

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



Université Abderrahmane Mira de Bejaia
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-chimique

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : biologie

Option : Biochimie appliquée

Thème

Évaluation *in vitro* de l'activité anti -amylase et antilipase
de l'extrait d'*Orignum glandulosum Desf*

Représenté par :

M^{elle} : Maza Chaffiâa

Membre de jury:

Présidente : Dr KHETTAL B.

Promoter: M^r BASLI A.K.

Examineurs: M^{elle} ADRAR. S

M^r TACHERFIOUT M.

Grade lieu :

M.C.A (UAMB)

M.A.A (UAMB)

M.A.B (UAMB)

M.A.A (UAMB)

Année: 2013/2014



Remerciements

Au terme de ce travail, je tiens à exprimer mes remerciements les plus sincères et les plus profonds tout d'abord au bon dieu le tout puissant de m'avoir accordé santé, courage volonté et surtout patience pour accomplir ce modeste travail.

A M^R. BASLI. A, m'ont guide par excellence, qui a accepté de m'encadrer, je vous remercie pour tous vos conseils et remarques qui m'a permis de mener à bien ce travail.

Je tiens également à exprimer m'ont sincère remerciement à la présidente de jury Dr KHETTAL BACHRA pour m'ont avoir consacré de son temps en m'ont faisant l'honneur d'accepter de présider le jury.

Je remercie également les examinateurs M^r TACHARFIOU.T.M et M^{elle} ADRARS pour m'ont avoir fait l'honneur d'examiner m'ont travail.

Sans oublier l'ensemble des enseignants ayant Contribué à notre formation durant notre cycle d'étude.

Notre gratitude et considération s'adresse également à toute l'équipe de laboratoire d'enzymologie de D^R Khettal.B et toute les techniciennes.

Tous ceux qui ont contribués de près ou de loin à ma famille pour la réalisation de mon travail.

Enfin mes remerciements s'adressent plus particulièrement à ma familles et à mes amis qui ont su m'ont soutenir, m'ont encouragé, m'ont aidé tous au long des années d'études.

CHAFFIAA



Dédicaces



*Je dédie ce travail qui n'aurait pu aboutir et avoir la lumière sans
l'aide du bon Dieu le tout puissant.*

*Rien n'est aussi beau à offrir que le fruit d'un labeur qu'on dédie du fond du cœur à ceux
qu'on aime et qu'on remercie en exprimant la gratitude et la reconnaissance durant toute
notre existence.*

*A mes très chers parents qui ont toujours été là pour moi, et qui m'ont donné un magnifique
modèle de labeur et de persévérance. Qui ont sacrifiés leur vie pour moi, J'espère qu'ils
trouveront dans ce travail toute ma reconnaissance et tout mon amour et je suis très fière
de les avoir et tous les mots du monde ne peuvent exprimé le respect que je leur porte.*

A mes chers frères ma joie et ma fierté : Lyes, Nacir, farid, Aziz, Mehamed.

*A tous mes cousins et toutes mes cousines sans oublier personne est surtout : Mustapha,
Karima*

A mes tantes et à mes oncles.

A mes meilleures amies et toute la promotion biochimie appliquée

A tous ceux qui me sont chère.

Sans oublier mon promoteur M^R BASLIA

M. CHAFFIAA

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction..... 1

Synthèse bibliographique

Chapitre I: Généralités sur l'origan

I. Généralités sur l'origan.....	3
I.1.Historique.....	3
I.2.Présentation et description botanique	3
I.3.Classification botanique.....	4
I.4.Composition chimique	5
I.4.1. Les huiles essentielles	5
I.4.2.Les polyphénols totaux	5
I.4.3. Les flavonoïdes	7
I.5.Domaine d'application de l'origan	8

Chapitre II : Généralités sur le diabète

II .Diabète.....	9
II.1. Définition du diabète	9
II.2. Classification du diabète.....	9
II.2.1. Diabète de type 1	9
II.2.2. Diabète de type2	9
II.2.3. Autre type de diabètes	10
II.3. Physiopathologie	10
II.4. Complications de diabète	11
II.5. Traitement du diabète	11
II.5.1. Traitement du diabète de type 1	11
II.5.2. Traitement du diabète de type 2	12
II.5.2.1. Inhibiteurs l' -glucosidase	12
II.5.2.2. Sulfamides hypoglycémiants ou Sulfonylurées.....	12
II.5.2.3. Biguanides (Méthformine)	12
II.5.2.4. Les glinides (répaglinide)	13
II.5.2.5. Inhibiteurs de la DPP-4 et analogue du GLP -1	13

II.5.2.6. L'insuline 13

Partie expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes

I.1. Matériel végétal 15

I.1.1. Collection de l'échantillon 15

I.1.2.Séchage et broyage 15

II. Méthodes 15

II.1. Extraction des polyphénols..... 15

II.1.1. Macération 15

II.1.2. Délipidation 16

II.1.3.Fractionnement des polyphénols 16

II.2. Dosage phytochimique 18

II.2.1. Dosage des phénols totaux 18

II.2.2. Dosage des flavonoïdes 19

II.3. Caractérisation phytochimique des composés phénoliques.....20

II.3.1. Séparation par chromatographie sur couches minces (CCM) 20

II.3.2. Séparation par Chromatographie liquide à haute performance (HPLC) 20

II.4. Evaluation de l'activité antidiabétique21

II.4.1. Test d'inhibition par l'alpha- amylase.....21

II.5. Evaluation de l'activité antilipase..... 22

II.5.1. Test d'inhibition de la lipase 22

Chapitre II : Résultats et discussion

I. Analyse phytochimique 24

I.1.Dosage des composés phénoliques24

I.1.1.Polyphénols totaux..... 24

I.2.Teneur en flavonoïdes..... 25

II- Caractérisation phytochimique..... 26

II .1. Analyse par CCM 26

II. 2.Analyse des composés phénoliques sur HPLC..... 26

III. Evaluation des activités inhibitrices *Origanum glandulosum* 28

III.1. Pouvoir inhibiteur de l' α -amylase 8

III.2. Pouvoir inhibiteur de la lipase.....29

Conclusion et perspectives31

Références bibliographiques

Annexes

Glossaires

Liste d'abréviation

- % : Pourcentage.
- Abs : Absorbance.
- CCM: Chromatographie sur couche mince.
- CNTL : Control.
- DMSO:Dimethylsulfoxyde.
- DPP-4 : Di-peptidyl peptidase de type 4.
- EAG : Equivalent Acide Gallique.
- EC : Equivalent Catéchine .
- EIOAC : Acétate d'éthyle .
- EQ : Equivalent Quercétine.
- ES: Extrait sec.
- GLP-1 : Guceose -Like Peptide -1
- GLUT : Glucose transporter
- H₃PW₁₂O₄₀ : Acide phosphomolybdique.
- H₃PW₁₂O₄₀ : Acide phosphotungestique.
- HPLC: High Performance Liquid Chromatography.
- IC₅₀: Concentration inhibitrice à 50%.
- IDF : International Diabètes Fédération
- IMC : Indice de masse corporelle.
- MeOH : Méthanol.
- MODY : Maturity –Onset Diabètes of the Yong
- MS : Matière sèche.
- Na⁺ : Ion de sodium
- OMS : Organisation Mondiale de la santé
- pNPG : Para-nitrophenyl - D-glucopyranoside
- SGLT : Sodium/ Glucose Transporteur
- TFA :Acide trifluoroacétique.
- TG : Triglycéride.
- T_R : Temps de rétention .
- Ul : Microlitre
- UV : Ultraviolet.

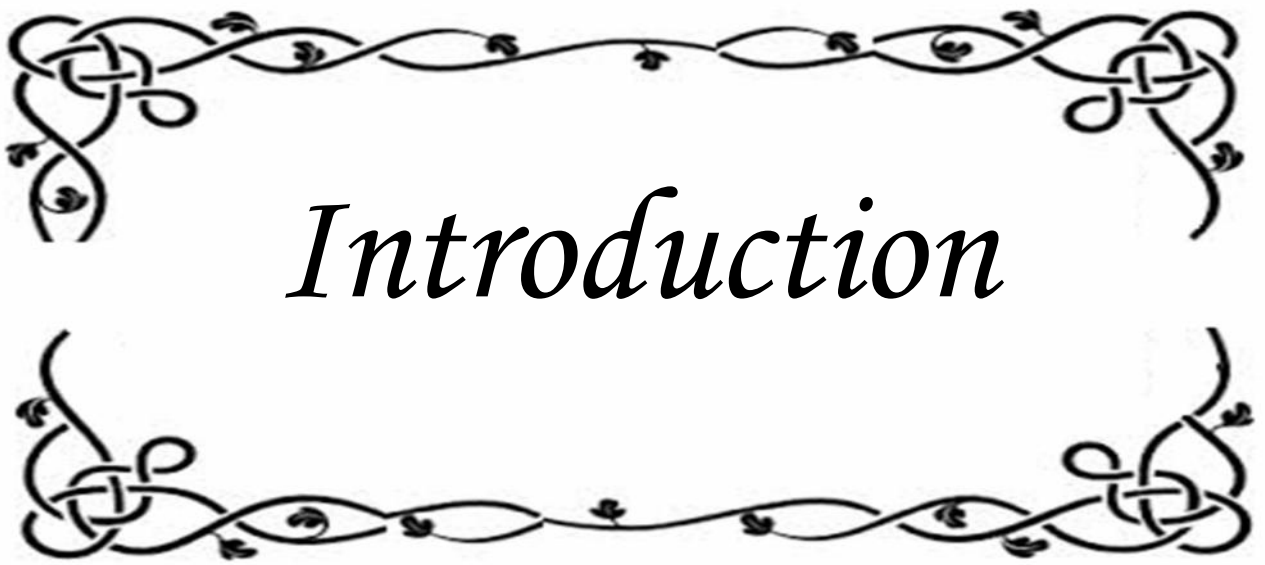
- V/V: Rapport volume par volume.
- VLDL: Very low density lipoprotein.
- W_8O_{23} : Oxyde de tungstène.

Liste des figures

N°	Titre	Page
01	Photographie de l' <i>Origanum glandulosum</i> Desf	4
02	Quelque principaux flavonoïdes présents dans le genre <i>Origanum</i>	7
03	structure des proanthocyanidines	8
04	L'action anti- hyperglycémiant de des antidiabétiques oraux	14
05	Protocole d'extraction des polyphénols à partir du l' <i>Origanum glandulosum</i> .	17
06	schéma représentatif du protocole du dosage des fractions flavonoïdiques	19
07	Teneur en flavonoïdes d' <i>Origanum glandulosum</i> Desf.	25
8	Image vue sous loupe UV de la migration des extraits méthanolique et acétate d'éthyle des polyphénols sur CCM .	26
9	Profil chromatographique de l'extrait d'acétate d'éthyle d' <i>Origanum glandulosum</i> .	27
10	Evaluation de pouvoir inhibiteur de l'activité de -amylase en fonction des concentrations d'extrait d'acétate d'éthyle de l' <i>Origanum glandulosum</i> .	28
11	Evaluation du pouvoir inhibiteur de l'activité de la lipase en fonction des concentrations d'extraits acétate d'éthyle d' <i>Origanum glandulosum</i> .	30

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
I	La classification botanique d' <i>Origanum glandulosum</i> .	4
II	Principaux acide phénoliques présents dans <i>Origanum glandulosum</i> .	6
III	Teneur des principaux flavonoïdes présents dans le genre <i>Origanum</i> .	7
IV	Gradient de solvant utilisé pour l'analyse de l'extrait EtOAc en HPLC semi-préparative. Solvant A : eau à 0,1% TFA, solvant B : acétonitrile 0,1% TFA (acide trifluoroacétique).	21
V	Type des polyphénols extrait par l'acétate d'éthyle	27
VI	récapitulation des valeurs d'IC ₅₀ et des % d'inhibition de l'activité de - amylase par l'extrait d'acétate d'éthyle.	29



Introduction

Le diabète est un groupe de maladies métaboliques caractérisées par la présence d'une hyperglycémie chronique. De cette dernière, résultent des complications organiques causant, à long terme, des dommages pathologiques pour l'organisme (**Orban, 2007**). Cette maladie menace d'une manière croissante, la santé publique dans le monde. Selon l'OMS(2013) ,347 millions de personnes, dans la population mondiale, sont diabétique d'après l>IDF(2010), ce chiffre peut atteindre jusqu' à 438 millions en2030.

Le traitement actuel du diabète (hypoglycémiant oraux, insuline) est efficace dans la baisse de la glycémie, cependant l'obtention d'une valeur homéostatique permanente de celle-ci est très difficile à atteindre dans la plupart des cas. Malgré tous les progrès de la recherche en pharmacologie, le médicament antidiabétique idéal n'a pas été découvert, laissant le champ ouvert à de nouvelles découvertes qui pourraient peut-être stopper cette épidémie mondiale (**Kinne et Castaneda, 2011**).

Plusieurs recherches s'orientent vers les plantes médicinales considérées comme source énorme de multiples substances thérapeutique douées d'activités antidiabétique. Plus de 1200 plantes différentes ont été décrites comme un traitement traditionnel du diabète (**Nacz et Shahidi, 2004**).

Les composés phénoliques sont dotés d'un pouvoir antioxydant puissant et de ce fait ils sont reconnus d'avoir de nombreuses activités thérapeutiques (antioxydante, anti-inflammatoire, antibactérienne et anticancérogène) (**Dave oomah, 2003**).

Actuellement, les composés phénoliques font l'objet de nombreuses études biologiques, et plusieurs composés actifs ont été caractérisés tels que, les polyphénols acides, les flavonoïdes, les tanins, ... ect (**Kim et al., 2002**).

C'est dans ce contexte, que notre étude s'inscrit, et qui fait l'objet de l'évaluation de l'activité anti -amylase et antilipase de l'extrait d'acétate d'éthyle à partir d'*Origanum glandulosum*.

Notre travail a été divisé en deux parties :

Introduction

Dans la première partie, une synthèse bibliographique portant sur des généralités des composés phénoliques, une description ethnobotanique de la plante et enfin les activités biologiques à l'égard du diabète et l'obésité.

Dans la deuxième partie, nous avons décrit le matériel végétal et la méthodologie utilisée pour ce travail. Les résultats ont été exprimés et interprétés par rapport à la littérature.

Enfin, le manuscrit se terminera par une conclusion générale qui permettra de dégager quelques perspectives de prolongement à ce travail.




Synthèse bibliographique





Généralités sur

l'origan

A decorative flourish consisting of a horizontal line with a repeating wave pattern, accented with small floral motifs. The ends of the line are curled into intricate knot-like designs.

I. Généralités sur l'origan

I.1. Historique

Le nom «*Origanum* » vient du grec « Oros »= montagne, et « Ganos »= joie, l'origan est donc considéré comme la joie ou l'ornement des montagnes. Les égyptiens se servaient de l'origan pour embaumer leurs morts et apaiser les dieux, tandis que les anciens grecs, dans leur croyance tiennent la plante comme un symbole de joie et couronnent les jeunes mariés avec des sommités fleuries d'origan ; durant le moyen âge en Pologne, l'origan était considéré comme protecteur contre les maladies et la sorcellerie (Eberhard et al., 2005).

I.2. Présentation et description botanique

Le genre *Origanum* est une plante frutescente appartenant à la famille des lamiacées qui comporte environ 38 espèces, répandues dans les régions méditerranéennes, Euro Sibérienne et d'Irano Sibérienne. Plus 75%, d'*Origanum* se trouve autour des régions de l'est-méditerranéen (Sahin et al., 2004).

L'*Origanum glandulosum* Desf, est une plante spontanée endémique, se développant en Afrique du Nord (l'Algérie et la Tunisie), c'est un arbuste aromatique ordinairement appelé « Zaâter » (Bendahou et al., 2008). Selon Quezel et Sanata, (1963), l'origan est une plante herbacée, ou sous ligneuse à la base, à tige toutes dressée épis denses ; à fleurs restant contiguës après la floraison. La corolle de couleur blanchâtre à lèvre inférieure bien plus longue que la lèvre supérieure calice non bilabié à 5 dents subégales, avec un épi linéaire glabre ou faiblement pubescent.

En Algérie, il existe 3 espèces d'origan :

- *Origanum majorana* L.,
- *Origanum glandulosum* Desf .,
- *Origanum floribundum* Munby (Quezel et Sanata, 1963).

❖ *Origanum glandulosum* Desf.

Nom botanique : *Origanum glandulosum* Desf .

Noms locaux

- en Arabe et en Kabyle :

- en Français : origan
- en Anglais : oregano



Figure 01: Photographie de l'*Origanum glandulosum* Desf (Anonyme, 2009).

I.3. Classification botanique

La classification botanique d'*Origanum glandulosum* Desf est présentée dans le tableau I.

Tableau I : La classification botanique d'*Origanum glandulosum* (Guignard, 2001).

Règne	Végétal
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédone
Sous classe	Astériidae
Ordre	Lamiales
Familles	Labiées
Genre	<i>Origanum</i>
Espèce	<i>Origanum glandulosum</i> Desf.

I.4.Composition chimique

I.4.1. Les huiles essentielles

Depuis l'antiquité, les huiles essentielles sont connues pour leurs propriétés antiseptiques assez importantes. Selon **Bakkali et al.(2008)**, elles sont utilisées dans divers domaines :

- Pharmacologique : agents antimicrobiens, analgésiques sédatifs, anti-inflammatoires, spasmolytique (**Bendahou et al., 2008**).
- Cosmétique : déodorants
- Agro-alimentaire : agents d'emballages, conservateurs de nourriture (**Bendahou et al., 2008**).

L'importante activité de l'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* Desf est due à sa richesse en phénols (carvacrol et tymol.....) (**Bendahou et al., 2008**).

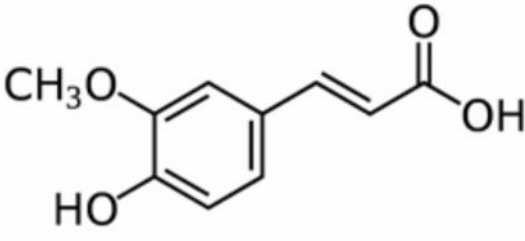
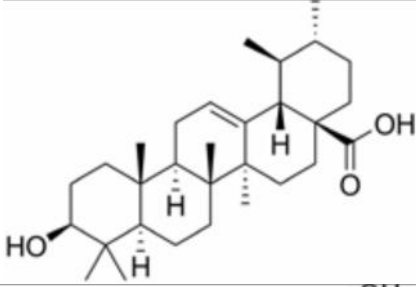
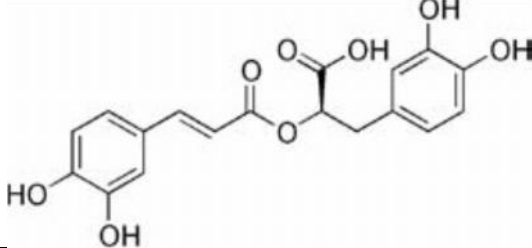
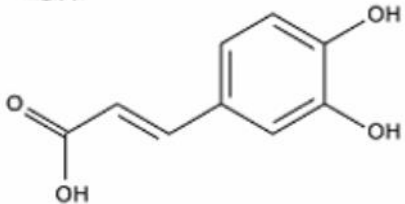
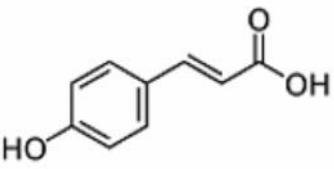
I.4.2.Les polyphénols totaux

Les polyphénols sont des métabolites secondaires très répandues dans les plantes médicinales dont leurs teneur est variable entre les différentes espèces. Ce sont des potentiels agents antimicrobiens (**Xia et al., 2010**).

L'origan est une herbe aromatique importante, riche en composés phénoliques avec une forte activité antioxydante et antibactérienne (**Sagdic et Ozkan, 2003 ; Capecka et al., 2005**).

Tableau II : Principaux acide phénoliques présents dans l'Origanum glandulosum

(Spiridon et al., 2011).

Nom	Type	Structure
Acide ferulique	Phénols acide	
Acide ursolique	Phénols acide	
Acide rosmarinique	Phénols acide	
Acide caféique	Phénols acide	
Acide p-Coumarique	Phénols acide	

I.4.3. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont un groupe de produits naturels très importants pour leurs activités médicinales et biologiques. Ce sont des agents antioxydants et antimicrobiens (**Granados – Covarrubias et Maldonado, 2009**).

Selon **Skerget et al., (2005)**, le genre *Origanum* possède des flavonoïdes avec teneurs variables à savoir la quercétine, l'apigénine et la myricétine.

Tableau III : Teneur des principaux flavonoïdes présents dans le genre *Origanum* (**Skerget et al., 2005**).

Quercétine (mg /kg)	Apigénine (mg /kg)	myricétine. (mg /kg)
219	17	21

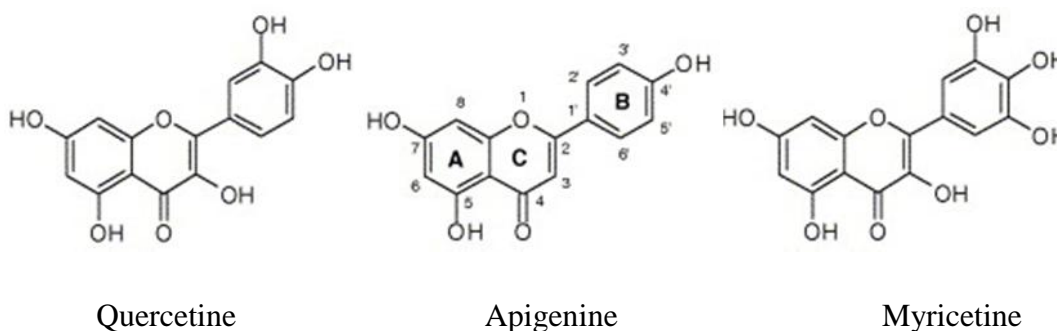


Figure 02 : Quelques principaux flavonoïdes présents dans le genre *Origanum* (**Skerget et al., 2005**).

I.4.4. Les tanins

Les tanins sont des métabolites secondaires des plantes médicinales présentant un grand intérêt médical, plus particulièrement les proanthocyanidines, en raison de leur puissant pouvoir antioxydant (**Oszmianski et al., 2007**). L'*Origanum vulgare* L. contient des tanins dont une teneur estimée à 2,53 mg / g de proanthocyanidines (**Hadi, 2004**).

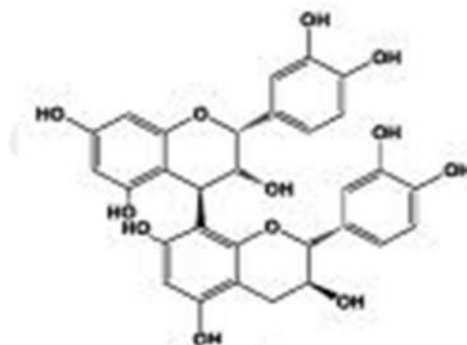


Figure 03 : structure des proanthocyanidines (Derbel et Ghedira, 2005).

I.5. Domaine d'application de l'origan

Les espèces d'*Origanum* sont largement connues comme herbe culinaire, pour assaisonner les produits alimentaires et les boissons alcooliques (Bendahou *et al.*, 2008).

L'origan est recommandé en cas de manque d'appétit, d'aérophagie, de bronchite chronique, de toux d'irritation, d'asthme, d'absence de règles, action antalgique, et parasiticide, utile contre la pédiculose, les rhumatismes et la cellulite (Dellile, 2007).

Les préparations à base d'origan sont utilisées en médecine traditionnelle pour traiter diverses maladies en tant que substance antispasmodique, antimicrobiennes, expectorantes (fluidifiant les sécrétions bronchiques), elle sont également efficaces contre les troubles digestifs et les problèmes menstruels (Sahin *et al.*, 2004). L'origan est un antitussif, aromatique, calmant et sédatif (l'origan excite d'abord, puis calme le système nerveux). Il est aussi employé la plupart du temps comme plante médicinale contre la coqueluche, toux, fièvre et bronchite (Belyagoubi, 2006 ; bendahou *et al.*, 2008).

A decorative border consisting of two horizontal lines of intricate, symmetrical floral and scrollwork patterns. The top line features a central knot-like motif on the left and right, with a series of smaller, repeating floral elements in between. The bottom line mirrors this design.

*Généralités sur
le diabète*

II. Diabète

II.1. Définition du diabète

Le diabète est défini par une hyperglycémie chronique, soit une glycémie à jeun supérieure à 1,26 g/l (7mmol/l) à deux reprises, soit une hyperglycémie supérieure à 2g/l (11,1mmol/l) à n'importe quel moment de la journée (même après un repas), il apparaît lorsque le pancréas ne produit pas suffisamment d'insuline ou que l'organisme n'utilise pas correctement l'insuline qu'il produit ou l'association des deux (**Rodier ,2001 ; Agence de la Santé et des Services Sociaux de Montréal, 2011**). La personne diabétique souffre d'une polydipsie, d'une polyphagie, d'une polyurie, d'un amaigrissement, d'une perte de poids et d'une grande lassitude. (**Scheen et al., 2010**). La fréquence du diabète continue de croître du fait notamment de l'augmentation du vieillissement de la population et des conditions de vie (alimentation et obésité). le diabète est assez fréquemment une cause de mortalité associée, surtout pour les maladies cardiovasculaires. La gravité des pathologies associées tient surtout à ses complications (**Orban , 2007**).

II.2. Classification du diabète

La classification du diabète repose sur l'étiologie et / ou la pathogénie de chaque type de diabète, parmi les type les plus fréquent ; on distingue le diabète de type1 (environ 5 à 10% de la population diabétique), et le diabète de type2 (90 à 95%).

II.2.1. Diabète de type 1

Le diabète de type1 (diabète insulino-dépendant DID ou juvénile) est une maladie majoritairement auto-immune, représente environ 10% des cas de diabète mondiaux. Il apparaît le plus souvent chez l'enfant et le jeune adulte. C'est une maladie auto-immune conduisant à une destruction sélective et progressive des cellules pancréatique, productrice de l'insuline. Le processus auto-immune des cellules débute plusieurs années (5 à10 ans voir plus) avant le début du diabète. L'évaluation de la glycémie suppose une destruction de 80 à 90% des cellules (**Grimaldi et al., 2009**).

II.2.2. Diabète de type 2

Le diabète de type 2 (non insulino-dépendant DNID) Ce type de diabète débute généralement après l'âge de 40 ans et représente 90% de l'ensemble des cas mondiaux. Est un

trouble de l'assimilation, de l'utilisation et du stockage des sucres apportés par l'alimentation. Ce diabète se caractérise par une hyperglycémie dont la symptomatologie est souvent moins bruyante que dans le diabète de type 1 (**Capeau et Hermelin, 1994**).

C'est la conséquence d'une anomalie sécrétoire de l'insuline par les cellules endocrines associée à une résistance à l'action de l'insuline. A l'opposé du diabète de type 1, il se caractérise par la découverte fortuite d'une hyperglycémie chez un adulte ayant le plus souvent un surpoids. Le diabète de type 2 est souvent associé à une hypertension artérielle essentielle et/ou à une hypertriglycéridémie. Bien qu'il soit également appelé "diabète de la maturité", le diabète de type 2 est de plus en plus fréquent chez les enfants et les jeunes adultes à cause du mode de vie actuel (manque d'exercice, nourriture trop riche) (**Grimaldi, 2009**).

II.2.3. Autre type de diabètes

Parmi les autres types de diabètes, on cite :

Le diabète gestationnel qui correspond à un trouble de la tolérance glucidique apparaissant entre la 24^{ème} et la 28^{ème} semaine de grossesse et disparaissant après l'accouchement (**Rodier, 2001**).

Le diabète MODY (Maturity-Onset Diabetes of the Young) est un diabète d'hérédité autosomale dominante. Il s'agit d'un diabète non Insulinodépendant survenant avant l'âge de 25 ans, parfois même dans l'enfance (**Jenkins et Campbell, 2004**).

II.3. Physiopathologie

La physiopathologie de diabète type 2 est complexe ; elle associe un trouble de l'insulino-sécrétion, quantitatif et qualitatif par diminution du pic de réponse précoce aux aliments en particulier au glucose. A ce, phénomène s'ajoute une insulino-résistance qui est un trouble de la sensibilité des tissus périphériques à l'insuline ; expliquant l'hyperglycémie lors de jeûne. De plus ; la carence en insuline en regard des niveaux glycémiques, est liée à des troubles de la cellule des îlots de Langerhans, qui sont aggravés par l'hyperglycémie elle-même « glucotoxicité », et par les taux élevés d'acides gras circulants « lipotoxicité ». On considère que la diminution de la masse des cellules est de l'ordre de 50%, au moment du diagnostic de diabète ou l'hyperglycémie est précédée par 10 à 20 ans d'hyperinsulinisme eu glycémique (**Halimi, 2005**).

II.4. Complications de diabète

La gravité du diabète provient essentiellement de ses complications, à long terme, qui sont sources d'handicaps, d'incapacités et d'une altération de la qualité de vie. Les complications du diabète sont de deux types : complication aiguë et chronique (microvasculaires et macrovasculaires). Le diabète de type 2 peut rester longtemps ignoré, il n'est pas rare que le diagnostic du diabète soit fait devant l'une de ces complications (**Orban, 2007**).

II.5. Traitement du diabète

Traiter un diabétique, c'est de chercher non seulement à baisser les valeurs glycémiques les maintenir normalement mais aussi à corriger les autres facteurs de risques vasculaires souvent associés. Pour atteindre ces objectifs, plusieurs thérapeutiques sont à notre disposition. Un régime alimentaire bien équilibré en glucides, en protéines et en lipides ainsi que l'exercice physique sont des composantes essentielles du traitement de diabète sucré. Encore, l'insulinothérapie occupe une place importante dans l'arsenal thérapeutique du diabète de type 1 et du diabète de type 2. Ce dernier nécessite chez la majorité des patients et surtout pendant les premiers stades, une prise en charge médicamenteuse. (**John et Gerich, 2004**).

II.5.1. Traitement du diabète de type 1

Dans le diabète de type 1, le traitement repose sur l'insulinothérapie. Il s'agit de mimer l'insulino-sécrétion physiologique à l'aide d'injections d'insuline. Les acquisitions à réaliser ne se limitent pas aux connaissances mais concernent aussi des compétences sur la gestion de l'insuline, de l'activité physique et de la composition des aliments. Grâce à cette maîtrise, le patient vivant avec un diabète de type 1 peut avoir une alimentation quasi-libre (en dehors des boissons sucrées), des horaires souples et des activités variables. Le patient doit apprendre également à prévenir et à gérer l'hypoglycémie, conséquence d'un excès relatif d'insuline. Les insulines diffèrent par leurs durées d'action ; on trouve les ultra-rapides (3 à 5 heures) et les rapides (4 à 8h) couvrant les besoins prandiaux, les intermédiaires (9 à 16h) et les ultra-lente (environ 24h) couvrant les besoins basaux (**Dorchy, 2010 ; Moret, 2010**).

II.5.2. Traitement du diabète de type 2

Les médicaments pour le contrôle strict de la glycémie permettent d'abaisser le taux de sucre dans le sang. Si l'exercice physique et le régime alimentation ne sont pas suffisants pour contrôler le niveau de glucose. Le médecin peut juger nécessaire l'utilisation des antidiabétiques oraux (ADO). Selon leur mode d'action, on peut actuellement regrouper ces médicaments en plusieurs familles (**Deshaies et al., 2011**).

II.5.2.1. Inhibiteurs l' -glucosidase

La famille des inhibiteurs des -glucosidases, compte deux représentants : l'acarbose et le miglitol. Ils inhibent de façon réversible des enzymes responsables de la dégradation des glucides complexes et, par conséquent, leur assimilation. Leur durée de digestion est ainsi augmentée. Il en découle une baisse de la glycémie à jeun et post-prandiale sans hyperinsulinémie associée. Leurs effets secondaires sont surtout digestifs et s'expliquent par l'absence de clivage des glucides complexes provoquant des troubles intestinaux, des diarrhées et des flatulences (**Cheng et Fantus, 2005**).

II.5.2.2. Sulfamides hypoglycémiants ou Sulfonylurées

Les sulfamides hypoglycémiants ou sulfonylurés constituent la famille ayant le plus de représentants parmi lesquels on cite : le glibenclamide, le glibornuride, le gliclazide, le carbutamide. Ils potentialisent l'action insulinosécrétante du glucose, d'où une stimulation de la sécrétion d'insuline par les îlots de Langerhans non contenue par le niveau glycémique d'où le risque d'hypoglycémie. Ces médicaments peuvent aussi causer une prise de poids (**Landstedt-Hallinet al., 1999; Cheng et Fantus, 2005**).

II.5.2.3. Biguanides (Méthformine)

Ce groupe de produits agit contre l'insulinorésistance. La méthformine qui fait partie de ce groupe est connue sous le nom commercial de Glucophage ou Glumetza. Elle freine la production hépatique de glucose par inhibition de la néoglucogenèse, augmente le captage musculaire du glucose par translocation des transporteurs du glucose GLUT-4 et la synthèse musculaire de glycogène et inhibe la lipolyse au niveau du tissu adipeux et la production

deVLDL (lipoprotéines de très faible densité) par le foie, ce qui réduit considérablement la résistance à l'insuline (**Kirpichnikov et al., 2002**).

II.5.2.4. Les glinides (répaglinide)

Ce sont des insulinosécréteurs plus récemment introduits sur le marché. Ils agissent plus rapidement et plus brièvement sur la sécrétion d'insuline et ciblent plus spécifiquement la phase d'hyperglycémie postprandiale. Les glinides sont actuellement représentés par une unique molécule : le répaglinide, qui est un insulinosécrétagogue oral non sulfamidé à action rapide. Le répaglinide abaisse fortement la glycémie (faible risque hypoglycémique) mais oblige à plusieurs prises quotidiennes (une avant chaque repas). En stimulant la production d'insuline par le pancréas, cet effet dépend du bon fonctionnement des cellules β (**Bolen et al., 2007**).

II.5.2.5. Inhibiteurs de la DPP-4 et analogue du GLP -1

Cette nouvelle classe comporte la sitagliptine est la vildagliptine. La sitagliptine est pour le moment la seule commercialisée. Ils agissent sur les incrétines et provoquent une diminution de la sécrétion de glucagon et l'augmentation de la sécrétion d'insuline, et diminuent la vidange gastrique. En raison du fait que le GLP1 est rapidement dégradé par une enzyme la DPP4, son action est trop courte pour qu'il puisse être utilisé à des fins thérapeutiques. Pour éviter cette difficulté, des inhibiteurs de la DPP4 sont utilisés. Les inhibiteurs hautement sélectifs réduisent la dégradation endogène de GLP1, et possédant des effets similaires au GLP1 avec moins d'effets secondaires (**Deshaies et al., 2011**).

II.5.2.6. L'insuline

Le traitement initial du diabète de type 2 ne comprend généralement pas d'insulinothérapie. Les buts de l'insulinothérapie dans le diabète de type 2 sont identiques à ceux du diabète de type 1. En cas d'échec du traitement antidiabétique oral chez le diabétique de type 2, il paraît nécessaire d'instaurer l'insulinothérapie précocement pour préserver le capital insulinosécrétoire résiduel. Il est recommandé actuellement d'utiliser des associations d'insuline et d'antidiabétiques oraux dont les mécanismes d'action diffèrent, afin d'obtenir un équilibre glycémique dans des conditions de sécurité maximale.

L'insulinothérapie définitive devient bien évidemment nécessaire en cas de contre-indication à la poursuite des antidiabétiques oraux (insuffisance rénale, hépatique...) (Agin, 2006).

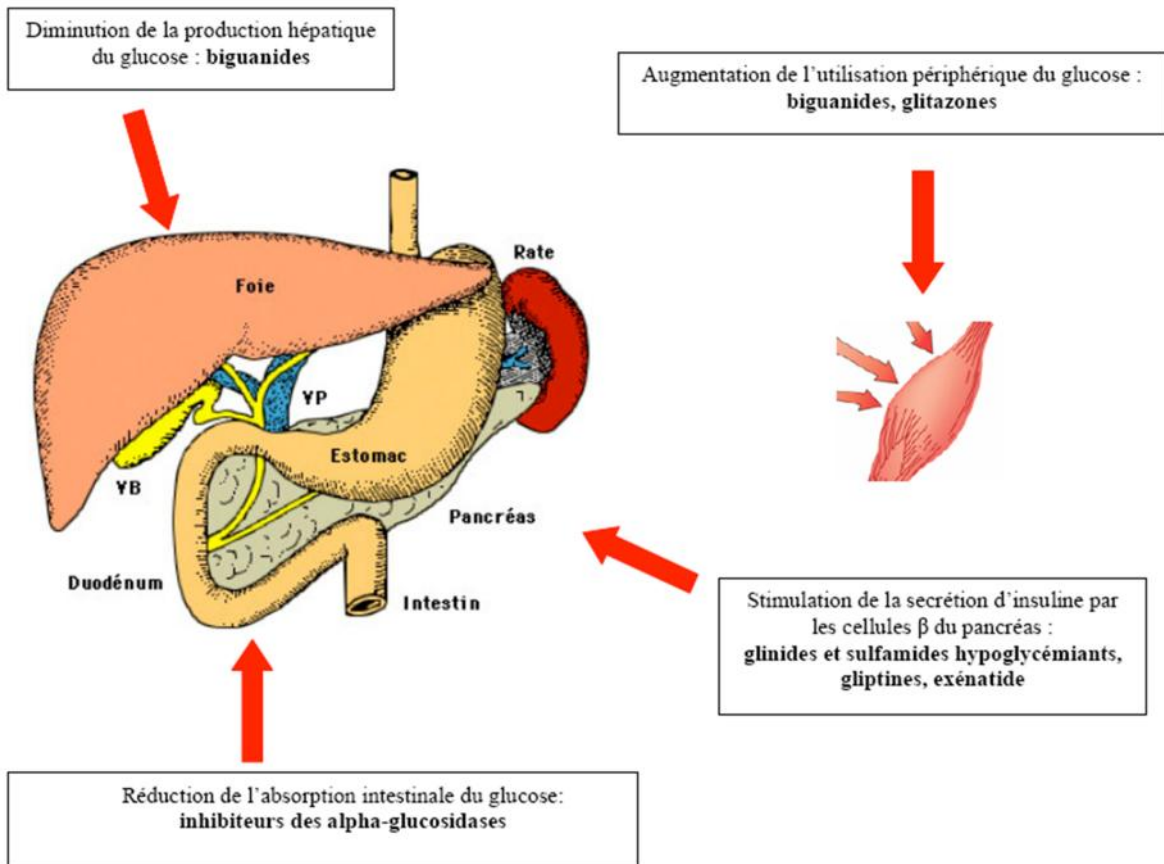
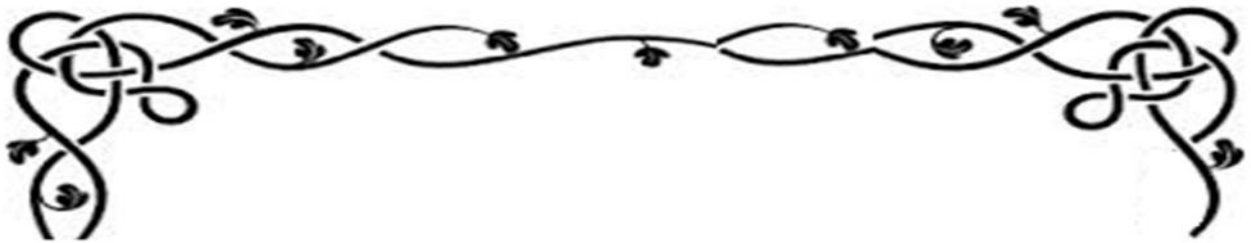


Figure 04 : L'action anti- hyperglycémiant des antidiabétique oraux (Deshaies et al., 2011).



Partie expérimentale





Matériel

et méthodes

A decorative horizontal flourish consisting of a central wavy line with small floral motifs, and ornate, symmetrical scrollwork at each end.

I.1. Matériel végétal

I.1.1. Collection de l'échantillon

L'échantillon d'*Origanum glandulosum* Desf utilisé dans ce travail, provient d'une région de la commune d'Adekar, wilaya de Bejaia .La récolte a été faite pendant la floraison en mois d'avril 2014.

Les feuilles de l'origan prélevé dans des endroits propres loin de la pollution, ont subi une série de traitements en vue de réaliser l'extraction et le dosage des polyphénols totaux ainsi que l'évaluation de l'activité anti -amylase et l'activité antilipase. Le travail a été réalisé dans le laboratoire d'enzymologie, université A. Mira de Bejaia.

I.1.2. Séchage et broyage

Les feuilles d'*Origanum glandulosum* Desf. Sont nettoyées et débarrassées de la poussière et d'autres impuretés et mises à sécher à l'air libre pendant dix jours, après dans une étuve à température de 40°C, à l'abri de la lumière jusqu'à la stabilité du poids sec. (Owen et Johns, 1999). après le séchage, les échantillons séchés obtenus ont été réduits en poudre à l'aide d'un broyeur électrique (Diallo et al., 2004). La poudre ainsi obtenue a été ensuite conservée dans un récipient en verre, fermé hermétiquement et stockée à l'abri de la lumière pour des utilisations ultérieures.

II. Méthodes

II.1. Extraction des polyphénols

L'obtention d'un principe actif à partir des végétaux nécessite souvent une extraction. Dans cette étude, une extraction de type solide/liquide (par macération) a été réalisée selon la méthode de Owen et Johns (1999), avec quelques modifications. Les étapes de l'extraction sont résumées comme suit :

II.1.1. Macération

➤ Principe

La macération consiste à laisser tremper la matière végétale dans l'eau ou dans un autre solvant organique à température ambiante, sous agitation continue.

L'extraction a lieu par pénétration du solvant dans la cellule végétale, phénomène provoquant leur gonflement et la rupture des liaisons moléculaires de faible énergie. Les composés sont alors dissouts et diffusent progressivement des cellules vers le solvant (**Royer et al., 2010**).

➤ **Mode opératoire**

Plusieurs solvants organiques peuvent être utilisés pour l'extraction des composés phénoliques, tels que : méthanol, éthanol...ect. (**Owen et Jhons, 1999**).

Le méthanol est l'un des solvants qui donne meilleur rendement d'extraction (**Ribereau Gayon, 1968, Diallyon et al., 2004**).Le procédé d'extraction est réalisé comme suit :22g de la poudre est ajustée à 250 mL de méthanol. Le mélange est soumis à une agitation à l'aide d'un agitateur magnétique, durant 6 jours à température ambiante et à l'abri de la lumière, afin d'éviter les phénomènes d'oxydation. L'agitation des particules dans le solvant permet leur maintien en suspension et l'homogénéité du milieu. Après macération, les mélanges ont été filtrés à l'aide d'un papier filtre (watman n°1).Une partie de l'extrait obtenue a été utilisé pour les dosages totaux (polyphénols).0

II.1.2.Délipidation

➤ **Principe de l'ampoule à décanter :**

Utilisé pour séparer par décantation deux liquides non-miscibles. Les deux phases sont en général l'une aqueuse et l'autre organique (éther, cyclohexane, chloroforme...).

➤ **Mode opératoire :**

Une prise d'essai (extrait méthanolique) est mélangée avec l'hexane (V/V).L'opération est répétée trois fois afin d'extraire le maximum de lipides. L'ampoule ne doit pas être remplie plus qu'aux 2/3 si non l'agitation n'est plus assez efficace, reposer l'ampoule sur son support, enlever le bouchon et laisser décanter et récupérer la phase aqueuse.

II.1.3.Fractionnement des polyphénols

L'extrait méthanolique obtenu est soumis à une deuxième extraction de type liquide/liquide dans une ampoule à décanter. Cette dernière consiste au transfert sélectif de solutés présents initialement dans un solvant vers un autre solvant non miscible, et pour récupération des composés phénoliques à00 fin de pouvoir séparer les fractions de

flavonoïdes, nous avons utilisé un solvant ; l'acétate d'éthyle qui entraîne la majorité des hétérosides (pour les flavonoïdes aglycones mais surtout les monoglycosides) (Bruneton,2009).

Le séchage de l'extrait est fait à l'aide de l'appareil Rotavapor, lequel est soumis à une évaporation sous vide en utilisant une pompe à vide avec une vanne de contrôle dans un évaporateur rotatif à 40°C. La durée du séchage est de 20 mn. Les résidus secs résultants ont été ensuite congelés à -80 °C afin d'être lyophilisés.

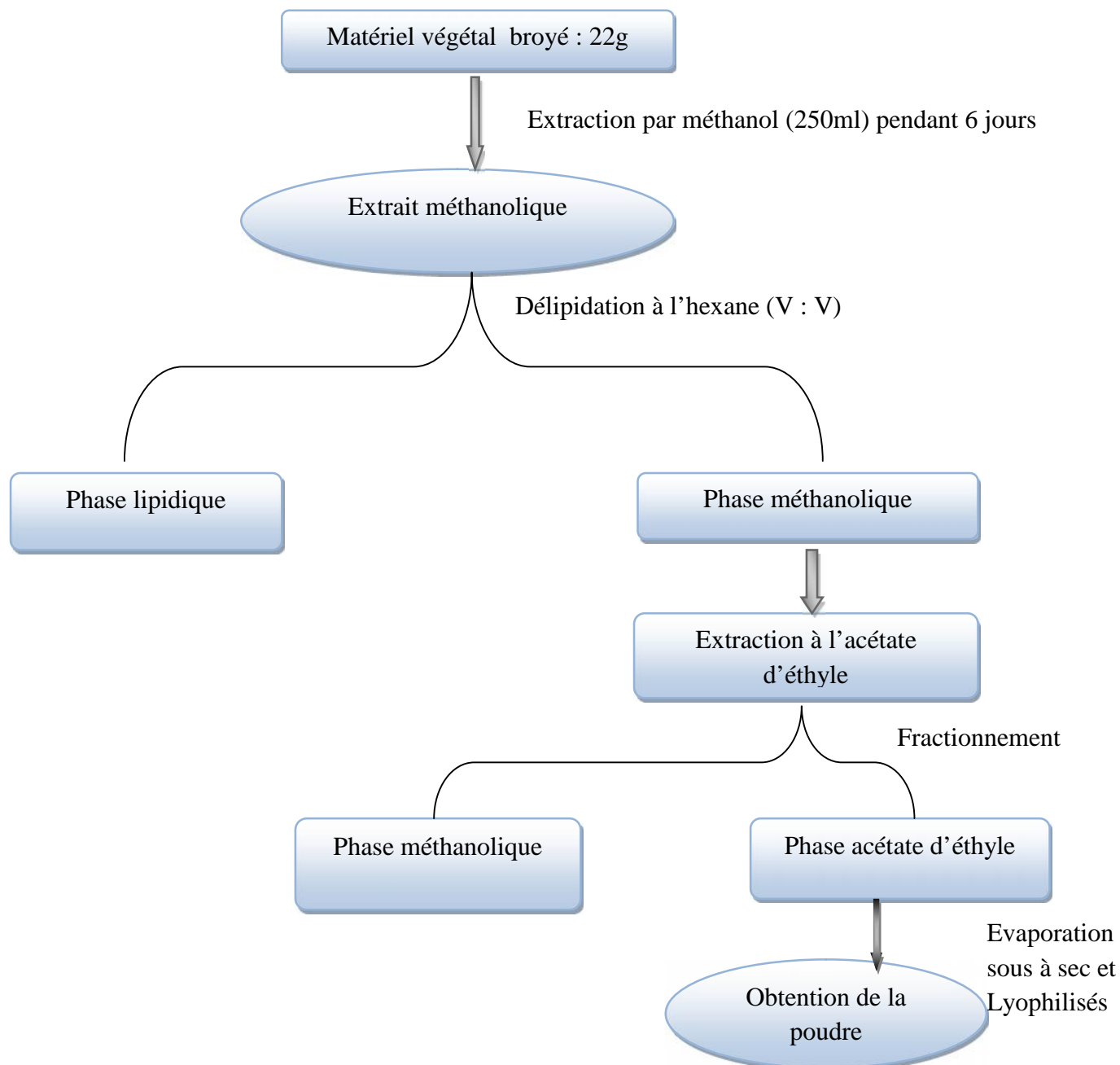


Figure 05 : Protocole d'extraction des polyphénols à partir du l'Origanum glandulosum.

II.2. Dosage phytochimique

L'objectif de ce dosage est d'estimer le contenu en polyphénols totaux (polyphénols acides et flavonoïdes) des feuilles de plante et d'évaluer leurs capacités anti -amylase. Le dosage de ces composés phénoliques est généralement réalisé par des réactions colorées (**Bruneton, 1993**).

II.2.1. Dosage des phénols totaux

➤ **Principe**

La quantification des composés phénoliques totaux est basée sur la réaction d'oxydoréduction. Les composés phénoliques réagissent avec le réactif de Folin Ciocalteu qui est un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$), qui sont réduits lors de l'oxydation des polyphénols en oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}), la réaction donne une coloration bleue qui est proportionnelle au taux des composés phénoliques qui est dosée par la spectrophotométrie UV-visible (**Ribereau- Gayon , 1982**).

➤ **Mode opératoire**

La teneur en polyphénols totaux dans l'extrait méthanolique de la plante a été estimée selon la méthode colorimétrique de Folin-ciocalteu. Selon la méthode décrite par **Owen et Johns, (1999)** ; 0.2mL de chaque extrait méthanolique sont additionné avec 0,5mL de Folin-ciocalteu (1N). Après 1 minutes d'agitation, 1,5 mL (7,5%) de la solution carbonate de sodium (Na_2CO_3) sont ajouté. Par la suite, les mélanges sont incubés pendant deux heures à l'obscurité afin d'éviter l'oxydation enzymatique des polyphénols (**Proestos, 2005**). Une lecture d'absorbance est effectuée au spectrophotomètre à 750 nm contre un blanc témoin.

Les concentrations en composés phénoliques totaux des extraits de plantes sont déterminées en se référant à une courbe d'étalonnage obtenue avec l'acide gallique comme standard d'étalonnage (Annexe II).

II.2.2. Dosage des flavonoïdes

➤ Principe

La méthode repose sur le principe du dosage direct par le chlorure d'aluminium. En effet, les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre en position 5, susceptible de donner en présence de chlorure d'aluminium un complexe jaunâtre par chélation de l'ion Al^{+3} .

La coloration jaune produite est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présente dans l'extrait (**Ribereau-Gayon, 1968**).

➤ Mode opératoire

Le dosage des flavonoïdes est effectué selon la méthode décrite par (**Djeridane et al., 2006**). Un volume de la solution de chlorure d'aluminium à 2 % (2mL) est additionné d'un même volume (2mL) de la solution d'extrait. L'absorbance est lue à une longueur d'onde de 430 nm, Le témoin est préparé avec la solution de chlorure d'aluminium et de méthanol. (2g de chlorure d'aluminium ont été dissouts dans 100 ml de méthanol afin de préparer la solution de chlorure d'aluminium à 2 %).

Le taux des flavonoïdes contenue dans l'extrait méthanolique de la fraction acétate d'éthyle a été évalué selon la méthode de **Djeridane et al., (2006)** décrit ci-dessous :

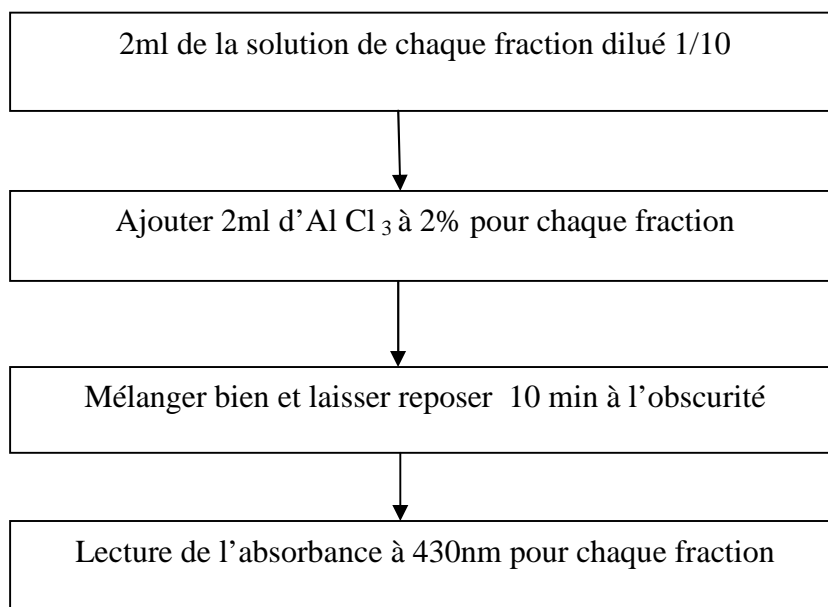


Figure 06 : schéma représentatif du protocole du dosage des fractions flavonoïdiques (**Djeridane et al., 2006**).

La concentration des fractions flavonoïdiques est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant la quercétine comme standard d'étalonnage (Annexe II)

II.3. Caractérisation phytochimique des composés phénoliques

II.3.1. Séparation par chromatographie sur couches minces (CCM)

➤ Principe

La CCM est une technique physique de séparation des constituants d'un mélange complexe par entraînement à l'aide d'une phase mobile (solvant) le long d'une phase stationnaire (gel de polyamide, gel de silice, alumine) maintenue sur une plaque en verre ou en plastique rigide, en se basant sur les phénomènes d'adsorption et de partage. La révélation se fait sous contrôle UV ou à la suite de pulvérisation de réactifs spécifiques pour les composés recherchés.

➤ Mode opératoire

Afin de pouvoir séparer les constituants que l'on peut rencontrer chez cette plante, une partie de l'extrait a été solubilisée dans le méthanol et déposée sur plaque de CCM de gel de silice. La plaque a été développée dans une cuve saturée contenant le mélange Toluène/MeOH (90 : 10, V : V).

La plaque a été révélée en UV à 365 nm, et pour mieux caractériser les taches, la plaque a été révélée par pulvérisation du réactif à la vanilline sulfurique. Les informations recueillies ont ensuite été confrontées aux données bibliographiques collectées sur la famille et le genre de cette espèce.

II.3.2. Séparation par Chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

➤ Principe

La chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) est une technique de séparation analytique que ce soit à des fins qualitatives ou quantitatives basée sur l'hydrophobicité des molécules d'un composé ou d'un mélange de composés. L'échantillon à analyser est poussé par un éluant liquide (phase mobile) dans une colonne remplie d'une phase stationnaire composée de grains solides très fins. Le débit d'éluant est assuré par une pompe à haute pression. Dans la colonne, les divers composés de l'échantillon sont séparés l'un de l'autre en raison de leurs diverses affinités à l'égard des deux phases - stationnaire et mobile.

A la sortie de la colonne les composés sont détectés à l'aide d'un détecteur (UV, IR etc.). Dans nos études, des détecteurs UV basés sur la mesure de la longueur d'onde des composés ont été utilisés.

➤ Mode opératoire

L'isolement des polyphénols de l'extrait d'acétate d'éthyle d'*Origanum glandulosum* a été effectué par chromatographie liquide à haute performance (HPLC). L'appareillage est de modèle variant, ProStar 210 couplée à un détecteur à barrette diodes (ProStar 335) avec une colonne type Variant Microsorb 100 C18 Dynamax en phase inverse de dimension 250×21,4 mm et 5 µM à température ambiante.

Le débit est de 0,6 mL/min et le volume d'injection de l'échantillon était de 5 mL. Le gradient utilisé est résumé dans le tableau V.

Tableau IV : Gradient de solvant utilisé pour l'analyse de l'extrait EtOAc en HPLC semi-préparative. Solvant A : eau à 0,1% TFA, solvant B : acétonitrile 0,1% TFA(acide trifluoroacétique).

Temps	A%	B%
0	90	10
5	90	10
10	85	15
60	78	22
62	0	100

A 65 mn, le système est maintenu linéaire pendant 10 min, puis le rééquilibrage de la colonne a été réalisé pendant 10mn.

II.4. Evaluation de l'activité anti- -amylase

II.4.1. Test d'inhibition de l'alpha- amylase

➤ Principe

L'amylase de mammifère, sécrétée par le pancréas à travers le suc pancréatique, est une enzyme dont le rôle essentiel est d'hydrolyser l'amidon alimentaire en dextrose, maltose et glucose. Cette enzyme pourrait être sécrétée aussi par les glandes salivaires.

Les inhibiteurs de l'hydrolyse des hydrates de carbone par l'amylase dans le tractus digestif retardent leur digestion et prolongent leur temps, causant une réduction dans le taux d'absorption du glucose (Megh Raj Bhandari et al, 2008), et par conséquent diminution des niveaux de glucose plasmatique et abaissement de l'hyperglycémie. (Hong Gao et al, 2008).

➤ Mode opératoire

La technique utilisée dans le cadre de ce travail est selon la méthode de (Sindhum et al., 2013) Au préalable, deux solutions ont été préparées, à savoir la solution mère d'amidon à 1 % et la solution d'amylase à 2,5 mg /mL dans le tampon phosphate 0,02 M à pH 6,9, les deux solutions sont conservées à une température de 4°C. Le mélange réactionnel contient 300 µL du tampon phosphate, 80µL de l'extraits (acétate d'éthyle) à (0,05-0,7 µg/mL) et 20 µL d'amylase. Le mélange est incubé pendant 15min, ensuite 100 µL d'amidon sont ajoutés. Enfin, la réaction enzymatique est stoppée par l'ajout de 2 mL de la solution acide acétique à 50%.

L'absorbance est enregistrée à 450 nm contre un blanc. L'activité inhibitrice calculée en termes de pourcentage d'inhibition de l'activité enzymatique est effectuée par la loi suivante :

$$\% \text{Inhibition} = \frac{\text{Abs (contrôle)} - \text{Abs (échantillon)}}{\text{Abs (contrôle)}} \times 100$$

Abs (contrôle) = absorbance de l'enzyme avec substrat

Abs (échantillon) = absorbance de l'enzyme avec substrat et l'extrait

II.5. Evaluation de l'activité antilipase

II.5.1. Test d'inhibition de la lipase

La lipase est une enzyme d'origine essentiellement pancréatique, libérée par le tractus digestif pour la digestion des graisses.

➤ Principe

La lipase hydrolyse l'huile d'olive (poly insaturé) riche en triglycérides en produit le glycérol et en acides gras principalement l'acide linoléique.

La spectrophotométrie est une méthode analytique quantitative qui consiste à mesurer l'absorbance ou la densité optique d'une substance chimique donnée en solution. Plus cette espèce est concentrée plus elle absorbe la lumière dans les limites de proportionnalités énoncées par la loi de Beer-Lambert.

➤ Mode opératoire

L'inhibition de la lipase par l'extrait acétate d'éthyle d'*Origanum glandulosum* est déterminée par la méthode d'**Oben, (2010)**. Avec quelques modifications.

Le milieu réactionnel contient 200 µL de la lipase d'*Aspergillus* dissout dans le tampon tris 0,2 M de pH = 7,7 et 800µL d'huile d'olive émulsifiée, et 200µL d'extrait (l'acétate d'éthyle) à (0,025-1 mg/mL) sont ajoutés à la préparation, le mélange est ensuite incubé à 37°C pendant 30 minutes et la lecture est effectuée à 560 nm contre un blanc dépourvu de l'enzyme.

Le pourcentage d'inhibition de l'activité enzymatique est calculé par la loi suivante :

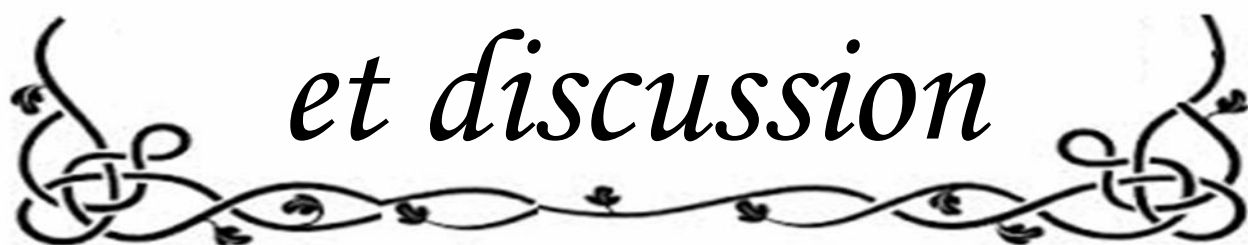
$$\% \text{Inhibition} = \frac{\text{Abs (contrôle)} - \text{Abs (échantillon)}}{\text{Abs (contrôle)}} \times 100$$

Abs (contrôle) = absorbance de l'enzyme avec substrat

Abs (échantillon) = absorbance de l'enzyme avec substrat et l'extrait

A decorative flourish consisting of a horizontal line with a repeating pattern of small, stylized floral or leaf-like motifs. The ends of the line are curled into intricate, symmetrical designs.

Résultats

A decorative flourish consisting of a horizontal line with a repeating pattern of small, stylized floral or leaf-like motifs. The ends of the line are curled into intricate, symmetrical designs.

et discussion

I. Analyse phytochimique

I.1. Dosage des composés phénoliques

L'extraction utilisée en premier lieu est de type solide-liquide, c'est -à-dire que le solvant doit franchir la barrière de l'interface solide-liquide et dissoudre le principe actif (les composés organiques) que le solide renferme à l'intérieur. La plupart des auteurs suggèrent que l'entrée du solvant se fait par un mécanisme osmotique et la sortie du soluté par diffusion (**Ribereau-Gayon, 1968**).

I.1.1. Polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux de l'extrait méthanolique est déterminée par colorimétrie, utilisant le réactif du Folin-ciocalteu. Ce dernier a comme propriété de réagir avec les fonctions phénols (**Ribereau-Gayon, 1968**).

Le résultat de dosage marque la présence de polyphénols dans l'*Origanum glandulosum* Desf avec une teneur moyenne de $(92.80 \pm 0,48 \text{ mg EAG / g de MS})$. Pour le genre *Origanum*, une étude menée par **Chun et al. (2005)**, montre que la teneur en composés phénoliques de l'extrait aqueux d'*Origanum vulgare*, est de $(52,8 \text{ mg EAG / g MS})$. Elle est légèrement supérieure, pour l'extrait éthanolique à 60% $(55.35 \text{ mg EAG / g MS})$. Ces résultats sont légèrement différents à celui obtenu pour *Origanum glandulosum* Desf dans la présente étude. Cette légère différence peut être due au solvant utilisé dans notre étude qui est le méthanol.

La teneur en polyphénols d'*Origanum glandulosum* Desf $(92.80 \text{ mg EAG / g})$ est à peu près deux fois moindre par rapport à celle obtenue pour l'extrait aqueux à 50°C d'*Origanum vulgare* de la région d'Espagne (175 mg EAG / g) (**Rodriguez- Meizoso et al., 2006**). Elle est très inférieure à celle rapportée par **Skerget et al. (2005)**, qui est de (186 mg EAG / g) pour l'extrait méthanolique d'*Origanum vulgare* de la région de Slovénie, par contre elle est supérieure à celle de l'extrait méthanolique à 80% d'*Origanum vulgare*, de la région de Pologne $(22.21 \text{ mg EAG / g})$ (**Capecka et al., 2005**). Ces différences par rapport aux résultats obtenus peuvent être expliquées selon **Golietal. (2005)**, que la teneur en polyphénols totaux dépend du solvant et la méthode utilisée. Aussi ces différences de résultats peuvent être liées à la différence des conditions climatiques, qui peuvent jouer un rôle dans la synthèse de ces composés secondaires.

I.2.Teneur en flavonoïdes

L'extraction utilisée en deuxième lieu est de type liquide/ liquide qui permet de diffuser les composés phénoliques dans un liquide.

Les flavonoïdes constituent le groupe le plus hétérogène des composés phénoliques répartis dans différentes classes, dont certains sont solubles dans les solvants polaires tandis que d'autres sont solubles dans les solvants apolaires (Macheix *et al.*, 2005).

Les teneurs en flavonoïdes d'*Origanum glandulosum* Desf sont présentées dans la figure ci-dessous.

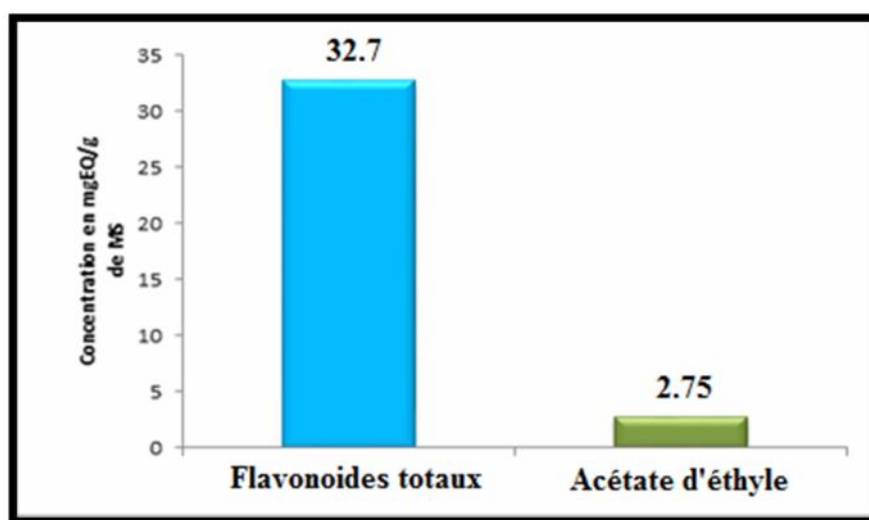


Figure 07: Teneur en flavonoïdes d'*Origanum glandulosum* Desf.

Les résultats des dosages représentés dans la figure montrent la présence des flavonoïdes dans d'*Origanum glandulosum* Desf avec des teneurs différentes en fonction des solvants utilisés.

On note que la teneur en flavonoïdes totaux est de $32.70 \pm 0,3$ supérieure à celle de la fraction acétate d'éthyle qui est de $2.75 \pm 0,47$ (exprimées par mg EQ /g de MS). Les différences trouvées en teneurs des flavonoïdes en fonction des solvants, sont probablement dues à la polarité de ces derniers et leurs capacités à extraire différents type de flavonoïdes.

En comparant ces résultats avec celles effectuées dans une espèce de la même famille que l'*Origanum glandulosum* Desf, Tsai et ses collaborateurs (2007), ont trouvé une teneur en flavonoïdes de *Rosamarinus officinalis* (60.7 mg EC / g de MS) qui est à peu près deux

fois plus grande que celle des flavonoïdes totaux d'*Origanum glandulosum* Desf (32.70±0, 3mg EQ /g deMS). Aussi la différence peut être liée au standard et au genre.

II- Caractérisation phytochimique

II .1. Analyse par CCM

Le résultat de l'analyse par chromatographie sur couche mince a montré un profil présentant une migration des composés phénoliques des extraits méthanoliques et d'acétate d'éthyle. Le comportement des taches visualisées à la lampe UV a montré plusieurs taches pour l'extrait méthanolique. Le résultat de cette étude est représenté dans la figure 10.

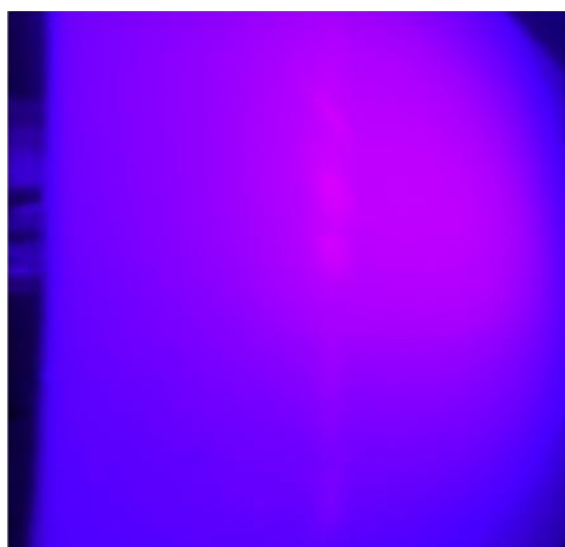


Figure 08 : Image vue sous lampe UV de la migration des extraits méthanolique et acétate d'éthyle des polyphénols sur CCM.

II. 2.Analyse des composés phénoliques sur HPLC

La séparation des composés phénoliques à partir d'extrait EtOAc d'*O.glandulosuma* été effectuée par HPLC analytique en utilisant une colonne C18 ProntoSil de phase inverse (250 mm x 20 mm, 5 granulométrie μm), protégé par une colonne de garde C18 Ultra sep (chromatographie Bischoff, Allemagne) qui nous a permis d'avoir une bonne résolution des composés selon le gradient utilisé (Figure 11). En fait, nous avons été amenés à étudier au préalable, la séparation des composés en testant plusieurs programmes de gradient qui permettent de donner le meilleur profil de séparation.

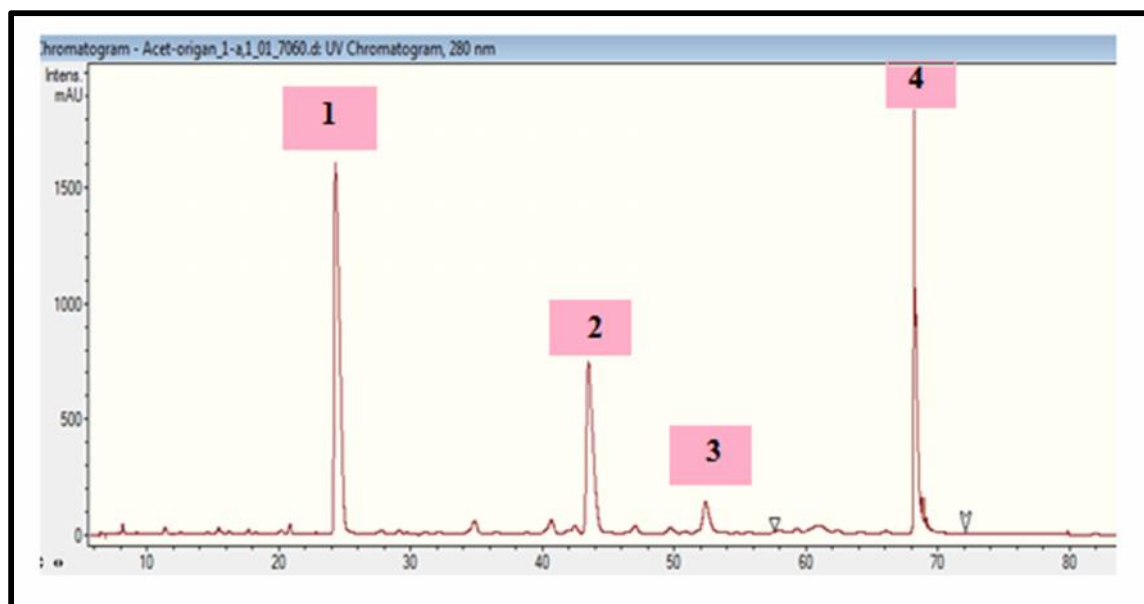


Figure 09: Profil chromatographique de l'extrait d'acétate d'éthyle d'*Origanum glandulosum*.

Tableau V: Type des polyphénols extrait par l'acétate d'éthyle

Numéro de pic	Temps de rétention (min)	Type de polyphénols
1	25	Acide Rosmarinique
2	43	Apigénine glucuronide
3	52	Ac Lithospermique B
4	69	Globoidnan B

Le profil HPLC de l'extrait acétate d'éthyle d'*O.glandulosum* obtenu a révélé la présence de quatre pics majoritaires avec des temps de rétention (T_R) différents. Ce profil a montré aussi une bonne résolution des composés en fonction du gradient utilisé. L'identification des composés séparés par HPLC a été faite sur la base des données de littérature (Basli et al., 2014). Parmi les composés obtenus, nous pouvons distinguer 2 acides phénoliques (acide rosmarinique et acide lithospermique), un flavonoïde (apigénine glucuronique) et un cyclilignane (globoidnan B).

III. Evaluation des activités inhibitrices *Origanum glandulosum*

La mise en évidence du pouvoir anti- α -amylase de l'extrait d'*Origanum glandulosum* a été réalisée par une technique de cinétique enzymatique. Très peu de travaux ont été réalisés sur l'étude des propriétés anti- α -amylase de la plante choisie *Origanum glandulosum*.

III.1. Pouvoir inhibiteur de l' α -amylase

Dans notre étude, l'activité enzymatique de l' α -amylase a été mesurée à l'aide du substrat l'amidon. Nous avons néanmoins choisi l'amidon comme substrat essentiellement pour la commodité de réaliser le dosage par les méthodes photométriques.

Dans le but de trouver un inhibiteur naturel de l' α -amylase, nous avons donc étudié l'effet de l'extrait d'acétate d'éthyle d'*Origanum glandulosum* sur son activité à des concentrations variables de l'extrait. Les mesures ont été effectuées avec l'amidon comme substrat de l'enzyme. L'influence du temps d'incubation sur l'inhibition de l'activité enzymatique par l'extrait d'acétate d'éthyle a été examinée jusqu'à 30 min.

L'ensemble des résultats obtenus à partir de l'extrait d'acétate d'éthyle de notre plante montrent qu'ils ont la capacité d'inhiber l'activité de α -amylase avec une IC_{50} équivalent à $402,44 \pm 0,2$ u /mL. Ce pouvoir inhibiteur peut être expliqué par le fait que l'extrait d'acétate d'éthyle possède des composés portant des groupements fonctionnels proches de ceux du substrat qui est l'amidon, ce qui a occupé le site actif de l'enzyme.

La figure 12: montre le pouvoir inhibiteur de α -amylase pour l'extrait d'acétate d'éthyle.

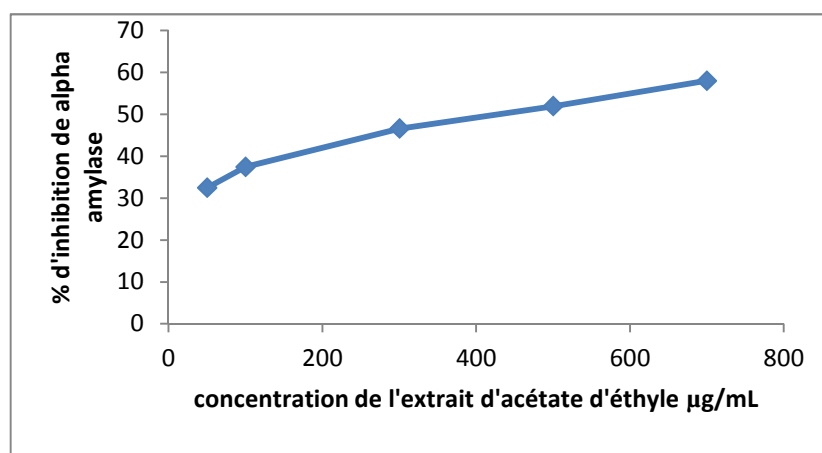


Figure10: Evaluation de pouvoir inhibiteur de l'activité de α -amylase en fonction des concentrations d'extrait d'acétate d'éthyle de l'*Origanum glandulosum*.

Ce résultat est quasiment conforme à celui obtenu par les travaux de **McCue et al. (2004)** qui ont estimé un pourcentage d'inhibition de α -amylase à 57% de l'extrait éthanolique à 50%.

Tableau VI: récapitulation des valeurs d'IC₅₀ et des % d'inhibition de l'activité de α -amylase par l'extrait d'acétate d'éthyle.

Concentration $\mu\text{g}/\text{mL}$	% d'inhibition de la α -amylase par l'extrait acétate d'éthyle	IC ₅₀ (ug/mL)
50	37,43	402,44
100	37,43	
300	46,56	
500	51,91	
700	57,97	

III.2. Pouvoir inhibiteur de la lipase

Les lipases sont des enzymes qui ont été classiquement utilisées pour l'hydrolyse des triglycérides avec la production concomitante des acides gras libres. Cependant ces enzymes montrent également l'activité catalytique vers une grande variété d'alcools et d'acides gras dans des réactions de synthèse d'ester à condition que la spécificité dans les ester et l'eau soit très basse (**Gautam, 2006**).

La recherche de l'inhibition de l'activité de la lipase a été effectuée par la méthode spectrophotométrique. Dans le cadre de ce travail, nous avons remarqué que l'extrait acétate d'éthyle utilisé a révélé des effets inhibiteurs significatifs par rapport à la lipase. Ce résultat a révélé une IC₅₀ correspondant à $77,20 \pm 0,5$ ug/mL et qui a été démontré par un taux d'inhibition qui augmente en fonction de la concentration de l'extrait utilisé.

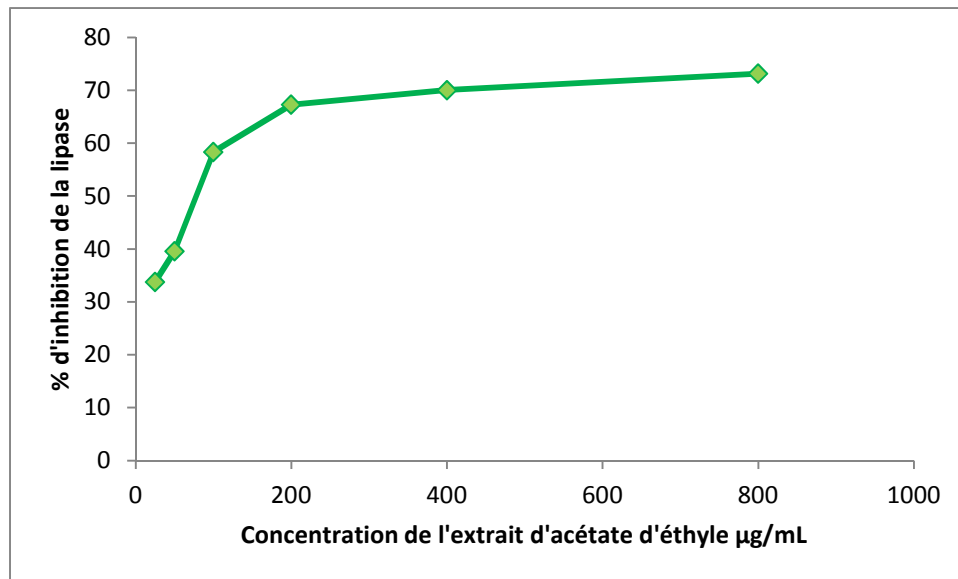


Figure 11: Evaluation du pouvoir inhibiteur de l'activité de la lipase en fonction des concentrations d'extraits d'acétate d'éthyle d'*Origanum glandulosum*.

Ce résultat de l'inhibition de la lipase sur l'*O. glandulosum* évalué à 73,15 % a été nettement supérieur à celui trouvé par (Gholamhoseinian et al., 2010), qui ont estimé un pourcentage d'inhibition équivalent à 23% sur l'espèce *Origanum majorana*. De plus, notre résultat de l'IC₅₀ égal à 77,20 ± 0,5 µg/mL est clairement inférieure à celui trouvé par Bustanji et al. (2011) qui ont signalé une inhibition de la lipase par rapport à *Origanum syriacum* L. Avec une IC₅₀ correspondant à 234 µg/mL.



Conclusion



et perspectives

L'*Origanum glandulosum* une plante endémique de l'Algérie et la Tunisie, représente une source inépuisable de composés naturels bioactifs, il s'agit des composés phénoliques et certains flavonoïdes qui sont largement utilisés en médecine traditionnelle.

En termes de cette étude sur l'extrait d'acétate d'éthyle d'*O. glandulosum* et ses activités anti- α -amylase et antilipase, nous pouvons ressortir plusieurs conclusion propre à cette plante :

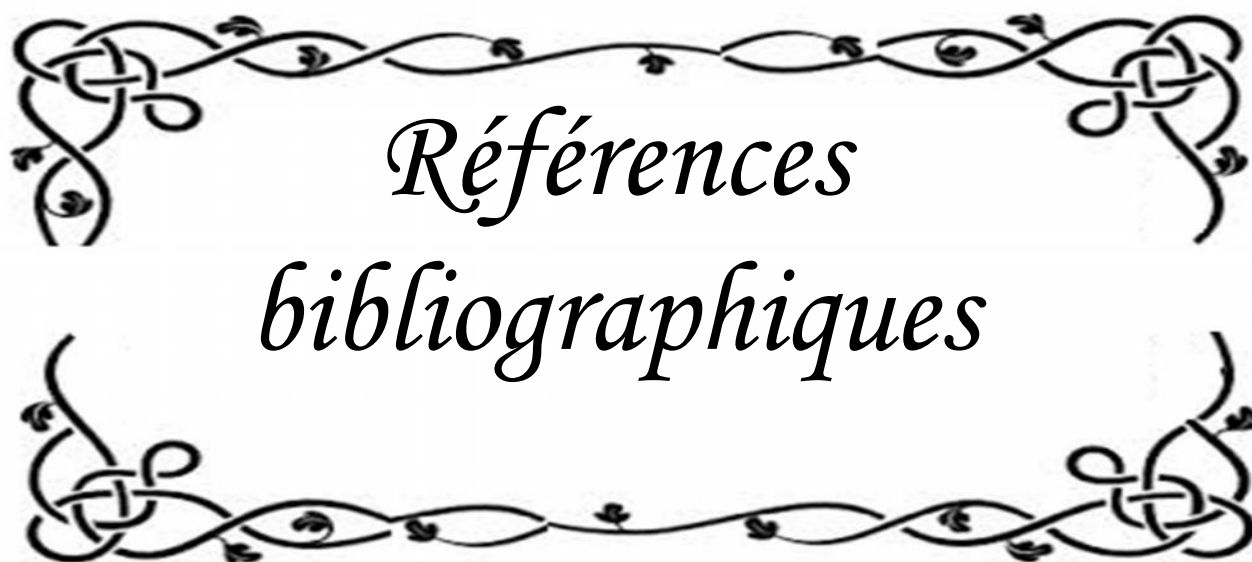
- Les résultats des différents dosages ont permis de mettre en évidence la richesse des extraits méthanolique, et acétate d'éthyle d'*Origanum glandulosum* en différentes classes de composés phénoliques (polyphénols totaux, les flavonoïdes ...), les teneurs en ces composés sont différents d'un extrait à un autre.
- Les composés phénoliques nous a permis de voir des composés majoritaires et qui sont probablement les composés ayant le potentiel antioxydant puissant qui peut expliquer leur pouvoir inhibiteur vis-à-vis l' α -amylase et la lipase.
- Le profil de HPLC affirme la richesse d'*Origanum glandulosum* en composés phenoliques tels que : acide rosmarinique et acide lithospermique, apigénine glucuronique et globoidnan B.
- A propos du test de l'inhibition de l'activité de l' α -amylase par l'extrait acétate d'éthyle d'*O. glandulosum*, le résultat obtenu nous a amené à distinguer une capacité d'inhibition de l'activité de l' α -amylase avec IC_{50} de $402,44 \pm 0,2$ ug/mL. De plus, le deuxième test de l'inhibition de l'activité par la lipase avec l'extrait acétate d'éthyle, a présenté une meilleure activité antilipase avec IC_{50} de $77,20$ ug/ mL.

L'ensemble de ces résultats a permis d'évaluer les activités anti- α -amylase et antilipase d'*Origanum glandulosum* et de sélectionner les familles des composés phénoliques d'intérêts biologiques afin de mieux connaître, de valoriser et d'utiliser ces ressources dans le domaine thérapeutique.

Conclusion et perspectives

Pour plus d'efficacité, de nombreuses perspectives peuvent être envisagées :

- Il serait intéressant de procéder à une caractérisation qualitative plus poussée, des extraits d'*Origanum glandulosum* pour la détermination des structures et des propriétés chimiques de leurs composés phénoliques.
- Elargir le panel des activités anti- -amylase et antilipase *in vivo et in vitro*, et pourquoi pas d'autres tests biologiques : anti tumorale, anticancéreuse et anti-inflammatoire.

A decorative border consisting of two horizontal lines of stylized, symmetrical floral and scrollwork patterns. The top line features a central floral motif with two large, ornate flourishes extending outwards. The bottom line is a mirror image of the top line. The text is centered between these two lines.

*Références
bibliographiques*

-A-

- **Agence de la Santé et des Services Sociaux de Montréal, (2011)** .Généralités sur le diabète. Québec.
- **Agin, A. (2006)**.Dosage des analogue de L'insuline à l'aide de deux immune dosages de l'insuline humaine. Thèse de Doctorat Université Strasbourg, 139p.
- **Anderson RA, Polansky MM.** Tea enhances insulin activity. *J Agric Food Chem.* **2002**; 50(24):7182-6.

-B-

- **Bakkali F.,Averbeck S., Averbeck D. et Idaomar M.(2008)**.Biological effects of essential oils-Areview .*Food and chemical Toxicology*.**46** : 446-475.
- **Barn fonth , C.W .(1999)**."Bee r haze "dans *journal of the American society of brewing chemist*. Vol. 57 n^o 81 - 90..
- **Basli A.,Delaunay J.C., Pedro E., Bernillon S., Madani K., Monti J.P., Mérillon J.M., Chibane M., et Richard T.(2014)**.New cycloligans from *Origanum glandulosum* Active Against pamyloide Aggrgation. *Rec.Nat.Prod.***8** (3):208-216.
- **Belyagoubi L, (2006)**. Effet de quelques essences végétales sur la croissance des moisissures des détériorations des céréales .Thèse de doctorat. P 41.
- **Bendahou M., Muselli A., Dubois M.G., Benyoucef M., Desjobert J.M., Bernandini A.F., Costa J. (2008)**. Antimicrobial activity and chemical composition of *Origanum glandulosum* Desf. Essentialoil and extract obtained by microwave extraction: comparison with hydrodistillation.*Food Chemistry***106**: 132-139.
- **Bolen S., Feldman L., Vassy J., Wilson L., Yeh H. C.(1993)**.Marinopoulos S., et al. Systematic
- **Bruneton J. (1993)**.Pharmacognosie Phytochimie Plantes médicinales. Lavoisier 2ème édition: 535-545.
- **Bruneton,(1999)**.Pharmacognosie–phytochimie, plantes médicinales ,*3^{eme} édition,Tec&Doc.Lavoisier,Paris.*
- **Bruneton, J.(2009)**.).Pharmacognosie- phytochimie, plantes médicinales, 4eme édition., revue et augmentée, *Tec & Doc- Edirtion médicales internationales, Paris, 1288P.* (ISBN 978 -2-7430 -1188 – 8).

- **Bustanji Y., Mohammad M., Hudai B. M., Tawaha K., Ihab M., Al-Masri H., AlKhatib A., Alali F. (2011).** Screening of Some Medicinal Plants for their Pancreatic Lipase Inhibitory Potential. *Jordan Journal of Pharmaceutical Sciences*. 4.

-C-

- **Capeau J, Hermelin B. (1994).** « Métabolisme des glucides et ses méthodes d'exploration chez l'homme. » *Encycl Méd Chir Endocrinol-Nutrition* ; 10-361-A-10.
- **Capecka E., Mareczek A., Leja M. (2005).** Antioxydant activity of fresh and dry herbs of omelamiaceae species. *Food chemistry*. 9:223-226.
- **Cheng AYY, Fantus I. (2005)** Oral antihyperglycemic therapy for type 2 diabetes Mellitus. *Can. Med. Assoc. J* .172: 213-226.
- **Chira k., Suh J-H., Saucier C., Teissèdre P-L. (2008).** Les polyphénols du raisin .6. 75-82.
- **Chun S.S., Vatter D.A., Lin Y.T. et Shetty K. (2005).** Phénolique antioxydants from clonal oregano (*Origanum vulgare*) with antimicrobial activity *Helicobacter pylori*. *Process Biochemistry*. 40:809-816.

-D-

- **Dave O. B. (2003).** Les plante curatives isolation ,caractérisation et l'évaluation des métabolites secondaires dérivés des plante pour utilisation dans le domaine de la santé humaine . *Bulletin IBP* , 1 : pp1-4 .
- **Delille I. (2007).** Les plante médicinales d'Algérie. Berti édition. Alger p 179.
- **Derbel et Ghedira, (2005).** Les phytonutriments et leur impact sur la santé .*In phytothérapie et nutrition*. 1 : 28-34.
- **Derosa, G & Maffioli, P. (2012).** Anti-obesity drugs: a review about their effects and their safety. *Expert Opin Drug Saf*, 11, 459-471.
- **Deshaies B., Pharm B., LL, B .(2011).** Les médicaments pour Le contrôle de la glycémie (antihyperglycémiantes). Québec. P : 1-11.
- **Deslauriers. Isabelle (2000).** Composés phénoliques et flavonoïdes des produits d'érable. Université Mc Gill, Département des sciences de l'alimentation et de chimie agricole. SAINT-HYACINTHE.
- **Diallo, D., Sanogo, R., Yasambou, H., Traoré, A., Coulibaly, R & Maiga. (2004).** Etude

des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam (Rhamnaceae). Utilisées traditionnellement dans le traitement des diabètes au Mali. *C.R.Chimie*. 7 : 1073-1080.

- **Dimitrakoudis, D., Vranic, M., and Klip, A. (1992).** Effects of hyperglycemia on glucose. Dunod .173- 201.
- **Djeridane A., Yousfi M., Nadjmi B., Boutassouna D., Stoker P. et Vidal N. (2005).** Antiooxidant activity of some Algerian medicinal plantes extracts containing phenolic compounds. *food Chemistry*, **97**:654-660.
- **Dorchy, H. (2010).** Stratégie thérapeutique dans le diabète de type 1 (insuline, alimentation, sport). *Rev Med Brux*. P : 37-51.

-E-

- **Eberhard T., Robert A., Annelise, L. (2005).** Plante aromatiques, épices, aromates, condiments et huiles essentielles. 362 -365.

-G-

- **Gautama, P. (2006).** AU-KBS RESEARCH CENTER, Anna University, Chennai.
- **Ghedira K. (2005).** Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique, **4** : 162-169 .
- **Ghestem A., Seguin E., Paris M., and Orecchioni A.M. (2001).** Le préparateur en pharmacie dossier 2ème Ed TEC&DOC. Paris. pp275. (cited in Djemai Zoueglache S, 2008).
- **Gholamhoseinian A., Shahouzehi B et Sharifi-far F. (2010).** Inhibitory Effect of Some Plant Extracts on Pancreatic Lipase. *International Journal of Pharmacology*. **6** .18-24.
- **Goli A.H Barzegar M. Et Sahari M.A. (2005).** Antioxydant activity and total phenolic compounds of pistachio (*pistachiavera*) hull extracts. *Food Chemistry*. **92**:521-525.
- **Granados –Covarrubias E.H. et Maldonado L.A. (2009).** A Wacker Cook synthesis of isoflavones : formononetin. *Tetrahedron Letters* . **50** : 1542 -1545.
- **Grimaldi A., Hartemann-Heurtier A., Halbron M., Sachon C. (2009).** Guide

pratique du diabète. Edition Masson.

- **Guignard J. L. (2001).** Botanique systématique moléculaire. Ed masson.12 :pp174-179.

-H-

- **Hadi M.(2004).** La quercétine et ses dérivés: molécules à caractères pro-oxydants ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Mémoire doctorat. Option Pharmacochimie. Université Louis Pasteur. Strasbourg.155 p.
- **Halimi, S. (2005).** Le diabète de type 2 ou diabète non insulino-dépendant(DNID). Corpus Médical.p :1-12.
- **Harborne J.B., and Williams C.A. (2000).** Advances in flavonoid research since 1992 *Phytochemistry*. **55**: 481-504.
- **Hong Gao, Yi - Na Huang, Bo Gao, Pei - Yu Xu, Chika Inagaki et Jun Kawabata. (2008).** Glucosidase inhibitory effect by the flower buds of *Tussilago farfara* L, *Journal of Food chemistry*, Pages 1195 -1201.

-I-

- **Ioannides-Demos, LL, Piccenna, L & McNeil, JJ. (2011).** Pharmacotherapies for obesity: past, current, and future therapies. *J Obes*, 2011, 179674.

-J-

- **Jenkins, A.B., Campbell, L. V. (2004).** The genetics and pathophysiology of diabetes mellitus type II. *J. Inherit. Metab. Dis.* (27), p:331-347.
- **John et Gerich, (2004).** Classification and diagnosis. National Diabetes Data, American Diabetes Association. p : 7-28.

-K-

- **Kim H.J. et Change W.K. (2002).** Dietary factors and gastric cancer in Korea : a case-control study. *Int. J. Cancer*. 97: PP é_531.
- **Kinne, R.K.H., Castaneda, F. (2011).** SGLT inhibitors as new therapeutic tools in the treatment of diabetes. *Handbook of Experimental Pharmacology*. (203), p: 105-122.

- **Kirpichnikov D., McFarlane S. I. (2002)** .Sowers J. R. Metformine: An Update. *Annals of Internal Medicine*. **137**: 25-33.

-L-

- **Landstedt-Hallin L, Englund A, Adamson U, Lins PE. (1999)**. Increased QT dispersion during hypoglycaemia in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Intern Med* September; **246**:299-307.

-M-

- **Macheix E., Hano C., Lamblin F.(2007)**. Les lignanes phytoestrogènes du lin sont des bienfaiteurs méconnus, **5** .121-128.
- **Martin S et Andriantsitohaina R. (2002)**. Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angiologie* **51**, 304-315.
- **McCue P, Vattem D, Shetty K. (2010)**. Inhibitory effect of clonal oregano extracts against porcine pancreatic amylase *Oben, J. (Journal of Natural Products)*. **3**:165-171.
- **Megh Raj Bhandari, Nilubon Jong-Anurakkn, GAO Hong, Jun Kawabata, (2008)**. Glucosidase and α - amylase inhibitory activities of Nepalese medicinal herb Pakhanbhed (*Bergenia Ciliata*, Haw.), *Journal of Food chemistry*, Pages 247 - 252.
- **Middleton E., Kandaswanic C. et Theoharides T .C.,(2000)**. The effect of plant flavonoïdes on mammalian cells implications for inflammation, Heart disease, and cancer pharmacological review. **52** : 673 -751.
- **Moret, (2010)**. Traitement du diabète de type 1. Cour DCEM2. Lyon Est. p : 2-59.

-N-

- **Naczki, M., Shahidi, F.(2004)**. Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of chromatography*. (1054), p:95-111.

-O-

- **Oben, J. (2010)**. *Journal of Natural Products*, Vol.3:165-171.
- **Orban, J. Ch., Lena, D., Bonciu, M., Grimaud, D., Ichai, C.(2007)**. Complications métaboliques aiguës du diabète. Référence médicale. P : 13-17.
- **Oszmianski J., Wojdylo A., Lamer -Zarawska E. et Swiader K. (2007)**. Antioxidant tannins from Rosaceae plant roots . *Food Chemistry* .100 : 579 –583 .

- **Owen P.L. and Johns, T., (1999).** Xanthine oxidase inhibitory activity of north eastern North American plant remedies used for gout. *J. Ethnopharmacol.* **64**: 149-160.

-P-

- **Pastor-Cavada E., Juan R., Pastor J. E., Alaiz M. et Vioque J. (2009).** Antioxidant activity of seed polyphenols in fifteen wild Lathyrus species from South Spain. *LWT- Food Science and Technology.* **42** :705-709.
- **Pinent M., Blade MC., Salvado MJ., Arola L., Hackl H., Quackenbush J.** Grape-polyphenols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angiologie.* **51**.304-315.
- **Portet B. ;(2007)** ; Recherche Bioguidée de Molécules Antipaludiques d'une Plante Guyanaise: Piper hostmannianum var. berbicense ; Thèse de Doctorat de l'Université de Toulouse; p:16- 27.

-Q-

- **Quizel P., Sania S. et Schotter O. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales tom III. Ed du centre national de la recherche scientifique. France. pp767-770 ; 819-822.

-R-

- **Ribereau-Gayon P. (1968).** Les composés phénoliques des végétaux. *Ed. Dunod, Paris* : 242
- **Richter G. (1993).** Métabolisme des végétaux. Physiologie et biochimie. Edition presses polytechniques et universitaires Romandes, C H- 1015 lansane. P :317-338.
- **Rodier, M. (2011).** Définition et classification du diabète. *Médecine Nucléaire.* (25), p : 91-93.
- **Rodriguez-Meizoso I., Marin F.R., Herrero M., Senorans F.J., Reglero G., Cifuentes A. (2006).** Subcritical water extraction of nutraceuticals with antioxidant activity from oregano. Chemical and functional characterization. *Journal of pharmaceutical and Biomedical Analysis.* **41**: 1560-1565.

- **Royer, M., Houde, R., et Stefanovic, T. (2010).** Technologies de conversion. *In potentiel de développement lié aux extractibles : état des connaissances et revue des marchés.* 118p.

-S-

- **Sagdicet Ozcan. (2003).** Antibacterial activity of turkish spice hydrosols. *food control.* 14-141-143.
- **Sahin, F., Gulluce , M. , Daferera, D., Sokmen , A., Sokmen, M., Polissiou, M.Agar, G.et Ozer, H.(2004).** Biological activities of the essential oil and Methanol extract of *Origanumvulgaressp . vulgar* in the Eastern Anatolia region of Turkey.*Food Control.* **15** :549-557.
- **Scheen A. J., Luyckx F. H. (2010).**L'hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO) revisitée: 1re partie: Tolérance au glucose, diabète gestationnel et hypoglycémie réactive. *Médecine des Maladies Métaboliques.* **4**: 569-574.
- **Skerget M., Katnik P., Hadolin M., Hros A.R., Simonic et KnezZ .(2005).** Phenols, proanthoyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidants activites. *Food chemistry.* 89:191-198.
- **Spiridon L.,Bodirlau R. , Teaca C A . (2011).**Total phenolic content and antioxidant activity of plants used in traditional Romanian herbal medicine.*Central European Journal of Biologie.***8**:388-396.

-T-

- **Tsai P.J., Tsai T.H. et Ho, S.H.(2007).**In vitro inhibitory effects of rosmary extract on growth and glycosyltransferase activity of *Streptococcus sotorinus.* *Food Chemistry.*

-X-

- **Xia E.K.Deng G.F., Guo Y.J. et Li H .B.(2010).** Biological Activities of Polyphénols from Grapes *.International Journal of Molecular Sciences.* **11** : 622-646.

References électroniques

Anonyme, 2009.....4

[http:// www.holidtica. fr /plantes / site / extrait/femme/ bourache](http://www.holidtica.fr/plantes/site/extrait/femme/bourache)



Annexes



Annexe I : matériels et produit utilisés

1. Produit chimique

Acétate d'éthyle

Amidon

Carbonate de sodium(Na_2CO_3)

Chlorure d'aluminium(AlCl_3)

DMSO

Eau distillée

HCL

L'hexane

Méthanol

Na_2HPO_4

NaCl

NaOH

Réactif Folin ciocalteu

Standards polyphenols : acide gallique, quercétine

- amylase

2. Matériels

Agitateur magnétique de marque VELR

Ampoule à décompter

Entonnoir

Erlenmeyers

Balance électronique

Balance de précision

Béchers

Broyeur électrique

Entonnoirs en verre

Etuve

Papiers filtres wattman

Tube à essais

Micropipette 200-1000 ul

Micropipette 10-100 ul

Spectrophotomètre

Cristallisoire

Béchers

Ballon

Pipettes

Spatule métallique

pH mètre

Annexe II :

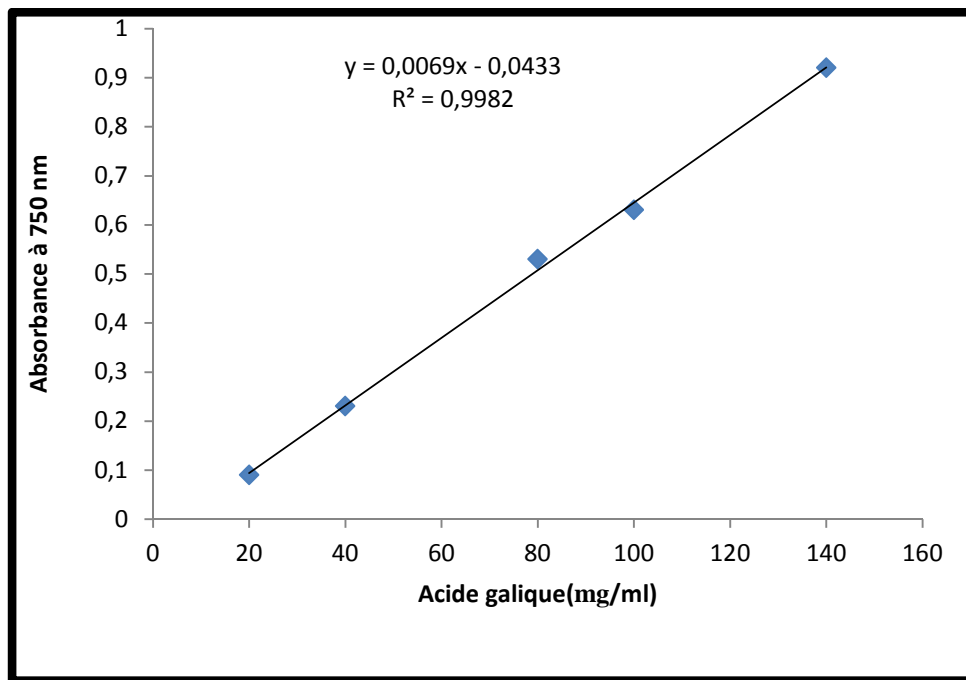


Figure 01 : Courbe d'étalonnage des polyphénols totaux.

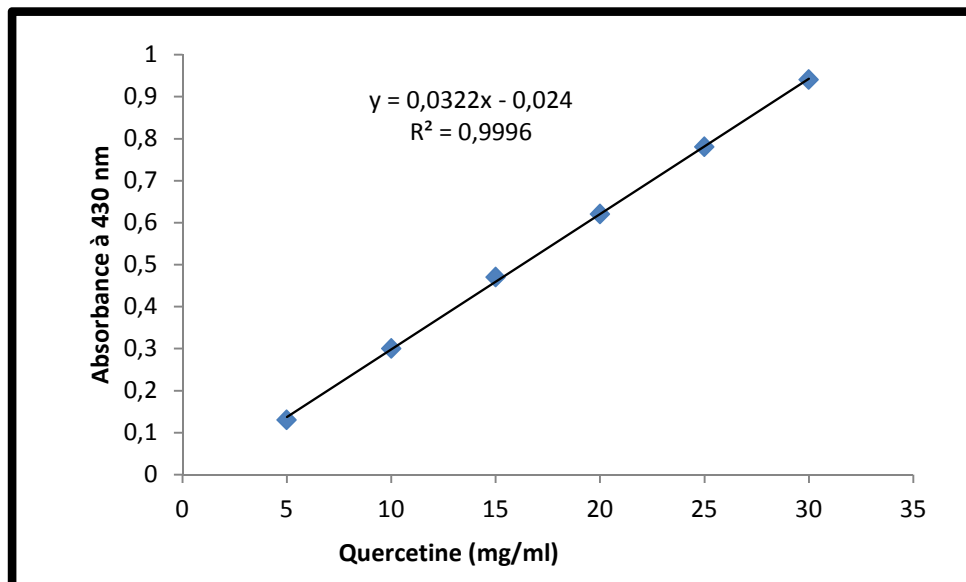


Figure02 : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes.

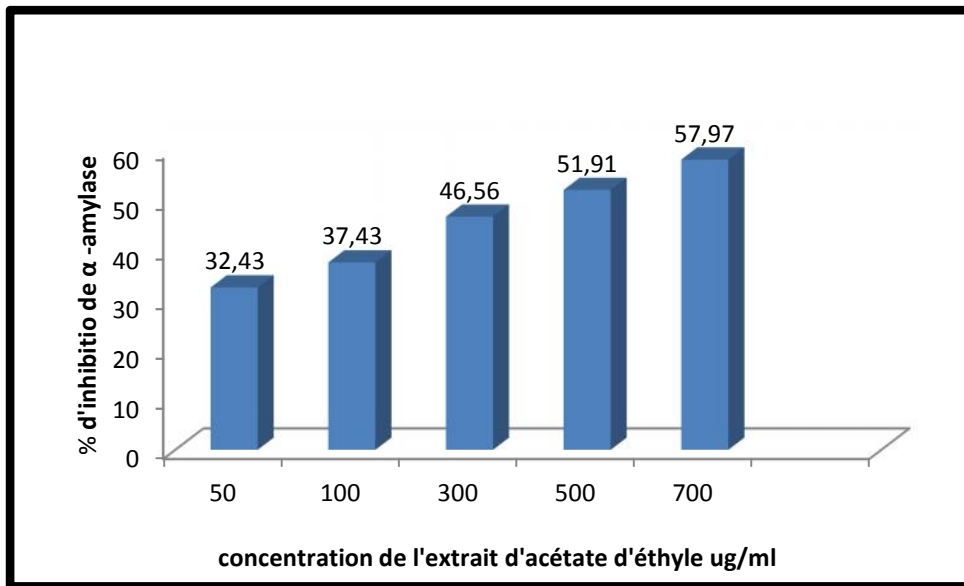


Figure 03 : Histogramme des % d'inhibition de α -amylase en fonction de concentration de l'extrait d'acétate d'éthyle.

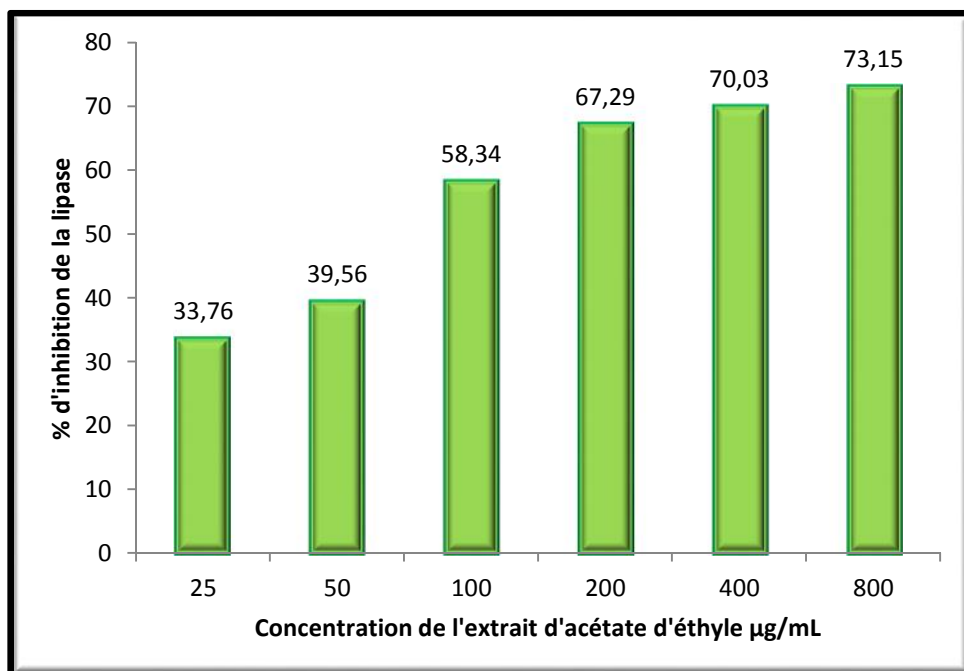


Figure 04 : Histogramme des % de l'inhibition de la lipase en fonction de concentration de l'extrait d'acétate d'éthyle

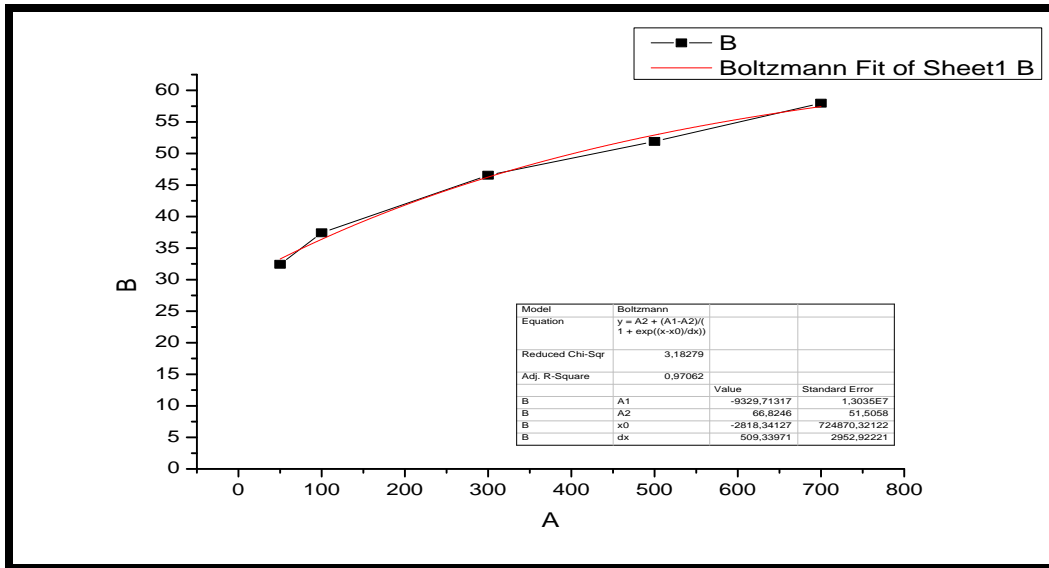


Figure 05 : Courbe pour le calcul d'IC₅₀ pour l'inhibition d'α amylase par l'extrait acétate d'éthyle.

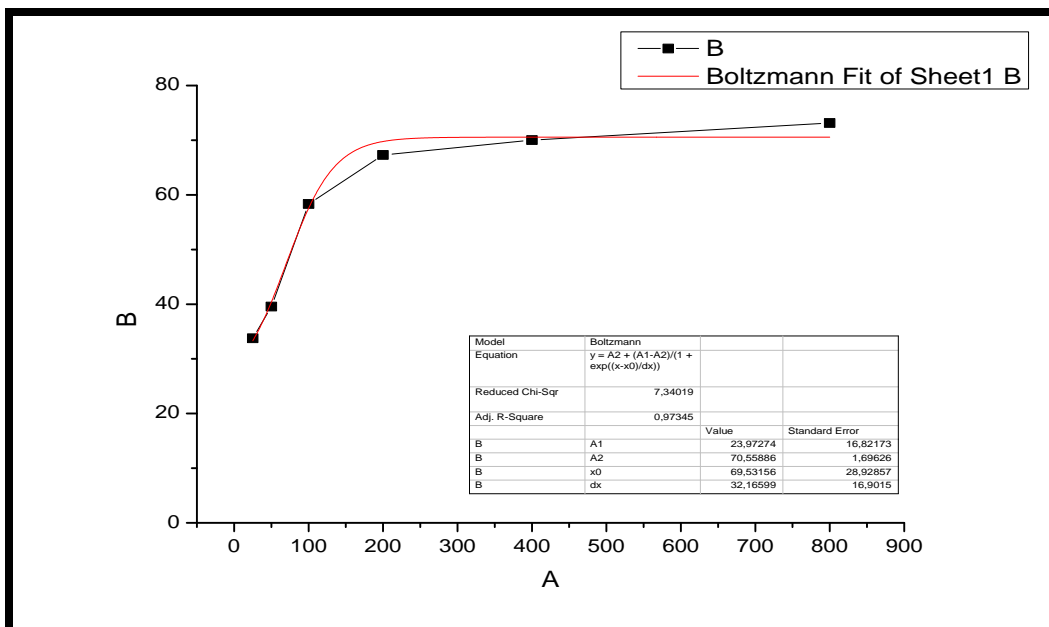


Figure 06: Courbe pour le calcul d'IC₅₀ pour l'inhibition de la lipase par l'extrait acétate d'éthyle.



Glossaires

1-Glossaire botanique

- **Angiospermes** : Plante à fleurs.
- **Dicotylédones** : Plante angiospermes (plante à fleurs) dont la graine contient deuxcotylédone.

2-Glossaire médical

- **Antalgique** : Permet d'atténuer et voir même de supprimer la douleur.
- **Antimicrobienne** : Permet de détruire (bactéricide) ou de ralentir (bactériostatique) la
- **Antioxydant** : Lutte contre le stress oxydatif et protège la cellule d'une oxydation par les radicaux libres. Croissance des microbes.
- **Antispasmodique ou Spasmolytique** : Calme ou de neutraliser des contractions involontaires des muscle. Ils sont souvent utilisés dans les spasmes digestifs, les douleurs à type de colique hépatiques ou néphrétiques et les douleurs utérines de la femme.
- **Anti-inflamatoire** : Qui fait dégonfler, et diminuer l'irritation. La plupart des sont aussi des antidouleurs.
- **Asthénie** : affaiblissement de l'organisme, fatigue physique.
- **Auto-immune** : processus caractérisé par une agression de l'organisme par son propre système immunitaire.

- **Glycémie** : Taux de glucose dans le sang Grâce à plusieurs mécanismes de régulation, la glycémie est maintenue sensiblement constante (autour de 1 gramme par litre) afin d'apporter aux tissus des quantités constantes de glucose sanguin.
- **Homéostasie glycémique** : Maintient de la glycémie à une valeur normale.
- **Hyperglycémie** : Augmentation anormale de la glycémie au – dessus de la norme.
- **Polydipsie** : Sensation de soif exagérée, calmée, par une prise de boisson abondante.
- **Polyphagie** : Symptôme ou maladie caractérisé (e) par une faim excessive avec une absence de sensation de satiété, traduisant, un excès dans le comportement alimentaire.
- **Polyurie** : Augmentation (au- dessus du seuil de 3 litres) de la quantité des urines émises pendant 24heures.
- **Post -prandiale** : Relatif aux repas. Un événement post – prandial est un phénomène survenant après le repas, comme la douleur postprandiale, caractéristique de l'ulcère gastroduodéal.
- **Sédatif** : Qui calme l'organisme.



Résumé

L'*Origanum glandulosum* est une plante très abondante, utilisée comme plante médicinale, phyto-thérapeutique traditionnelle. Cette plante doit sa vertu thérapeutique aux principes actifs qu'elle contient. Parmi ceux-ci les polyphénols.

L'objectif de ce travail est la mise en valeur de la composition phénolique et l'évaluation de l'activité anti- α -amylase et antilipase des polyphénols de cette plante. Ce travail s'articule autour de deux axes, l'un porte sur la valorisation phytochimique du dosage et caractérisation par HPLC des composés phénoliques d'extrait acétate d'éthyle d'*O.glandulosum* et d'autre part l'évaluation *in vitro* de l'activité anti- α -amylase et antilipase. Les résultats des travaux effectués montrent que la teneur des différents composés phénoliques est de 92,80 mg EAG / g des polyphénols totaux, 32,70 mg EAG / g en flavonoïdes. L'analyse qualitative des polyphénols d'extraits d'*Origanum glandulosum* par HPLC a révélé la présence acide rosmarinique et acide lithospermique, apigénine glucuronique et globoidnan B.

L'ensemble de ces résultats a permis d'évaluer les activités anti- α -amylase et antilipase d'*O.glandulosum*. L'extrait d'acétate d'éthyle d'*O. glandulosum* possède une activité inhibitrice de α -amylase de IC_{50} de 402,44 μ g /mL par contre l'activité inhibitrice de la lipase par l'acétate d'éthyle est de IC_{50} égale à 77,20 μ g /mL cela permet de valider l'usage traditionnel de la plante dans le traitement du diabète.

Mots clés : Diabète, Plante médicinale, *O.glandulosum* Desf, flavonoïdes, anti- α -amylase et antilipase.

Abstract

The *Origanum glandulosum* is a very abundant plant used as a medicinal plant, traditional phyto-therapeutic. This plant owes its therapeutic value to the assets it contains principles. Among these polyphenols.

The objective of this work is the development of the phenolic composition and evaluation of the anti- α -amylase activity of polyphenols and antilipase of this plant. This work is structured around two axes, one door on the phytochemical recovery assay and characterization of phenolic compounds by HPLC of ethyl acetate extract of *O. glandulosum* and secondly the assessment *in vitro* of the α -amylase and antilipase activity.

The results of this work show that the content of the different phenolic compounds is 92,80 mg EAG / g of total polyphenols, 32.70 mg EAG / g flavonoids. The qualitative analysis of polyphenols extracted from *O. glandulosum* by HPLC revealed the presence of acid and rosmarinic acid lithospermic, apigenin and glucuronic globoidnan B.

All of these results were used to evaluate the anti- α -amylase and antilipase activities, of *O. glandulosum*. The acetate extract of ethyl *O.glandulosum*, has an inhibitory activity of α -amylase IC_{50} of 402.44 mg / mL by the inhibitory activity, against lipase, with ethyl acetate is equal to IC_{50} 77.20 mg / mL it validates the traditional use of the plant in the treatment of diabetes.

Keywords: Diabetes, medicinal plant, *O. glandulosum* Desf, flavonoids, Anti- α -amylase, antilipase.

