derived mucilage: Characterization, functional properties, applications, and its utilization for nanocarrier fabrication. *Polymers*, 13(7), 1066.
- **Tounsia, A. (2015).** *Caractérisation physico-chimique du fruit de l'arbousier (Arbutus unedo L.) du nord Algérien et de la datte (Phoenix dactylifera L.) du nord Algérien et de la datte (Phoenix dactylifera L.) Boumerdès*.

## Références bibliographiques

---

- **Tsai, A. Y.-L., McGee, R., Dean, G. H., Haughn, G. W., & Sawa, S. (2021).** Seed mucilage: biological functions and potential applications in biotechnology. *Plant and Cell Physiology*, 62(12), 1847-1857.
- **Thalapaneni, N. R., Chidambaram, K. A., Ellappan, T., Sabapathi, M. L., & Mandal, S. C. (2008).** Inhibition of carbohydrate digestive enzymes by *Talinum portulacifolium* (Forssk) leaf extract. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 5(1).  
Worthington, C. (1988). Worthington enzyme manual: Alpha amylase. *Enzymes, and related biochemicals*, 38-42.
- **Tedjani, A., Boual, Z., El Hadj, M. D. O., Lanez, T., Belkhalifa, H., El Alaoui-Talibi, Z., El Modafar, C., Abdelkafi, S., Fendri, I., & Le Cerf, D. (2023).** Antidiabetic potential of mucilage fraction extracted from *Astragalus gyzensis* seeds. *European Journal of Biological Research*, 13(1), 18-30.

### V

- **Vambergue, A. (2010).** Le diabète gestationnel. *Diabetes&Metabolism (en anglais)*, 36(6), 511-700.

### W

- **Wahid, N., Faïda, R., Aabdousse, J., Boulli, A., & Bouda, S. (2019).** Ethnobotanical uses and distribution status of *Arbutus* (*Arbutus unedo* L.) in Morocco. *Ethnobotany Research and Applications*, 18, 1-12.
- **Wens, J., Sunaert, P., Nobels, F., Feyen, L., Van Crombruggen, P., Bastiaens, H., & Van Royen, P. (2007).** Diabète sucré de type 2. *Recommandations de bonne pratique* (2005/02).
- **Worthington, C. (1988).** Worthington enzyme manual: Alpha amylase. *Enzymes, and related biochemicals*, 38-42.

### Y

## Références bibliographiques

---

- **Yadav, H., & Maiti, S. (2020).** Research progress in galactomannan-based nanomaterials: Synthesis and application. *International Journal of Biological Macromolecules*, 163, 2113-2126.
- **Youmbai, S., & Sahraoui, A. (2021).** Etude de l'activité antidiabétique et amarrage moléculaire de quelques dérivés ferrocénylméthyl-bases nucléiques comme nouveaux inhibiteurs d' $\alpha$ -amylase.

### Z

- **Zhang, Q., Han, Y., & Xiao, H. (2017).** Microbial  $\alpha$ -amylase: a biomolecular overview. *Process biochemistry*, 53, 88-101.
- **Zhao, H., Mikkonen, K. S., Kilpeläinen, P. O., & Lehtonen, M. I. (2020).** Spruce galactoglucomannan-stabilized emulsions enhance bioaccessibility of bioactive compounds. *Foods*, 9(5), 672.
- **Zhang, J., Zheng, Y., Huang, L., & He, J. (2023).** Research Progress on Mesenchymal Stem Cells for the Treatment of Diabetes and Its Complications. *International Journal of Endocrinology*, 2023.

### Webographie

(<http://www.jardin-ecologique.fr>).

(<https://jardinage.lemonde.fr/dossier-248-arbousier-arbutus-unedo.html>).