

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou  
Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques  
Département Biochimie- Microbiologie



## Mémoire de fin de cycle d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine SNV

Spécialité : Biochimie appliquée

### Thème

**Effet anti alpha amylasique de l'extrait aqueux des  
feuilles de l'aubépine (*Crataegus monogyna J*).**

#### Réalisé par :

ARHAB Nesrine Tassadit

MEZAGUER Kahina

KACI AMER Yanis

#### Devant les jurys composés de :

<b>Mme. IRATNI. G.</b>	MCA à UMMTO	Présidente
<b>Mr. SEBBANE. H.</b>	MCB à UMMTO	Examineur
<b>Mme. OUZID. Y.</b>	MCA à UMBB	Promotrice
<b>Mr. HOUALI. K.</b>	Pr à UMMTO	Co-promoteur

**Promotion : 2023/2024.**

## Remerciements

Louange à Allah, le Tout-Puissant, pour nous avoir accordé la santé, la patience et la persévérance nécessaires à la réalisation de ce mémoire. Sans Sa miséricorde et Sa guidance, ce travail n'aurait pas été possible.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce mémoire.

Tout d'abord, nous remercions chaleureusement notre promotrice, Dr. OUZID Yasmina, pour son soutien indéfectible, ses conseils avisés et son encadrement tout au long de cette recherche. Sa rigueur scientifique et son exigence intellectuelle ont été des sources d'inspiration constantes.

Nous souhaitons également remercier notre co-promoteur, Pr. HOUALI Karim, pour ses précieuses suggestions et son aide précieuse. Ses remarques constructives et son expertise ont grandement enrichi ce travail.

Nous sommes reconnaissants à Dr. SEBBANE H, examinateur de ce mémoire, pour le temps qu'il a consacré à lire et évaluer notre travail. Ses critiques pertinentes et ses observations judicieuses ont permis d'améliorer significativement la qualité de ce mémoire.

Un grand merci également à Dr. IRATNI G, présidente du jury, pour sa disponibilité et pour avoir présidé avec attention et bienveillance la soutenance de ce mémoire.

Nous souhaitons remercier l'ensemble des travailleurs du laboratoire pour leur contribution à ce projet. Votre engagement et votre collaboration ont été essentiels pour atteindre nos objectifs. Merci à tous pour votre soutien et votre travail.

## Dédicace

À mon père et ma mère, pour leur amour inconditionnel, leur patience et leur soutien indéfectible. Vous avez toujours cru en moi et m'avez encouragé à poursuivre mes rêves, même dans les moments les plus difficiles. Votre sagesse et vos conseils m'ont guidé tout au long de ce parcours.

À mon frère Tarik, pour sa présence réconfortante et ses encouragements constants. Ton soutien et ta compréhension ont été d'une grande aide tout au long de ce chemin.

À ma sœur Maria, pour sa gentillesse et son soutien. Tes mots réconfortants et ton écoute attentive m'ont permis de surmonter de nombreux obstacles.

À ma grand-mère Wardia, pour son amour et ses prières. Ta sagesse et tes bénédictions m'ont donné la force de persévérer.

À mon oncle Hocine, et mes tantes Hada et Saliha, pour leur soutien constant et leurs encouragements. Votre présence et vos paroles motivantes m'ont donné le courage de continuer.

À ma meilleure amie Selma, pour son amitié indéfectible et son soutien constant. Tu as été une source de motivation et d'encouragement tout au long de ce parcours.

Et enfin, à mes coéquipiers Kahina et Yanis, ensemble, nous avons relevé les défis et partagé les succès. Votre dévouement et votre esprit d'équipe ont rendu ce projet à la fois stimulant et enrichissant. Ce mémoire est le reflet de notre travail commun et de notre solidarité.

Nesrine Tassadit.

## Dédicace

À mon père et ma mère, pour leur amour inconditionnel, leur patience et leur soutien indéfectible. Vous avez toujours cru en moi et m'avez encouragé à poursuivre mes rêves, même dans les moments les plus difficiles. Votre sagesse et vos conseils m'ont guidé tout au long de ce parcours.

À mes frères Smail et Abdrazek, mes complices de toujours, qui ont partagé avec moi les hauts et les bas de cette aventure,

À ma sœur Sarah et à mon beau-frère Hocine, pour leur encouragement constant et leur compréhension,

À ma tante Sonia, dont la gentillesse pure et l'amour inconditionnel illuminent chaque jour nos vies,

Et à tous les petits de la famille Elyane, Inaya, Aymane, Silas et Lana, qui apportent tant de bonheur et de légèreté à notre foyer,

À mes meilleurs amis Nawal, Katia, Kahina, Melissa, qui ont été mes confidents, mes complices et mes supporteurs les plus fidèles

Et enfin, à mes coéquipiers Nesrine Tassadit et Yanis, pour leur collaboration et leur engagement tout au long de ce projet. Merci pour votre dévouement, votre créativité et votre esprit d'équipe. Ce mémoire est le résultat de notre travail acharné et de notre coopération.

Kahina.

## Dédicace

À mon père et ma mère, pour leur amour infini, leur patience et leur soutien sans faille. Votre confiance en moi et vos encouragements ont été les fondements de ma réussite.

À mes frères Ghiles et Massinissa, pour leur présence constante et leur soutien indéfectible. Votre encouragement et votre fraternité m'ont donné la force de continuer.

À ma tante Terkia, pour son amour, ses conseils avisés et son soutien inestimable. Ta sagesse et ta bienveillance m'ont beaucoup aidé tout au long de ce parcours.

À mes grands-mères maternelle et paternelle Taous et Aziza, pour leurs amours et soutien et leurs sagesses sans pareil

À mes tantes et professeurs d'école primaire, Fatiha et Djamila pour leurs précieux enseignement et conseils qui ont créé en moi la passion et l'envie d'aller toujours plus loin dans mes études et ma vie et qui font de moi aujourd'hui celui que je suis.

Et enfin, à mes coéquipiers Kahina et Nesrine Tassadit, pour leur collaboration exceptionnelle et leur engagement sans faille. Ensemble, nous avons relevé de nombreux défis et célébré nos succès. Votre créativité, votre dévouement et votre esprit d'équipe ont rendu ce projet enrichissant et mémorable. Ce mémoire est le fruit de notre travail acharné et de notre solidarité.

Yanis.

# Sommaire

## Résumé

<b>Introduction Générale .....</b>	<b>1</b>
------------------------------------	----------

## Synthèse bibliographique

<b>I. Étude bibliographique de <i>Crataegus monogyna J.</i> .....</b>	<b>3</b>
<b>1. Introduction .....</b>	<b>3</b>
<b>2. Aire de répartition .....</b>	<b>3</b>
<b>3. Noms vernaculaires.....</b>	<b>4</b>
<b>4. Description botanique.....</b>	<b>5</b>
<b>5. Classification.....</b>	<b>6</b>
<b>5.1. Classification classique.....</b>	<b>6</b>
<b>5.2. Classification des plantes à fleurs de CRONQUIST.....</b>	<b>6</b>
<b>6. L'étude phytochimique de <i>Crataegus monogyna J.</i>.....</b>	<b>7</b>
<b>6.1. Flavonoïdes.....</b>	<b>7</b>
<b>6.1.1. Flavan-3-ols.....</b>	<b>8</b>
<b>6.1.2. Flavonols et glycosides de flavonol.....</b>	<b>8</b>
<b>6.2. Triterpènes.....</b>	<b>8</b>
<b>6.3. Acides Phénoliques.....</b>	<b>9</b>
<b>6.4. Tanins.....</b>	<b>9</b>
<b>7. Les activités biologiques de <i>Crataegus monogyna J.</i>.....</b>	<b>10</b>
<b>II. Le Diabète.....</b>	<b>11</b>
<b>1. Le diabète de type 2.....</b>	<b>12</b>
<b>1.1. Symptomatologie du diabète de type 2.....</b>	<b>13</b>
<b>1.2. Facteurs de risque associés au diabète de type 2.....</b>	<b>13</b>
<b>1.3. Physiopathologie du diabète de type 2.....</b>	<b>13</b>
<b>1.4. Diagnostic du diabète de type 2.....</b>	<b>14</b>
<b>2. La contribution de l'hyperglycémie chronique aux complications liées au DT2.....</b>	<b>14</b>
<b>3. L'utilité de surveiller la période postprandiale.....</b>	<b>15</b>
<b>III. <math>\alpha</math>-Amylase.....</b>	<b>17</b>

1. Les amylases.....	17
1.1. Les types d'amylase.....	17
2. L' $\alpha$ -Amylase.....	18
3. Les caractéristiques de l' $\alpha$ -amylase.....	19
4. La structure de l' $\alpha$ -Amylase.....	19
5. Mécanisme d'action.....	20
6. Les inhibiteurs et les activateurs de l' $\alpha$ -Amylase.....	21
7. Le substrat d' $\alpha$ -amylase.....	21

## **Partie Expérimentale**

<b>I. Matériel et Méthodes.....</b>	<b>23</b>
1. Lieu de réalisation de notre mémoire.....	23
2. site d'échantillonnage .....	23
3. Matériel végétale.....	23
4. Matériel et appareillages utilisées.....	24
5. Méthodes.....	26
5.1. Lavage, séchage et broyage.....	26
5.2. Macération.....	26
5.3. Lyophilisation.....	27
6. Calcul du rendement d'extraction.....	28
7. Dosage spectrophotométrique des métabolites secondaires.....	28
7.1. Dosage des alcaloïdes.....	28
7.2. Dosage des flavonoïdes.....	3
8. Méthode d'Évaluation de l'Inhibition Enzymatique de l' $\alpha$ -Amylase.....	33
8.1. Préparation des Échantillons et Mesure de l'Absorbance.....	33
8.2. Calcul des pourcentages d'inhibition.....	33
<b>II. Résultats et Discussion.....</b>	<b>35</b>
1. Rendement d'extraction.....	35
2. Inhibition de l' $\alpha$ -amylase par l'acarbose : étude dose-réponse.....	36

3. Effet inhibiteur de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Crateagus monogyna J</i> vis-à-vis de l' $\alpha$ -amylase.....	37
4. Dosage spectrophotométrique des métabolites secondaires.....	40
4.1. Dosage des alcaloïdes.....	40
4.2. Dosage des flavonoïdes.....	41
<b>Conclusion.....</b>	<b>43</b>
<b>Références</b>	
<b>Annexes</b>	

## Liste des Figures

<b>Figures</b>	<b>Titres</b>	<b>Page</b>
<b>Figure 1</b>	Un arbuste de <i>Crateagus monogyna J.</i>	<b>03</b>
<b>Figure 2</b>	Distribution géographique de <i>Crateagus monogyna J.</i>	<b>04</b>
<b>Figure 3</b>	Différentes parties de <i>Crateagus monogyna J</i> (A) Fruit, (B) Feuilles, (C) Fleur, (D) Branches	<b>05</b>
<b>Figure4</b>	Structure chimiques des flavonoïdes.	<b>07</b>
<b>Figure 5</b>	Les composés de catéchine flavan-3-ol de <i>C. monogyna J.</i>	<b>08</b>
<b>Figure6</b>	Les triterpènes des parties aériennes de <i>C. monogyna J.</i>	<b>09</b>
<b>Figure7</b>	Le nombre d'individus âgés de 20 à 79 ans souffrant de diabète à l'échelle.	<b>11</b>
<b>Figure8</b>	Les complications liées au diabète.	<b>12</b>
<b>Figure9</b>	Hydrolyse de l'amidon par l' $\alpha$ -amylase.	<b>18</b>
<b>Figure10</b>	Les domaines structuraux d' $\alpha$ -amylases. Le domaine A est en rouge, le domaine B en bleu cyan et le domaine C en vert.	<b>19</b>
<b>Figure11</b>	La structure d'amidon.	<b>22</b>
<b>Figure12</b>	Localisation géographique de site de prélèvement de <i>Crataegus monogyna J.</i>	<b>23</b>
<b>Figure13</b>	Préparation du matériel végétale (1. Lavage2. Séchage3. Broyage).	<b>26</b>
<b>Figure14</b>	Macération et filtration du matériel végétale.	<b>27</b>
<b>Figure15</b>	Lyophilisation du matériel végétale.	<b>28</b>
<b>Figure16</b>	Protocole de dosage des alcaloïdes.	<b>29</b>
<b>Figure17</b>	Courbe étalon de la colchicine.	<b>30</b>
<b>Figure18</b>	Protocole de dosages des flavonoïdes.	<b>31</b>
<b>Figure19</b>	Courbe étalon de la quercitrine.	<b>32</b>
<b>Figure20</b>	L'inhibition l'activité de l' $\alpha$ -amylase en fonction de la concentration de l'acarbose.	<b>36</b>
<b>Figure21</b>	Histogramme représentant les pourcentages d'activité de l'alpha amylase.	<b>38</b>
<b>Figure22</b>	Histogramme représentant les pourcentages d'inhibition de l'alpha amylase.	<b>39</b>
<b>Figure23</b>	Histogramme représentant les concentrations des métabolites secondaires présent dans les feuilles des <i>Crateagus monogyna J.</i>	<b>40</b>

## Liste des tableaux

---

<b>Numéro</b>	<b>Titres</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau I</b>	Les noms vernaculaires de <i>Crateagus monogyna J.</i>	<b>4</b>
<b>Tableau II</b>	Les sous types d'amylase.	<b>17</b>
<b>Tableau III</b>	Liste des effecteurs de l' $\alpha$ -amylase.	<b>21</b>
<b>Tableau IV</b>	Un tableau détaillant l'équipement utilisé.	<b>24</b>
<b>Tableau V</b>	Un tableau récapitulatif des produits chimiques utilisés.	<b>25</b>
<b>Tableau VI</b>	Rendement et caractéristiques de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Crateagus monogyna J.</i>	<b>35</b>
<b>Tableau VII</b>	Les densités optiques (DO) et les pourcentages d'activité et d'inhibition d'alpha amylase.	<b>37</b>

## Liste des abréviations

- AGE : Produits de Glycation Avancée
- $\text{AlCl}_3$  : Chlorure d'aluminium
- Arg : Arginine
- Asn : Asparagine
- Asp : Aspartate
- C. monogyna J. : Crataegus monogyna Jacq.
- DNS : Acide 3,5-dinitrosalicylique
- DT2 : Diabète de type 2
- EC : Enzyme Commission (Commission des Enzymes)
- EC : Équivalent de Colchicine
- EQ : Équivalent de Quercitrine
- $\text{FeCl}_3$  : Chlorure ferrique
- FID : Fédération Internationale du Diabète
- GC-MS : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
- Gln : Glutamine
- Glu : Glutamate
- HbA1c : Hémoglobine Glyquée
- HCl : Acide chlorhydrique
- HGPO : Hyperglycémie Provoquée par voie Orale
- HGPP : Hyperglycémie Postprandiale
- His : Histidine
- HPLC : Chromatographie en Phase Liquide à Haute Performance
- IGT : Intolérance au glucose

- LABAB : Laboratoire de Biochimie Analytique et Biotechnologie
- Leu : Leucine
- MS : Spectrométrie de Masse
- PBS : Phosphate Buffered Saline (solution tampon phosphate)
- RMN : Résonance Magnétique Nucléaire
- TIM : Triose-Phosphate Isomérase
- Try : Tryptophane
- Tyr : Tyrosine
- UKPDS : United Kingdom Prospective Diabetes Study
- $\mu\text{g}$  : Microgramme
- $\mu\text{l}$  : Microlitre

# Résumé

---

## Résumé

Les plantes médicinales constituent une source abondante et diversifiée de métabolites secondaires, qui sont utilisés dans les secteurs pharmaceutique, cosmétique, agroalimentaire, médicale, biotechnologique par de nombreuses applications. Ces substances ont différentes propriétés biologiques, telles que des activités antioxydantes, anti-hyperglycémiques, antibactériennes, anticancéreuses et anti-inflammatoires. Dans cette perspective, notre étude s'est focalisée sur la plante *Crataegus monogyna* Jacq., récoltée dans la région de Makouda (Tizi-Ouzou, Algérie), connue pour ses propriétés thérapeutiques. Plus précisément, les propriétés anti-hyperglycémiques de cette plante ont été étudiées à l'aide d'extraits aqueux de feuilles.

Les effets anti-hyperglycémiques ont été mesurés par l'inhibition de l'alpha-amylase, une enzyme qui catalyse la dégradation de l'amidon en sucres simples. Les résultats ont montré une inhibition significative de 92.32 %, indiquant un potentiel thérapeutique prometteur pour la gestion du diabète.

Les analyses colorimétriques des extraits aqueux ont mis en évidence une concentration élevée de flavonoïdes, mesurée à  $14,26 \pm 3,851$  mgEq/mg d'extrait. Par ailleurs, les alcaloïdes présents ont été quantifiés avec une concentration de  $7,87 \pm 0,351$  mgEC/mg d'extrait, ce qui souligne encore davantage le potentiel pharmacologique de cette plante.

Les observations suggèrent que les extraits aqueux des feuilles de l'aubépine contiennent des métabolites secondaires qui agissent en inhibant l'activité de l'alpha-amylase, conduisant ainsi à leur activité anti-hyperglycémique. Ces résultats suggèrent que cette plante pourrait être exploitée pour développer des traitements naturels contre le diabète.

**Mots clé :** *Crataegus monogyna* Jacq ; antihyperglycémie ; flavonoïdes ; alcaloïdes ; alpha amylase.

# Résumé

---

## Abstract

Medicinal plants represent an abundant and diverse source of secondary metabolites, which are utilized in pharmaceutical, cosmetic, agri-food, medical, and biotechnological sectors through numerous applications. These substances possess various biological properties such as antioxidant, anti-hyperglycemic, antibacterial, anticancer, and anti-inflammatory activities. In this perspective, our study focused on *Crataegus monogyna* Jacq., harvested in the Makouda region (Tizi-Ouzou, Algeria), known for its therapeutic properties. Specifically, the anti-hyperglycemic properties of this plant were investigated using aqueous leaf extracts.

The anti-hyperglycemic effects were measured by inhibiting alpha-amylase, an enzyme that catalyzes starch degradation into simple sugars. The results showed significant inhibition of 92.32%, indicating promising therapeutic potential for diabetes management.

Colorimetric analyses of the aqueous extracts highlighted a high concentration of flavonoids, measured at  $14.26 \pm 3,851$  mgEq/mg of extract. Furthermore, the present alkaloids were quantified with a concentration of  $7.87 \pm 0,351$  mgEC/mg of extract, further emphasizing the pharmacological potential of this plant.

The observations suggest that aqueous leaf extracts of hawthorn contain secondary metabolites that act by inhibiting alpha-amylase activity, thereby contributing to their anti-hyperglycemic activity. These findings suggest that this plant could be exploited to develop natural treatments for diabetes.

**Keywords:** *Crataegus monogyna* Jacq; antihyperglycemia; flavonoids; alkaloids; alpha-amylase.

تعد النباتات الطبية مصدرًا وفيرًا ومتنوعًا للمستقلبات الثانوية، والتي تستخدم في قطاعات الأدوية ومستحضرات التجميل والغذاء الزراعي والطب والتكنولوجيا الحيوية من خلال العديد من التطبيقات. لهذه المواد خصائص بيولوجية مختلفة، مثل مضادات الأكسدة، ومضادات ارتفاع السكر في الدم، ومضادات البكتيريا، ومضادات السرطان، والأنشطة ، الذي تم حصاده في *Crataegus monogyna* Jacq. المضادة للالتهابات. من هذا المنظور، ركزت دراستنا على نبات تيزي وزو، الجزائر)، والمعروف بخصائصه العلاجية. على وجه التحديد، تمت دراسة الخصائص ( Makouda منطقة المضادة لفرط سكر الدم لهذا النبات باستخدام مستخلصات الأوراق المائية.

تم قياس التأثيرات المضادة لفرط سكر الدم عن طريق تثبيط ألفا أميلاز، وهو إنزيم يحفز تدهور النشا إلى سكريات بسيطة. أظهرت النتائج تثبيطًا كبيرًا بنسبة 92.32٪، مما يشير إلى وجود إمكانات علاجية واعدة لإدارة مرض السكري.

كشفت تحليلات قياس الألوان للمستخلصات المائية عن تركيز مرتفع من الفلافونويد، يقاس بـ  $3.851 \pm 14.26$  ملغم/ملغم من المستخلص. بالإضافة إلى ذلك، تم تحديد كمية الفلويبات الموجودة بتركيز  $0.351 \pm 7.87$  ملغم من مستخلص ، مما يؤكد بشكل أكبر الإمكانيات الدوائية لهذا النبات  $EC/mg$ .

تشير الملاحظات إلى أن المستخلصات المائية لأوراق الزعرور تحتوي على مستقلبات ثانوية تعمل عن طريق تثبيط نشاط ألفا أميلاز، مما يؤدي إلى نشاطها المضاد لفرط سكر الدم. تشير هذه النتائج إلى أنه يمكن استخدام هذا النبات لتطوير علاجات طبيعية لمرض السكري.

؛ ومضادات هيبرغليسيما ؛ والفلافونويد ؛ والقلويدات ؛ ألفا *Crataegus monogyna* Jacq: الكلمات الرئيسية  
أميلاز.

# **Introduction Générale**

Au fil des années, les humains ont été confrontés à diverses maladies et malaises, nécessitant différentes approches pour les combattre. Parmi celles-ci, l'utilisation de plantes médicinales se distingue. Malgré le développement de thérapies modernes, la médecine à base de plantes gagne en popularité en raison des préoccupations croissantes concernant les toxicités associées aux thérapies conventionnelles (Nwozo *et al.*, 2023).

Parmi les plantes largement utilisées en Afrique du Nord pour leurs effets bénéfiques, on trouve *Crataegus monogyna J*, une des espèces les plus couramment utilisées pour la préparation de médicaments à base d'aubépine. Les recherches ont montré que cette plante possède des activités biologiques intéressantes, notamment une activité antidiabétique due à la présence de divers composés bioactifs.

Le diabète de type 2 (DT2) est considéré comme un problème majeur de santé publique ayant un impact significatif sur la vie des individus et les dépenses de santé (Khan *et al.*, 2019). L'un des enjeux clés dans la gestion du diabète de type 2 est le contrôle de l'hyperglycémie postprandiale (HGPP), responsable d'une part significative (30 à 40 %) de l'hyperglycémie totale quotidienne (Monnier *et al.*, 2003).

Les enzymes digestives, telles que l' $\alpha$ -amylase, jouent un rôle crucial dans l'augmentation de la glycémie postprandiale en hydrolysant les oligosaccharides en monosaccharides (Patil *et al.*, 2010). L'inhibition de ces enzymes est donc une stratégie efficace pour réduire l'hyperglycémie postprandiale et les complications associées (Patil *et al.*, 2010). Cependant, les médicaments antidiabétiques conventionnels, comme l'acarbose, peuvent entraîner une variété d'effets secondaires, notamment des nausées, des ballonnements et une faiblesse (Bouyahya *et al.*, 2021). C'est pourquoi la phytothérapie est devenue une solution alternative de plus en plus populaire, grâce à son approche naturelle.

Afin de valoriser les plantes médicinales locales connues pour leurs propriétés thérapeutiques, notre étude s'est concentrée sur l'analyse de l'activité anti alpha amylasique des extraits aqueux des feuilles de *Crataegus monogyna J*, collectées à Makouda, dans la wilaya de Tizi-Ouzou au nord de l'Algérie.

Les objectifs de cette étude sont les suivants :

- Préparer un extrait aqueux à partir des feuilles de *Crataegus monogyna J* ;

- Évaluer l'activité anti alpha amylasique des extraits des feuilles de *Crataegus monogyna J in vitro* ;
- Dosage des flavonoïdes et des alcaloïdes présents dans l'extrait aqueux de *Crataegus monogyna J*.

# **Synthèse bibliographique**

## I. Étude bibliographique de *Crataegus monogyna J.*

### 1. Introduction

L'aubépine est le nom commun des espèces du genre *Crataegus*. Le nom botanique *Crataegus* provient du grec, où *Kratos* signifie « dureté » ou « force » du bois (Grieve, 1931 ; Couplan, 2000). Tandis que d'autres disent qu'il réfère aux effets puissants de son fruit.

Depuis des siècles, les extraits d'aubépine sont reconnus internationalement comme sources de médicaments (Rigelsky et Sweet, 2002 ; Chang *et al.*, 2005). En Afrique du Nord, *Crataegus monogyna J* est parmi les plantes largement utilisées pour leurs effets bénéfiques, et actuellement elle fait partie des espèces les plus couramment utilisées pour la préparation de médicaments à base d'aubépine (Hänsel *et al.*, 2004).

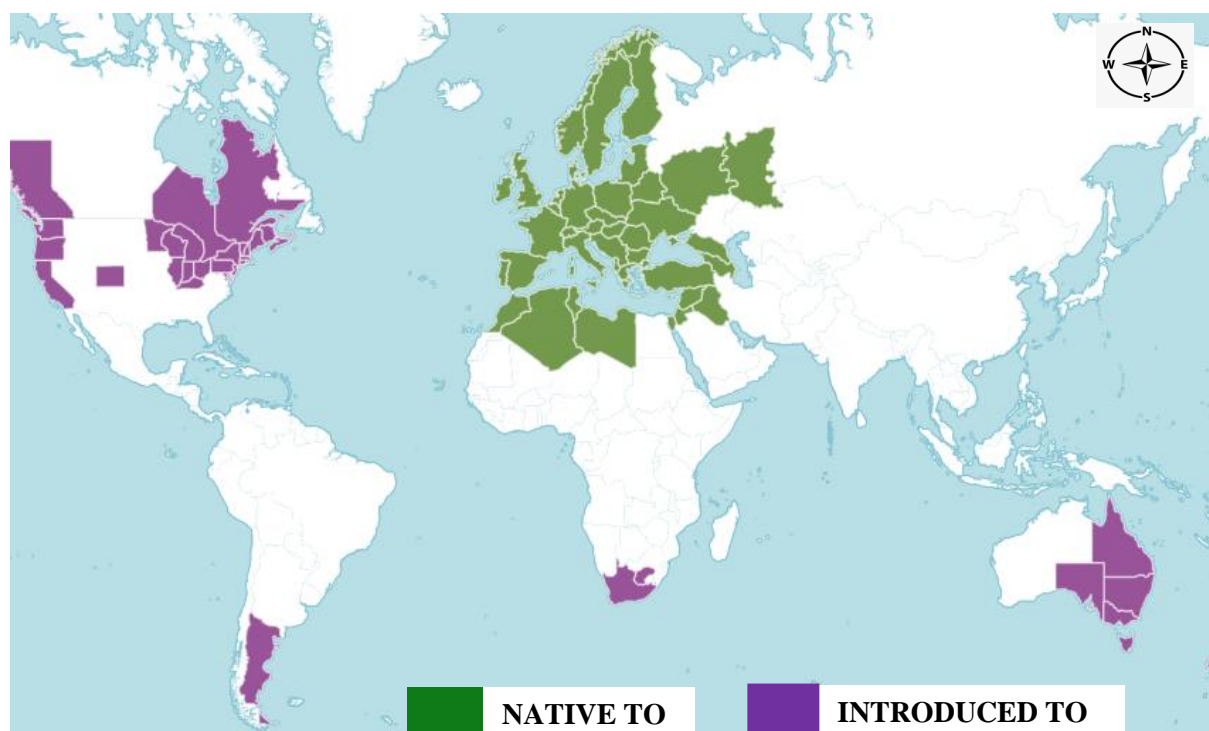


**Figure 1** : un arbuste de *Crataegus monogyna J* ((Morgenstern, 2020).

### 2. Aire de répartition

Le genre *Crataegus* est largement répandu en Europe, en Asie occidentale et en Afrique du Nord (Christensen, 1992 ; Brosse, 2000). Selon Baba Aissa (1999), l'aubépine est répandue dans les forêts et les maquis du Maghreb. Et chez nous en Algérie, elle fait souvent partie de la flore de l'Atlas Tallien (Temani, 1993, cité par Farhat, 2007).

La figure suivante représente en vert les pays dans lesquels l'aubépine est une plante indigène cependant les pays en violet représente ceux dans lesquels l'aubépine a été introduite.



Echelle : 1/ 20 000 000

**Figure 2** : distribution géographique de *Crataegus monogyna J* (Anonyme 1).

### 3. Noms vernaculaires

Plusieurs noms de *Crataegus monogyna J* ont été utilisés :

**Tableau I** : les noms vernaculaires de *Crataegus monogyna J*.

Nom	Langue	Reference
Chouka el-hada Zarour hab ahmer	Arabe	Baba-Aissa ,1999
Yadzmim	Tamazight	Baba-Aissa ,1999
Aubépine	Français	Baba-Aissa ,1999 Ju ,2005
Hawthorne	English	Ju ,2005

### 4. Description botanique

Baba Aissa (1999), écrit que l'aubépine est un arbuste buissonnant ayant une couronne très dense à feuilles caduques, ce qui signifie que les feuilles jaunissent avant de tomber en automne.

Les branches lisses grisâtres sont très épineuses, les feuilles vertes foncé et brillantes au-dessus et plus pale en dessous ont 3 à 5 lobes profonds. Ses fleurs blanches ou roses hermaphrodites à 5 pétales et à nombreuses étamines à anthères brun rougeâtre sont produites au printemps, ayant une odeur caractéristique très forte. Une fois les fleurs pollinisées par les insectes, elles subissent certains changements qui aboutissent à la production de nombreuses cenelles plus tard dans la même année. La cenelle est un petit fruit ovale ou sphérique ayant une couleur rouge foncé, ressemblant à une baie, mais structurellement à pépins contenant une seule graine. Les divers composants de cette plante sont illustrés dans la figure au-dessous.



**Figure 3** : différentes parties de *Crataegus monogyna* J (A) Fruit, (B) Feuilles (Dylan, 2016), (C) Fleur, (D) Branches (Santamaría, 2014).

## 5. Classification

Selon Hamdaoui et Mehdadi (2018) Il existe plusieurs classifications de l'espèce *Crateagus monogyna J*, parmi eux ont site les suivantes :

### 5.1. Classification classique

**Règne** : Plantes.

**Sous règne** : Plantes vasculaires.

**Embranchement** : Spermaphytes.

**Sous-embranchement** : Angiospermes.

**Classe** : Dicotylédones.

**Sous classe** : Rosidae.

**Ordre** : Rosales.

**Famille** : Rosaceae.

**Genre** : *Crataegus L.*

**Espèce** : *Crataegus oxyacantha L.*

**Sous-espèce** : *monogyna Jacq.* (Quézel et Santa, 1963).

### 5.2. Classification des plantes à fleurs de CRONQUIST

**Embranchement** : Spermaphytes.

**Classe** : Magnoliopsida.

**Sous/classe** : Rosidae.

**Ordre** : Rosales.

**Famille** : Rosaceae.

**Genre** : *Crataegus.*

**Espèce** : *Crataegus monogyna Jacq.*

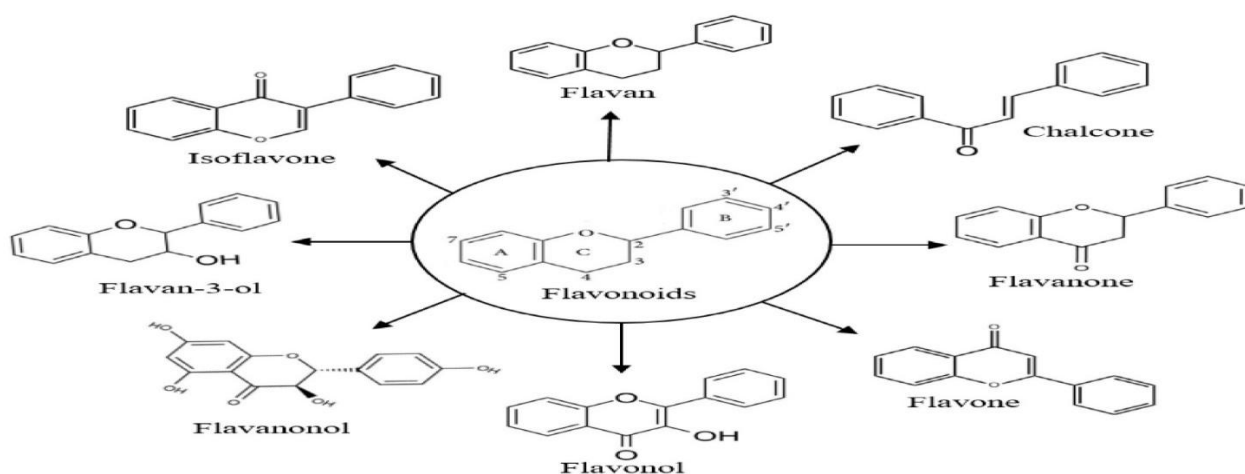
## 6. L'étude phytochimique de *Crateagus monogyna* J

Compte tenu des usages traditionnels de *C. monogyna* en tant que plante médicinale, la communauté scientifique contemporaine a approfondi l'étude des composants chimiques auxquels les effets biologiques pouvaient être attribués (Nabavi *et al.*, 2015).

Cette plante est une source importante de molécules bioactives, y compris divers polyphénols, telles que des procyanidines, de l'épicatéchine, de l'hyperoside, de l'isoquercitrine. Elle contient également de l'acide chlorogénique, des acides triterpéniques comme l'acide ursolique et l'acide oléanolique, ainsi que d'autres acides organiques importants (Martinelli *et al.*, 2021). La variabilité de la composition chimique de *C. monogyna* pourrait être due aux différentes conditions agroclimatiques des régions où elle se développe (Belabdelli *et al.*, 2021).

### 6.1.Flavonoïdes

Les flavonoïdes font partie d'une catégorie de substances polyphénoliques omniprésentes dans la plante. De manière structurale, ils se composent de deux anneaux aromatiques à six membres (A et B) qui sont reliés par une chaîne à trois carbones qui peut former le troisième anneau, C. On peut classer les flavonoïdes en différentes catégories, comme les flavones, les flavonols, les flavanones, les flavans, les anthocyanidines, les isoflavones, les néoflavones et les chalcones. Avec leurs multiples propriétés pharmacologiques, allant de l'antioxydation à la protection contre les maladies chroniques telles que le cancer, le diabète et l'inflammation, les flavonoïdes sont de loin les métabolites végétaux secondaires les plus importants (Nabavi *et al.*, 2015). Les différentes structures chimiques des flavonoïdes sont illustrées dans la Figure 4.

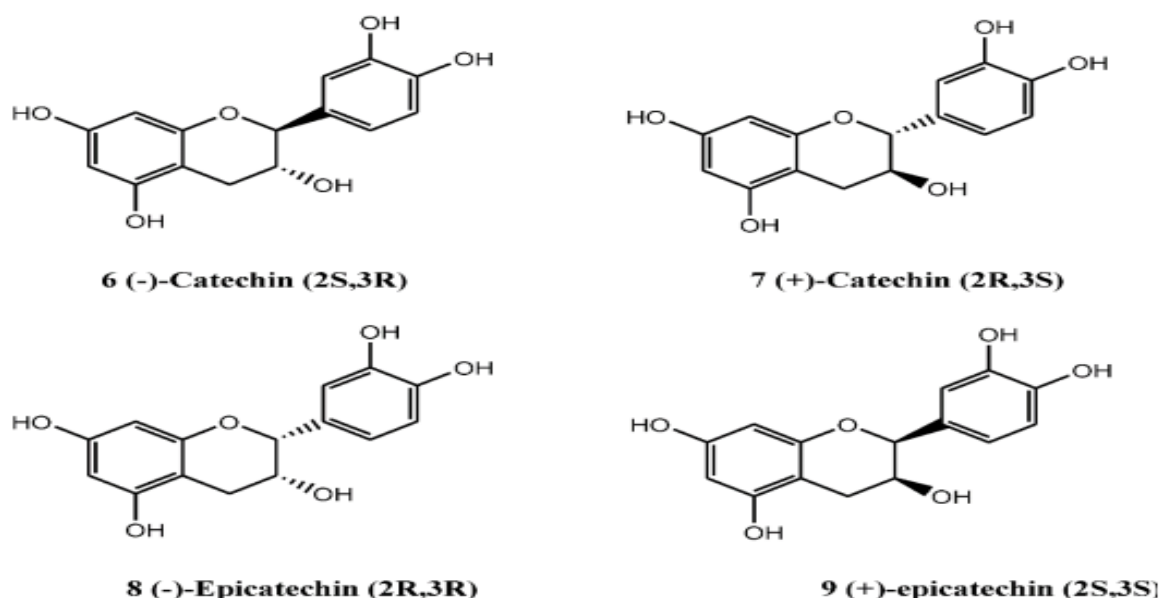


**Figure 4** : structure chimiques des flavonoïdes (Zulkiflee *et al.*, 2022).

## 6.1.1. Flavan-3-ols

Les flavonoïdes les plus répandus sont les composés flavan-3-ol, qui contiennent le groupe de fonction diortho-hydroxyle (catéchol) à l'anneau B. Sur la base des centres chiraux C-2 et C-3, il est possible de développer quatre stéréoisomères, à savoir les catéchines ( $\pm$ ) et les épicatechines ( $\pm$ ). Dans la plante, (-) -épicatechine semble être un monomère abondant, tandis que la (+) -catéchine est un composant mineur présent à la fois dans les parties aériennes et dans les cultures en suspension cellulaire (Nabavi *et al.*, 2015).

La figure ci-dessus représente les composés de catéchine flavan-3-ol de *C. monogyna*.



**Figure 5 :** les composés de catéchine flavan-3-ol de *C. monogyna* (Nabavi *et al.*, 2015).

## 6.1.2. Flavonols et glycosides de flavonol

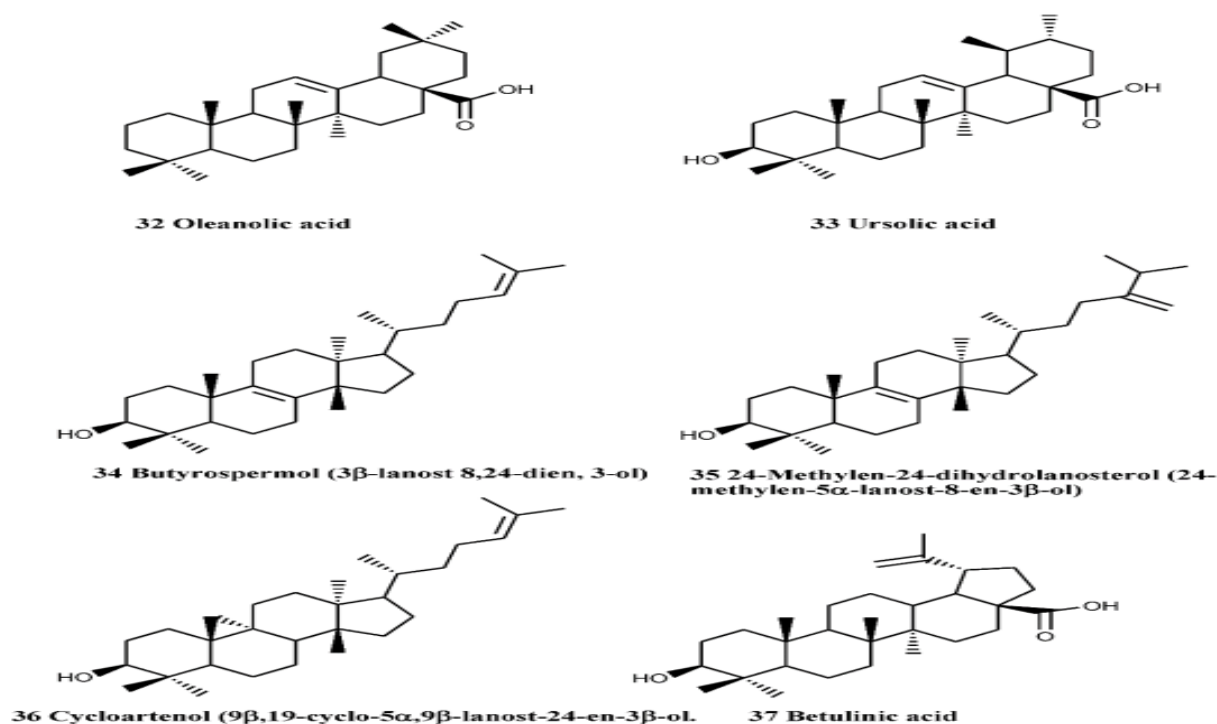
Les principaux flavonol aglycons sont la quercétine, le kaempferol et le sexangularetin (8-méthoxykaempferol), tandis que les hyperosides, l'isoquercitrine et la rutine sont les principaux glycosides de flavonol signalés dans l'aubépine (Yang et Liu, 2012).

## 6.2. Triterpènes

L'étude menée par Caligiani *et al.* (2013), a identifié plusieurs triterpènes dans les extraits de fleurs de *C. monogyna* en utilisant la méthode GC-MS (chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse). Les acides bétulinique, oléanolique et ursolique.

butyrospermol, le 24-méthylène-24-dihydrolanostérol et le cycloarténol, ainsi que des alcools aliphatiques simples, ont été isolés des parties aériennes de la plante (Nabavi *et al.*, 2015).

La figure suivante représente les triterpènes des parties aériennes de *C. monogyna*.



**Figure 6 :** les triterpènes des parties aériennes de *C. monogyna* (Nabavi *et al.*, 2015).

### 6.3.Acides Phénoliques

Les acides phénoliques sont des dérivés des acides cinnamiques et benzoïques que l'on trouve dans une grande variété de plantes, soit sous forme libre, soit sous forme liée. Les acides phénoliques sont connus pour leurs diverses bioactivités, notamment des activités antimicrobiennes, antioxydantes, antidiabétiques et anticancéreuses. Dans le métabolisme des glucides, les acides phénoliques sont surtout connus pour leur capacité à inhiber l'activité des enzymes  $\alpha$ -glucosidase et  $\alpha$ -amylase (Kashtoh & Baek, 2023).

### 6.4.Tanins

Les tanins sont des biomolécules polyphénoliques qui ont tendance à précipiter les protéines dans l'eau. Ils sont largement disponibles dans de nombreuses espèces végétales et agissent comme régulateurs de croissance et protecteurs contre les prédateurs des plantes. Dans la médecine traditionnelle, une variété de plantes riches en tanins est fréquemment utilisée par les

patients diabétiques pour traiter le diabète sucré et ses problèmes associés (Kashtoh & Baek, 2023).

### **7. Les activités biologiques de *Crateagus monogyna* J**

L'utilisation de l'aubépine comme substance médicale remonte à des siècles (Rigelsky et Sweet, 2002). Les recherches ont révélé que cette plante possède des activités biologiques très intéressantes, telles que des propriétés antioxydantes (Rababa'h *et al.*, 2020), anti-inflammatoires (Tadić *et al.*, 2008), antibactériennes (Martinelli *et al.*, 2021) et antihyperglycémiantes (Chahardahcharic et Setorki, 2018).

De nombreuses études ont également montré que l'aubépine est bénéfique pour diverses conditions médicales, telles que l'anxiété (Hanus *et al.*, 2003), la dépression, les maladies cardiovasculaires (Chang *et al.*, 2005), l'hypercholestérolémie (Lin *et al.*, 2011), les troubles hépatiques (Mecheri *et al.*, 2019), les syndromes neurologiques comme la maladie d'Alzheimer (Saoudi *et al.*, 2019), le cancer (Ma *et al.*, 2020), ainsi que les maladies gastriques (Tadić *et al.*, 2008) et rénales (Masteiková *et al.*, 2007).

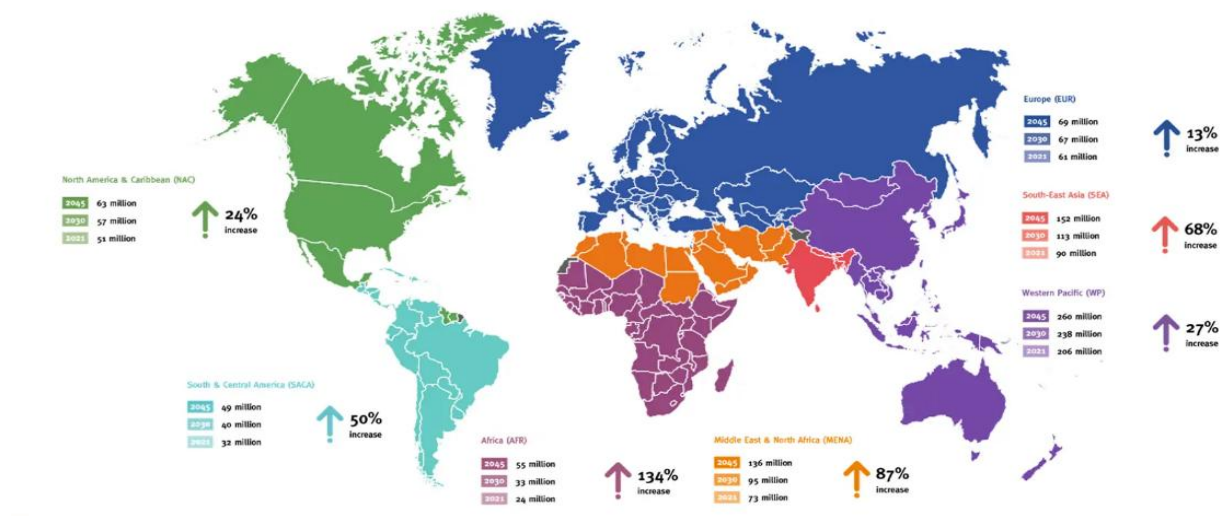
## II. Le Diabète

La première mention du terme "diabète" remonte à Araetus de Cappodocia (81-133 ap.J.-C.). Plus tard, vers la fin du XVI<sup>e</sup> siècle, Thomas Willis a ajouté le mot mellitus qui signifie miel doux après la redécouverte du goût sucré de l'urine et du sang des patients (Ahmed, 2002).

Le diabète mellitus (DM) se manifeste par des taux élevés de glucose dans le sang ou une hyperglycémie. Le développement du DM est causé par des anomalies dans la production d'insuline par les cellules  $\beta$  du pancréas ou dans la sensibilité à l'insuline et son utilisation par les tissus périphériques. Les individus souffrant de diabète présentent un risque élevé de contracter des maladies chroniques et des complications secondaires, telles que la neuropathie, la rétinopathie, la néphropathie et les maladies cardiovasculaires (Rachdaoui, 2020).

Entre 1980 et 2014, la fréquence de diabète presque triplé, passant de 4,7 % à 8,5 %, et devrait augmenter de 50 % d'ici 2045 (Rachdaoui, 2020). Environ 537 millions de personnes à travers le monde souffrent de diabète et Chaque année, 1,5 million de personnes meurent directement du diabète, selon les estimations de la Fédération internationale du diabète (FID). Selon Hacene *et al.* (2021), un adulte sur 16 souffre de diabète en Algérie.

La figure suivante présente le nombre d'individus âgés de 20 à 79 ans souffrant de diabète à l'échelle mondiale et par région selon les projections de la Fédération Internationale du Diabète (FID) pour les années 2021, 2030 et 2045.



**Figure 7 :** le nombre d'individus âgés de 20 à 79 ans souffrant de diabète à l'échelle mondiale et par région de la FID en 2021, 2030 et 2045.

La plupart (95%) des diabétiques ont un diabète de type 2 (DT2) et sont principalement des adultes (âgés de 20 à 79 ans). Toutefois, ces dernières années, on observe une augmentation inquiétante de l'incidence du DT2 chez les jeunes (20 ans et moins), principalement en raison d'une hausse spectaculaire du taux d'obésité infantile (Rachdaoui, 2020). La hausse importante du diabète de type 2 dans presque tous les pays fait de cette maladie une épidémie en plein croissance (Lovic *et al.*, 2018).

## 1. Le diabète de type 2

Le diabète de type 2 (DT2), également connu sous le nom de « diabète adulte » ou « diabète non insulino-dépendant », se distingue par une résistance à l'insuline. Plus précisément, il résulte d'une réaction inefficace du corps à l'insuline produite (Lovic *et al.*, 2018 ; Artasensi *et al.*, 2020). Plus la maladie se détériore, plus une carence en insuline peut également se produire (Lovic *et al.*, 2018).

Les individus souffrant de DT2 présentent une plus grande sensibilité à diverses complications à court et à long terme. Parmi les complications, on retrouve les affections macrovasculaires (hypertension, hyperlipidémie, crises cardiaques, coronaropathie, accidents vasculaires cérébraux et maladies vasculaires périphériques), les affections microvasculaire (rétinopathie, néphropathie et neuropathie) ainsi que les cancers (Wu, 2014) et troubles du système mental et nerveux (Zaccardi *et al.*, 2015).

La figure suivante présente les complications associées au diabète, Les données comprennent des complications vasculaires ainsi que des cas de cancer liés au diabète.

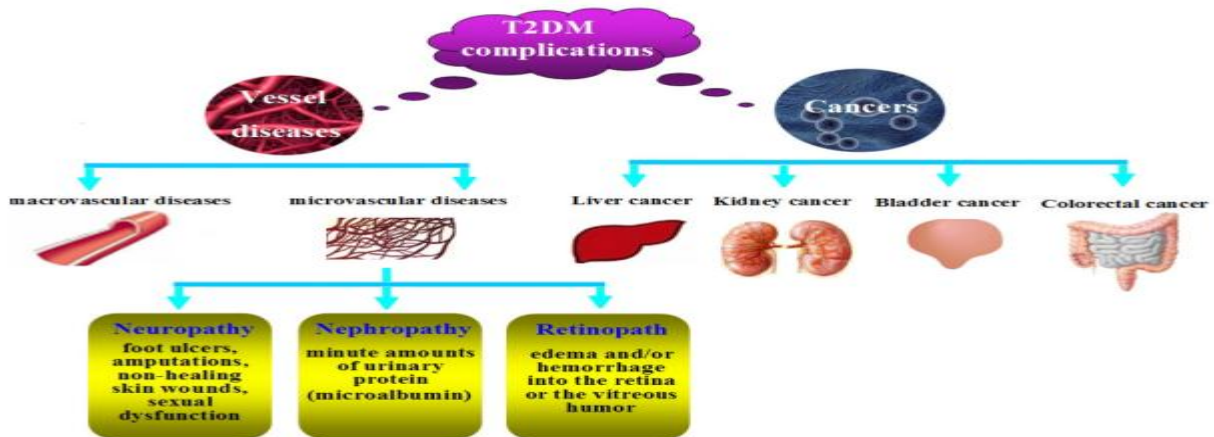


Figure 8 : les complications liées au diabète (Wu, 2014).

## 1.1. Symptomatologie du diabète de type 2

Selon la Fédération Internationale du Diabète, le diabète de type 2 partage certains symptômes avec le diabète de type 1 :

- Polydipsie (excès de soif) et xérostomie (bouche sèche) ;
- Polyurie (mictions fréquentes) ;
- Fatigue persistante et manque d'énergie ;
- Cicatrisation lente des plaies ;
- Infections cutanées récurrentes ;
- Problèmes de vision ;
- Sensation de fourmillements ou engourdissements dans les mains et les pieds.

Ces symptômes peuvent être légers ou absents, ce qui peut retarder le diagnostic chez certains individus atteints de diabète de type 2.

## 1.2. Facteurs de risque associés au diabète de type 2

Selon la Fédération Internationale du Diabète, les facteurs de risque incluent :

- Prédisposition génétique familiale au diabète ;
- Surpoids ou obésité ;
- Alimentation inadéquate ;
- Sédentarité ou manque d'activité physique ;
- Augmentation de l'âge ;
- Hypertension artérielle ;
- Ethnicité ;
- Antécédents de diabète gestationnel ;
- Intolérance au glucose (IGT).

## 1.3. Physiopathologie du diabète de type 2

Chez les individus en bonne santé, la sécrétion normale d'insuline en réponse à une injection de glucose suit un schéma biphasique. Une libération rapide et brusque d'insuline dans la circulation portale commence quelques minutes après l'administration de glucose, dure environ 10 minutes, et est suivie par une phase plus lente et prolongée de sécrétion d'insuline

qui débute à 10 minutes et dure entre 60 et 120 minutes. Ces deux phases de sécrétion d'insuline jouent un rôle crucial dans la régulation de la glycémie après les repas. La première phase inhibe la production de glucose par le foie tôt dans le processus digestif, tandis que la deuxième phase favorise l'absorption du glucose par les tissus périphériques, contrôlant ainsi les pics de glycémie postprandiaux.

Cependant, chez les individus atteints de diabète de type 2, qui présentent généralement une résistance à l'insuline, la capacité du corps à sécréter de l'insuline se détériore avec le temps. Initialement, les cellules productrices d'insuline peuvent compenser cette résistance en augmentant la sécrétion d'insuline. Mais à mesure que la maladie progresse, la première phase de sécrétion d'insuline se perd et la deuxième phase devient altérée. Cela entraîne des niveaux élevés de glucose dans le sang après les repas, souvent l'un des premiers signes de la progression du diabète. Une hyperglycémie à long terme résultant d'un diabète non traité peut entraîner diverses anomalies métaboliques dans le foie, le pancréas et les muscles. Malheureusement, au moment où les symptômes deviennent suffisamment perceptibles pour que les individus consultent un médecin, le diabète de type 2 peut déjà être présent, souvent non diagnostiqué, depuis de nombreuses années (Fonseca, 2003).

### **1.4. Diagnostic du diabète de type 2**

Les critères pour le diagnostic du diabète sont une glycémie à jeun  $\geq 126$  mg/dL (7 mmol/L), HbA1c (L'hémoglobine glyquée)  $\geq 6,5$  %, glycémie à 2 heures  $\geq 200$  mg/dL (11,1 mmol/L) lors d'un test HGPO (hyperglycémie provoquée par voie orale) ou glycémie à n'importe quel moment de la journée  $\geq 200$  mg/dL (11,1 mmol/L) chez un patient présentant des symptômes de diabète (Popoviciu *et al.*, 2023).

## **2. La contribution de l'hyperglycémie chronique aux complications liées au DT2**

L'hyperglycémie chronique, est aujourd'hui clairement liée au développement de complications micro et macro vasculaires liées au diabète (Stratton *et al.*, 2000 ; Darenskaya *et al.*, 2021). La présence d'hyperglycémie chronique entraîne un stress oxydant, Ce dernier pourrait contribuer aux lésions tissulaires, ce qui suggère son implication potentielle dans les complications du diabète. L'hyperglycémie chronique entraîne également la formation de produits de glycation avancée (AGE) par fixation irréversible du glucose sur les fonctions

amines des protéines. Les AGE, en étant reconnus par des récepteurs cellulaires, contribuent à l'apparition d'un stress oxydant (Bonnetfont-Rousselot *et al.*, 2004b).

Selon Stratton *et al.* (2000), Le UKPDS (United Kingdom Prospective Diabetes Study) a établi une corrélation entre le contrôle de la glycémie, mesurée par l'HbA1c (hémoglobine glyquée), et les complications associées au diabète. Toute réduction de l'HbA1c peut diminuer le risque de complications, avec le risque le plus faible observé chez ceux dont les valeurs d'HbA1c se situent dans la plage normale (< 6,0 %).

### 3. L'utilité de surveiller la période postprandiale

D'après les résultats d'études antérieures, l'hyperglycémie postprandiale contribue à 30 à 40 % de l'hyperglycémie totale du jour (Monnier *et al.*, 2003). Selon Stratton *et al.* (2000), une légère diminution de la glycémie peut potentiellement prévenir les décès causés par des complications liées au diabète, qui sont responsables de maladies cardiovasculaires et cérébrovasculaires, représentant 50 à 60 % de la mortalité chez les patients atteints de diabète.

Dans le diabète de type 2 (DT2), l'hyperglycémie postprandiale (HGPP) joue un rôle majeur dans les niveaux d'hémoglobine glyquée (HbA1c). Cela est associé à une augmentation du risque de complications cardiovasculaires, même lorsque le taux de sucre dans le sang est rétabli. L'HGPP provoque également une diminution graduelle de la fonction  $\beta$ -cellulaire et une réponse insuffisante et retardée à l'insuline postprandiale. Ainsi, la diminution des niveaux élevés de sucre dans le sang est une "cible" cruciale dans le traitement du diabète de type 2 afin de diminuer la sécrétion de cellules  $\beta$  et prévenir les complications cardiovasculaires (Jakubowicz *et al.*, 2021).

Dans ce contexte, les enzymes glucidiques digestives ( $\alpha$ -glucosidase et  $\alpha$ -amylase) sont indispensables pour augmenter l'hyperglycémie. Les monosaccharides sont libérés plus rapidement grâce à l'hydrolyse des liaisons  $\alpha$ -(1-4) entre les oligosaccharides. Cela provoque une augmentation de la glycémie, ce qui accroît le risque de diabète de type 2. L'inhibition de la  $\alpha$ -glucosidase et de la  $\alpha$ -amylase a donc été perçue comme l'une des approches les plus efficaces pour traiter le DT2 (Patil *et al.*, 2010).

D'après les résultats d'études antérieures, l'hyperglycémie postprandiale (HGPP) contribue à 30 à 40 % de l'hyperglycémie totale journalière (Monnier *et al.*, 2003). Stratton *et al.* (2000) ont montré qu'une légère diminution de la glycémie peut potentiellement prévenir les décès liés aux complications du diabète, responsables de 50 à 60 % de chez les patients diabétiques en raison de maladies cardiovasculaires la mortalité et cérébrovasculaires.

Dans le diabète de type 2 (DT2), l'HGPP influence fortement les niveaux d'hémoglobine glyquée (HbA1c) et est associée à un risque accru de complications cardiovasculaires, même lorsque la glycémie est contrôlée. L'HGPP entraîne également une dégradation progressive de la fonction des cellules  $\beta$  et une réponse retardée à l'insuline postprandiale. Ainsi, la réduction de la glycémie postprandiale est une cible cruciale dans le traitement du DT2 pour protéger la fonction des cellules  $\beta$  et prévenir les complications cardiovasculaires (Jakubowicz *et al.*, 2021).

Les enzymes digestives  $\alpha$ -glucosidase et  $\alpha$ -amylase jouent un rôle clé dans l'augmentation de l'hyperglycémie en hydrolysant les liaisons  $\alpha$ -(1-4) des oligosaccharides, libérant rapidement des monosaccharides et augmentant ainsi la glycémie. Par conséquent, l'inhibition de ces enzymes est considérée comme une approche efficace pour traiter le DT2 (Patil *et al.*, 2010).

### III. $\alpha$ -Amylase

#### 1. Les amylases

Les amylases sont des enzymes appartenant à la classe des hydrolases qui est la troisième classe (EC 3) dans le système de classification de la commission enzymatique, cette classe englobe toutes les enzymes qui catalysent l'hydrolyse d'une liaison, plus spécifiquement les amylases hydrolysent les liaisons glycosidiques présentes dans amidon pour donner un produit de dégradation comme le maltose et la dextrine (Janeček *et al.*, 2013).

Les amylases peuvent être des exoamylases en clivant les extrémités non réductrices de l'amidon ou des endoamylases en clivant les liaisons entre les unités de glucose dans les molécules d'amidon.

#### 1.1. Les types d'amylase

Les différences d'origine, de sites d'hydrolase et de produits de l'hydrolase ont entraîné l'existence de sous-types multiples d'amylase (Farooq *et al.*, 2021).

Le tableau ci-dessous représente ces différents sous-types.

**Tableau II** : les sous types d'amylase (Farooq *et al.*, 2021).

	$\alpha$ –amylase	$\beta$ –amylase	$\gamma$ –amylase
Numéro de commission enzymatique	EC 3.2.1.1	EC 3.2.1.2	EC 3.2.1.3
Nom Systématique	$\alpha$ -(1-4) D glucaneglucanohydrolase	$\alpha$ -(1,4)-D- glucanemaltohydrolase	$\alpha$ -(1-4) D- glucaneglucanohydrolase
Type d'hydrolyse	Endoamylases	Exoamylases	Exoamylases
Liaison rompu	les liaisons $\alpha$ (1 $\rightarrow$ 4) interne	les liaisons $\alpha$ (1 $\rightarrow$ 4) non réductrices	les liaisons $\alpha$ (1 $\rightarrow$ 4) et $\alpha$ (1 $\rightarrow$ 6) non réductrices
Origine	Animaux, plantes et micro-organismes	Végétaux supérieurs	Animaux, Moisissures, Bactéries

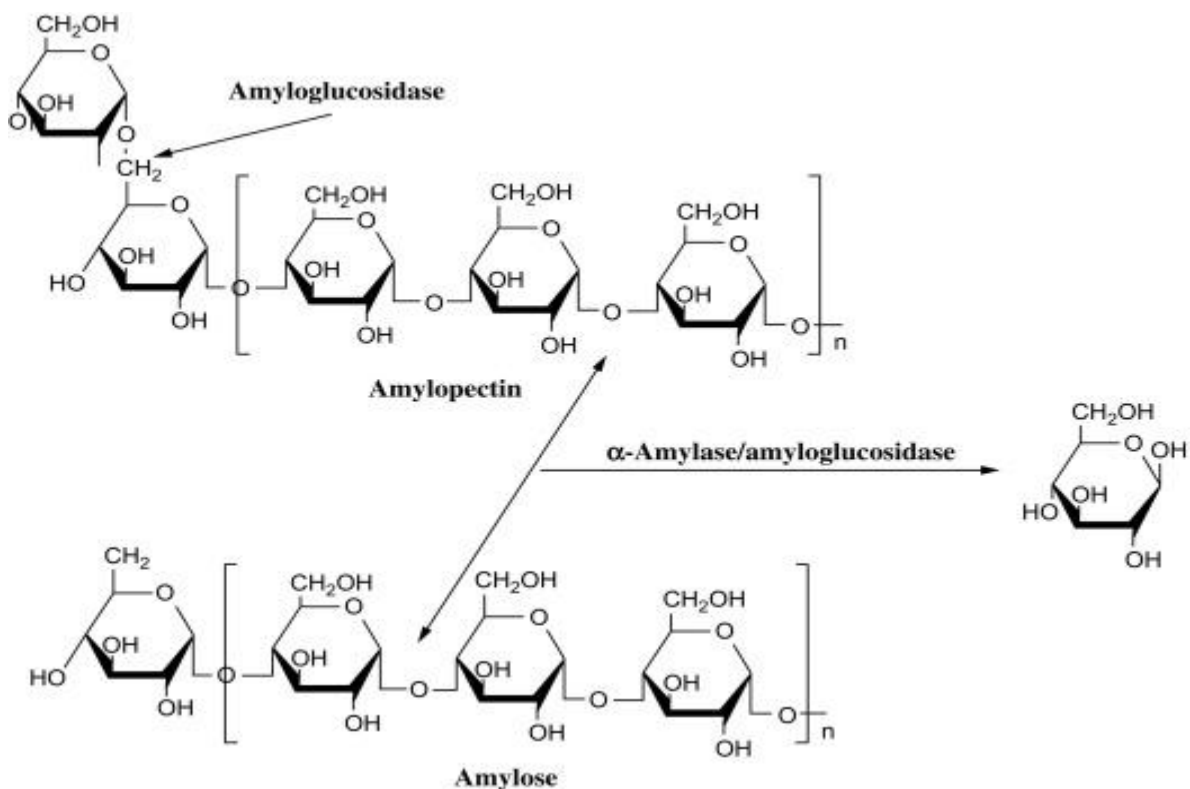
## 2. L' $\alpha$ -Amylase

Parmi toutes les différentes enzymes amyolytiques,  $\alpha$ -Amylase est la plus connue et la plus fréquemment étudiée jusqu'à ce jour (Janeček *et al.*, 2013).

$\alpha$ -Amylase (EC 3.2.1.1) scientifiquement connue sous le nom de  $\alpha$ -1,4-glucan-4-glucanohydrolase est une enzyme qui hydrolyse les chaînes de glucides telles que l'amidon et le glycogène en oligosaccharides plus courts composés de deux ou trois unités de glucose. Ce sont des enzymes extracellulaires qui hydrolysent la liaison  $\alpha$ -(1-4) entre deux unités de glucose adjacentes afin de produire des unités de glucose, de maltose et de maltotriose.

$\alpha$ -Amylase est un métalloenzyme contenant au moins un ion  $\text{Ca}^{2+}$  (Samrot et Vijay, 2008), qui joue un rôle crucial dans la dégradation de l'amidon en participant à l'initiation de ce processus (Tangphatsornruang *et al.*, 2005).

Elle est principalement présente chez les animaux, les végétaux et les microorganismes et selon les travaux de Mercier en 1985 leur importance n'est pas seulement dans leur application industrielle et biotechnologique mais aussi par leur implication dans certains troubles métaboliques tels que le diabète et l'obésité.



**Figure 9** : hydrolyse de l'amidon (Nadaroglu & Polat, 2022).

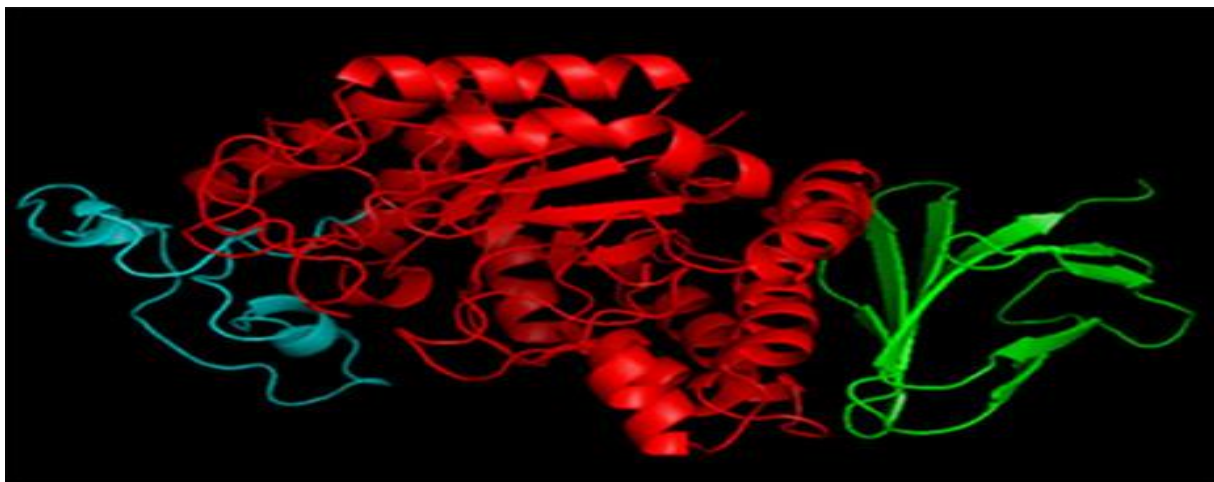
### 3. Les caractéristiques de l' $\alpha$ -amylase

Les caractéristiques des  $\alpha$ -amylases varient selon leur origine et leur espèce. D'abord, leur poids moléculaire peut être très différent, allant de 21 kDa et dans certains cas atteignant 120 kDa. Parallèlement, leur température optimale peut se situer entre 40 °C et 90 °C (Schaumburg, 1991). Bien que la majorité des  $\alpha$ -amylases soient stables à un pH de 4 à 7, certaines  $\alpha$ -amylases bactériennes ont un pH optimal beaucoup plus élevé, atteignant même un pH de 11.

### 4. La structure de l' $\alpha$ -Amylase

Selon les techniques de diffraction des rayons X, la structure de l' $\alpha$ -amylase pancréatique humaine a été déterminée à une résolution de 1,8 Å par Brayer *et al.* (1995).

La structure de l' $\alpha$ -amylase chez l'Homme se caractérise par la présence de 496 acides aminés formant une chaîne polypeptidique unique, codée sur le chromosome 1. Cet enzyme est composé de trois domaines structuraux A, B, C comme démontré par la figure 10 ci-dessous.



**Figure 10** : les domaines structuraux d' $\alpha$ -amylases. Le domaine A est en rouge, le domaine B en bleu cyan et le domaine C en vert (Mehta et Satyanarayana, 2013a).

Le domaine A est le plus grand, il a une structure en tonneau TIM contenant les résidus 1 à 99 et 169 à 404. Le terme TIM fait référence au triose-phosphate isomérase ou cette structure a été observée pour la première fois (Prakash et Jaiswal, 2009). Cette structure est également désignée par le canon  $(\beta/\alpha)_8$  car elle est constituée d'un pli très symétrique de huit brins  $\beta$  parallèles disposés dans un canon entouré de huit hélices  $\alpha$ .

La triade catalytique formant le site actif est composée de trois résidus : Asp 197, Glu 233 et Asp 300. Parallèlement, les résidus Arg 195, Asn 298 et Arg 337 sont liés à un ion chlorure qui élève supposément le pKa du résidu donneur d'hydrogène dans le site actif.

Contrairement au domaine A, le domaine B est le plus petit contenant les résidus 100 à 168 et ayant une structure riche en brins  $\beta$  (Brayer *et al.*, 1995). Il sert à lier l'ion calcium grâce aux résidus Asn100, Arg 158, Asp 167, et His 201. Cet ion est un cofacteur important pour son bon fonctionnement (Morris *et al.*, 2011).

Le troisième et dernier domaine est le domaine C, il est constitué des résidus 405 à 496 ce qui signifie qu'il constitue l'extrémité C terminale de la chaîne polypeptidique (Brayer *et al.*, 1995). Ce domaine possède une structure antiparallèle appelée  $\beta$ -sandwich qui contient un motif clé grecque.

Les deux derniers domaines B et C sont situés des côtés opposés du domaine A. Finalement il est important de noter que la Gln 1 de l' $\alpha$ -amylase pancréatique humaine subit une modification post-traductionnelle qui peut assurer une protection contre d'autres enzymes digestives (Brayer *et al.*, 1995).

### 5. Mécanisme d'action

L' $\alpha$ -amylase est une enzyme qui hydrolyse l'amidon en oligosaccharides plus petits à l'aide d'une molécule d'eau, le processus est expliqué ci-dessous.

Une fois le substrat est fixé par l'enzyme, la chaîne latérale d'Asp 197 procède à une attaque nucléophile sur le centre anomérique de l'amidon, en parallèle Glu 233 subit une catalyse acide donnant ainsi son proton au sucre lié par son C<sub>4</sub>. Cette étape entraîne la rupture de la liaison alpha (1-4) et la formation d'un intermédiaire glycosylique covalent, la chaîne latérale d'Asp 197 est liée au carbone C<sub>1</sub>.

Plus tard, une molécule d'eau pénètre dans le site actif, Asp 300 déprotone cette molécule qui active l'hydroxyde restant à une attaque nucléophile sur l'intermédiaire glycosylique ayant pour résultat le retour de l'enzyme à son état original et la production d'oligosaccharides et disaccharides.

### 6. Les inhibiteurs et les activateurs de l' $\alpha$ -Amylase

Les effecteurs, connus sous le nom d'activateurs ou d'inhibiteurs, peuvent jouer un rôle dans la régulation de l'activité enzymatique, en agissant directement ou indirectement sur le site actif de l'enzyme (Garrett et Grisham, 2000).

Le tableau ci-dessous représente ces différents effecteurs

**Tableau III**: liste des effecteurs de l' $\alpha$ -amylase (Mercier, 1985 ; Kadema *et al.*, 2012).

Les activateurs	Les inhibiteurs
Calcium	Maltose
Chlorure	Acarbose
Bromure	Fer
Nitrate	Mercure
Iodure	Argent
Phosphate	Cuivre

### 7. Le substrat d' $\alpha$ -amylase

L'amidon, dont la formule chimique est  $(C_6H_{10}O_5)_n$  ou n peut être compris entre cent et plusieurs milliers. C'est une source essentielle de nutrition et d'énergie pour les humains, les animaux, c'est un polymère glucidique complexe produit par diverses plantes a fin de stocker l'énergie.

L'amidon est composé d'amylose et d'amylopectine, l'amylose est une structure longue non ramifiée d'environ 200 à 1000 unités de D-glucose liées par liaison 1, 4. Il est soluble dans l'eau et représente la structure minoritaire d'amidon, environ 20 % seulement.

Tandis que l'amylopectine est une structure ramifiée d'unités de D-glucose, les liaisons présentes au point de ramification sont des liens 1,6. Il est insoluble dans l'eau et constitue la plus grande partie de l'amidon.

Même si l'amidon a une composition très simple, son métabolisme est très complexe, faussant intervenir diverses enzymes parmi eux l'alpha amylase. La figure 11 illustre la structure de l'amidon.

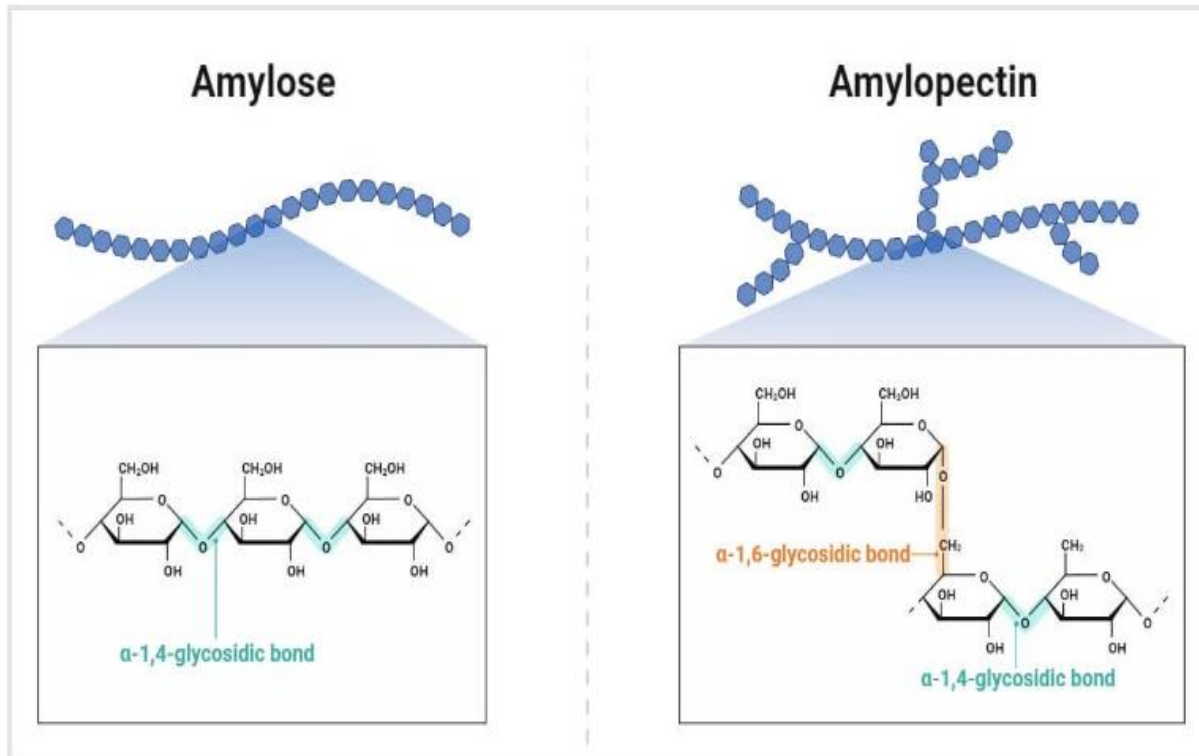


Figure 11 : la structure d'amidon (Shrestha, 2023).

# **Partie Expérimentale**

# **Matériel Et Méthodes**

## I. Matériels et Méthodes

### 1. Lieu de réalisation de notre mémoire

La présente étude a été réalisée au laboratoire de biochimie analytique et biotechnologie (LABAB), située au sein de la faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques, départements de biochimie-microbiologie, de l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

### 2. Site d'échantillonnage

Le village de Tazrart, situé dans la région de Makouda, dans la wilaya de Tizi-Ouzou, a été le site de prélèvement de l'échantillon en mars 2024. Tazrart se trouve à une latitude de  $36,81802^\circ$  nord et une longitude de  $4,05719^\circ$  est, ce qui en fait un emplacement idéal pour cette étude.

Tazrart est relativement accessible, entouré par Draâ Ben Khedda à 21 km au sud, Tizirt à 17 km au nord, et Tizi Ouzou à 19 km au sud-est. La figure suivante indique la localisation exacte du lieu de prélèvement de l'échantillon.



Echelle : 1/ 500 000

**Figure 12 :** localisation géographique de site de prélèvement de *Crataegus monogyna J.*

### 3. Matériel végétale

Le matériel végétal utilisé dans cette étude expérimentale s'agit des feuilles de *Crataegus monogyna J* récoltées à Tazrart, Makouda wilaya de Tizi-Ouzou en mars 2024.

## 4. Matériels et appareillages utilisés

Le tableau ci-dessous récapitule les appareillages et matériels de laboratoire employés lors de nos manipulations :

**Tableau IV :** un tableau détaillant l'équipement utilisé.

<b>Matériels et appareillages utilisés</b>	<b>Rôle</b>
<b>Agitateur magnétique et vortex</b>	Homogénéiser les mélanges réactionnels.
<b>Réfrigérateur</b>	Conserver les échantillons et les réactifs à basse température.
<b>Spectrophotomètre</b>	Mesurer l'absorbance des solutions colorées et quantifier les glucides.
<b>Balance de précision</b>	Peser avec exactitude les échantillons et les réactifs.
<b>Lyophilisateur</b>	Sécher et concentrer les extraits végétaux contenant les glucides.
<b>Centrifugeuse</b>	Séparer les phases solides et liquides des échantillons.
<b>Pipettes Pasteur</b>	Le transfert de petits volumes de solutions.
<b> Tubes à essais, flacons en verre</b>	Contenir les réactions et les mesures.
<b>Spatule</b>	Transfère précisément les échantillons solides d'un récipient à un autre.
<b>Mortier</b>	Broyer les échantillons solides.
<b>Éprouvette graduée, bécher</b>	Mesurer les volumes de solutions.
<b>Barreau aimanté</b>	Agiter les mélanges lors des dosages.

## Partie Expérimentale

---

Le tableau ci-dessous répertorie les produits chimiques utilisés et réactifs tout au long de notre étude :

**Tableau V** : un tableau récapitulatif des produits chimiques utilisés.

<b>Réactifs et produits chimiques</b>	<b>Rôle</b>
<b>Méthanol (99.7%)</b>	Extraction des flavonoïdes par solvant.
<b>Amidon</b>	Substrat de la réaction.
<b><math>\alpha</math> Amylase (3U/ml)</b>	Catalyse l'hydrolyse de l'amidon.
<b>AlCl<sub>3</sub> (2%)</b>	Le dosage des flavonoïdes.
<b>HCl (32%)</b>	Le dosage des alcaloïdes.
<b>FeCl<sub>3</sub> (5%)</b>	Le dosage des alcaloïdes.
<b>Colchicine</b>	Standard pour doser les alcaloïdes présents dans la plante.
<b>Quercétine</b>	Standard pour quantifier les flavonoïdes dans l'extrait de la plante.
<b>Eau distillée</b>	Solvant pour préparer les solutions.
<b>Acarbose (50 mg/ml)</b>	Inhibiteur de l' $\alpha$ -amylase.
<b>Acide 3,5-dinitrosalicylique</b>	Dosage des sucres réducteurs.
<b>Solution tampon</b>	Maintient le pH de la solution réactionnelle.

---

## 5. Méthodes

### 5.1. Lavage, séchage et broyage

Le séchage est la méthode la plus courante de conservation des plantes médicinales. Il est défini comme l'élimination finale du liquide des solides par évaporation à l'aide de la chaleur. De façon conventionnelle, on recommande des températures de séchage basses entre 30 et 50 °C pour protéger l'intégrité des molécules bioactives.

Dans notre étude expérimentale, les plateaux contenant les feuilles lavées ont été placés dans une étuve de laboratoire à 40 °C pendant une semaine pour sécher dans l'obscurité.



**Figure 13** : préparation du matériel végétale (1. Lavage 2. Séchage 3. Broyage).

### 5.2. Macération

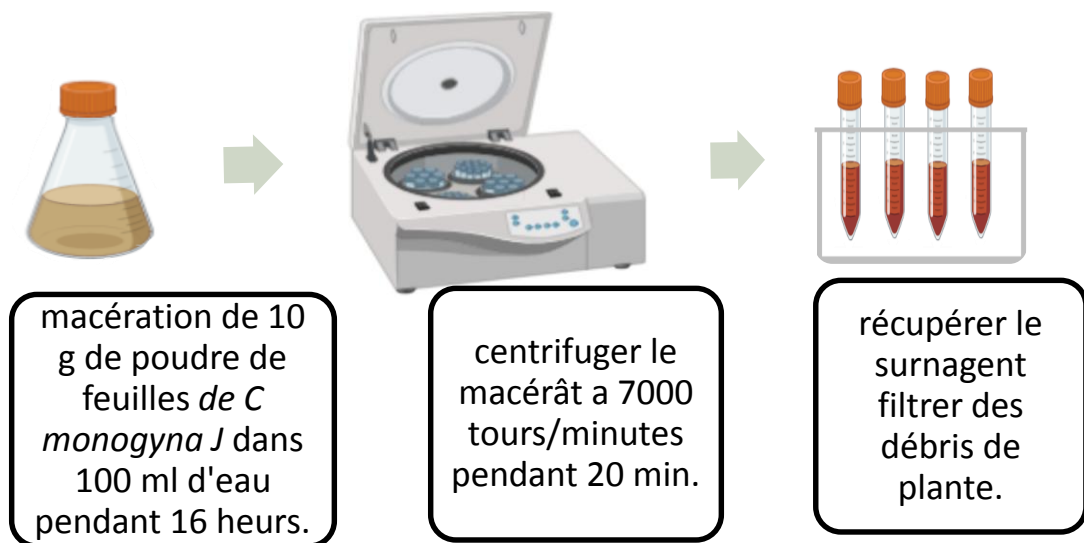
La macération est une des méthodes d'extraction les plus anciennes et les plus simples effectuées. Dans cette méthode, du matériel végétal en poudre sont immergés dans un solvant pendant une période de temps à température ambiante. Cette période prolongée de trempage, permet la solubilisation des bioactifs présent dans la plante.

Dans notre étude expérimentale, 10 g de poudre des feuilles de *C.monogyna J* a été macérée dans 100 ml d'eau distillée, à l'abri de la lumière pendant 16 heures. Puis on procède à

une centrifugation à 7000 tours pendant 20 min et on récupère le surnageant filtrer des débris de plants.

Il est important de ne pas dépasser une dizaine d'heures pour la macération à l'eau en raison du risque d'oxydation et fermentation de liquide.

La figure ci-dessous illustre la macération et la filtration de notre produit végétal.

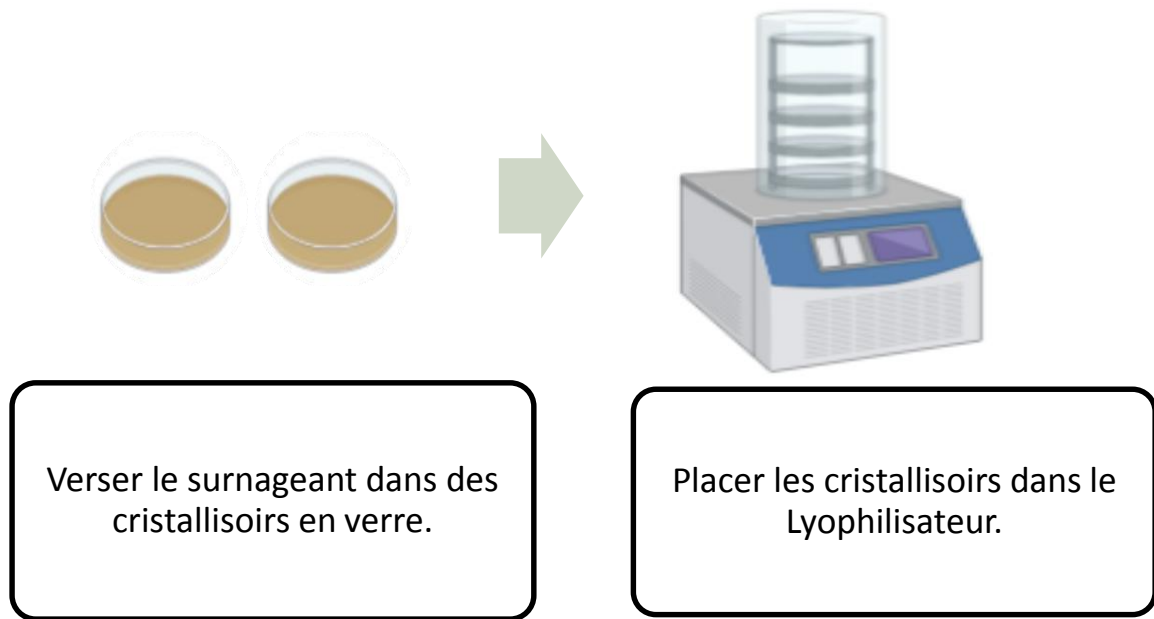


**Figure 14** : macération et filtration du matériel végétal.

### 5.3. Lyophilisation

La lyophilisation est un processus de séchage à basse température permettant de retirer l'eau contenue dans un produit. Le procédé est réalisé en maintenant le produit à une basse température sous vide et le produit obtenu est appelé lyophilisat.

Dans notre étude expérimentale, le surnageant récupéré a été placé dans des cristallisoirs en verre et lyophilisé afin d'obtenir un lyophilisat de *C. monogyna J*. La figure ci-dessous illustre le processus de lyophilisation de notre matériel végétal.



**Figure 15** : lyophilisation du matériel végétale.

### 6. Calcul du rendement d'extraction

Le rendement d'extraction est calculé par rapport à 10 g du matériel végétal sec selon la formule suivante :

$$\text{rendement}(\%) = \left(\frac{m_0}{m_1}\right) \times 100$$

**m<sub>0</sub>**: Masse en gramme de l'extrait sec obtenu après évaporation ;

**m<sub>1</sub>** : Masse en gramme de la matière végétale initiale sèche.

### 7. Dosage spectrophotométrique des métabolites secondaires

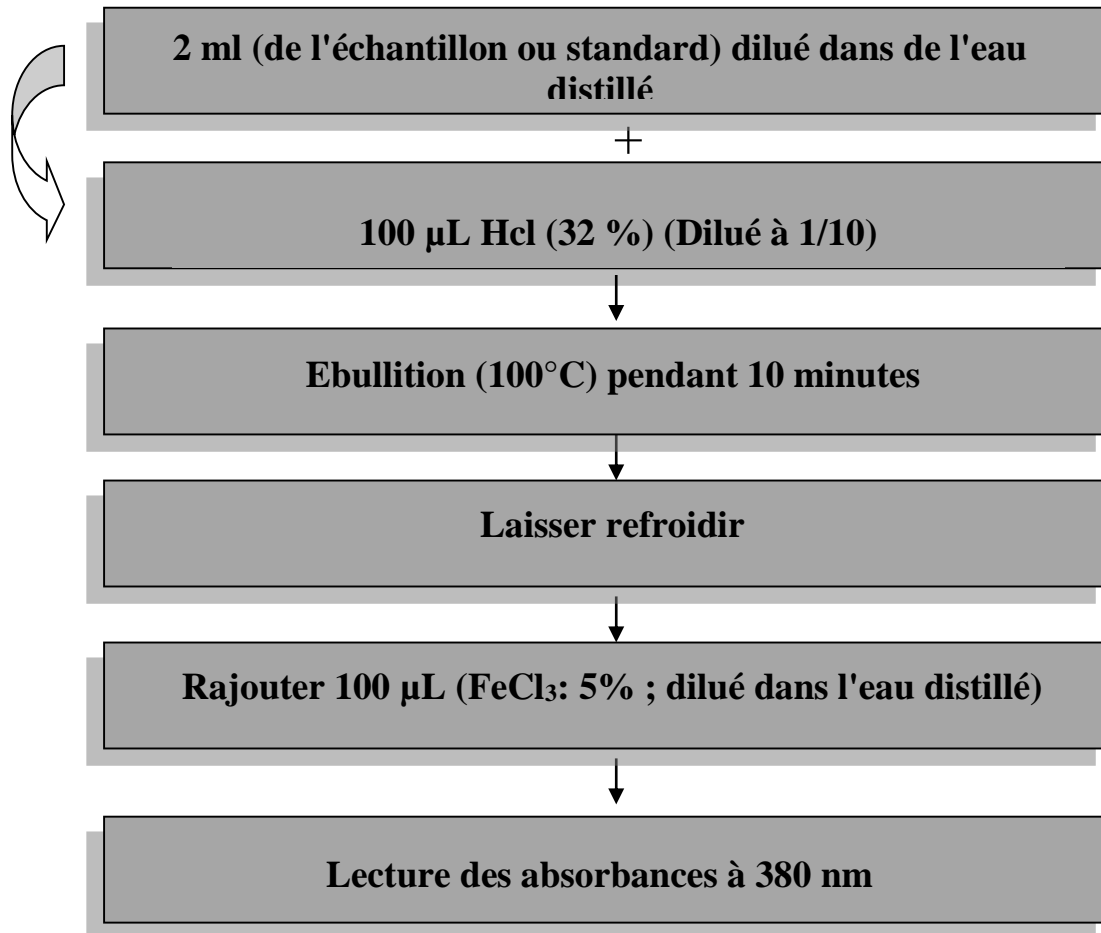
#### 7.1. Dosage des alcaloïdes

Le dosage spectrophotométrique des alcaloïdes a été réalisé conformément au protocole décrit par Patel *et al.*, (2015) et Tabasum *et al.*, (2016).

Pour calculer la teneur en alcaloïdes de l'extrait végétal de *Crataegus monogyna J.* Une courbe étalon a été conçue en se basant sur la colchicine comme référence. Intensité de la couleur, avec une absorbance maximale à 380 nm, est directement proportionnelle à la

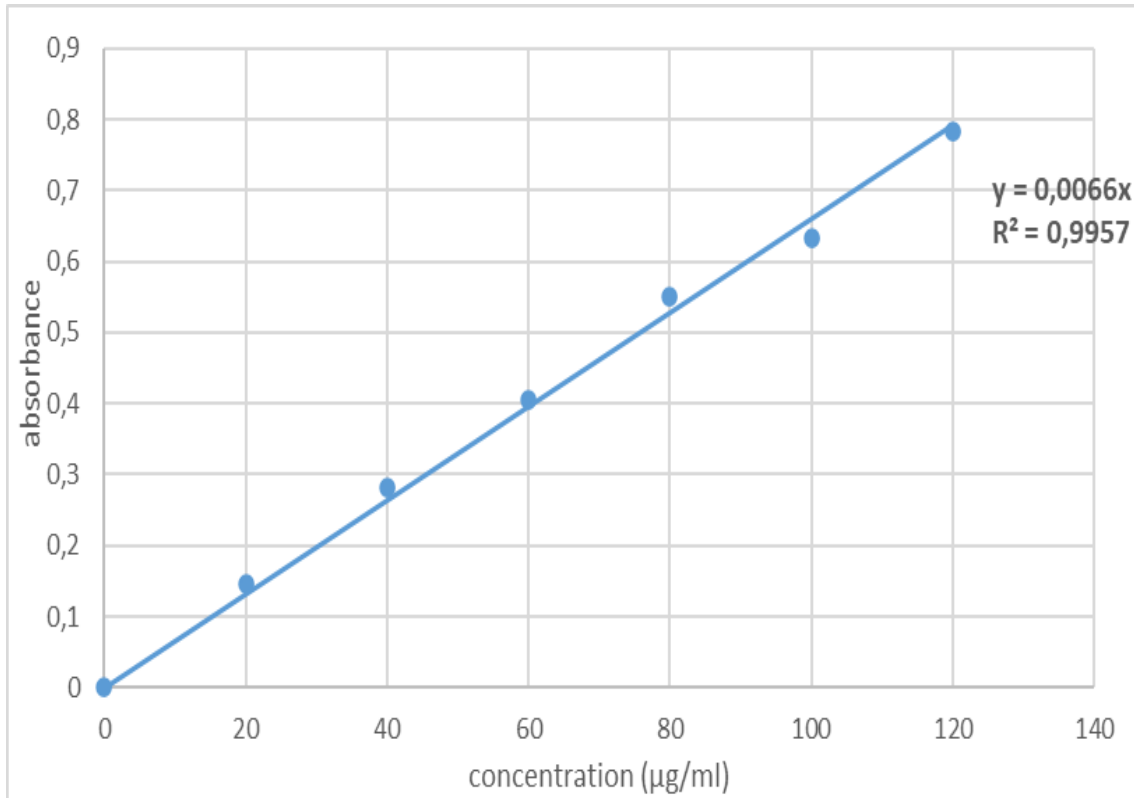
concentration d'alcaloïdes présents dans l'extrait végétal de *Crataegus monogyna J.* Lors de la mesure d'absorbance, un blanc a été utilisé, contenant tous les réactifs sauf les extraits.

En extrapolant les valeurs obtenues sur la courbe étalon, la concentration des alcaloïdes dans nos extraits a été déterminée. Les résultats sont exprimés en microgrammes équivalent de colchicine par milligramme extrait, selon le protocole illustré dans la figure Suivante :



**Figure 16 :** protocole de dosage des alcaloïdes.

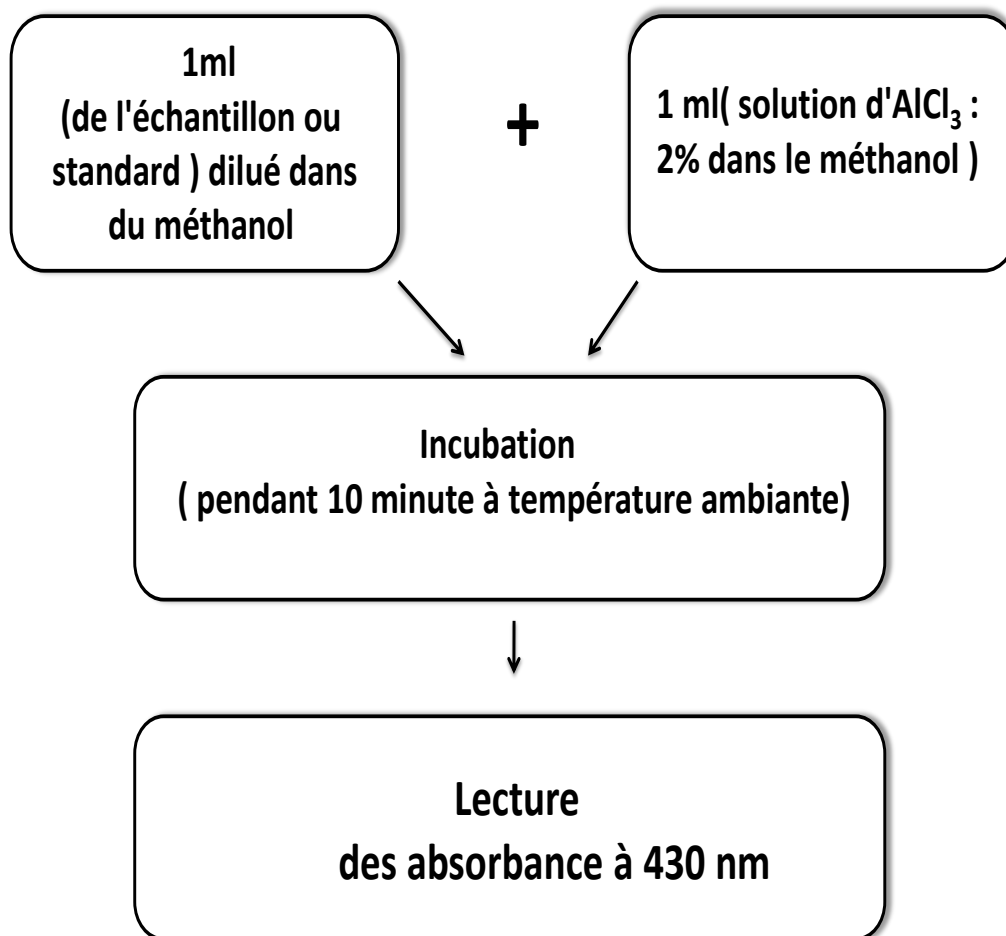
La figure suivante présente la courbe d'étalonnage de la colchicine.



**Figure 17** : courbe étalon de la colchicine.

### 7.2. Dosage des flavonoïdes

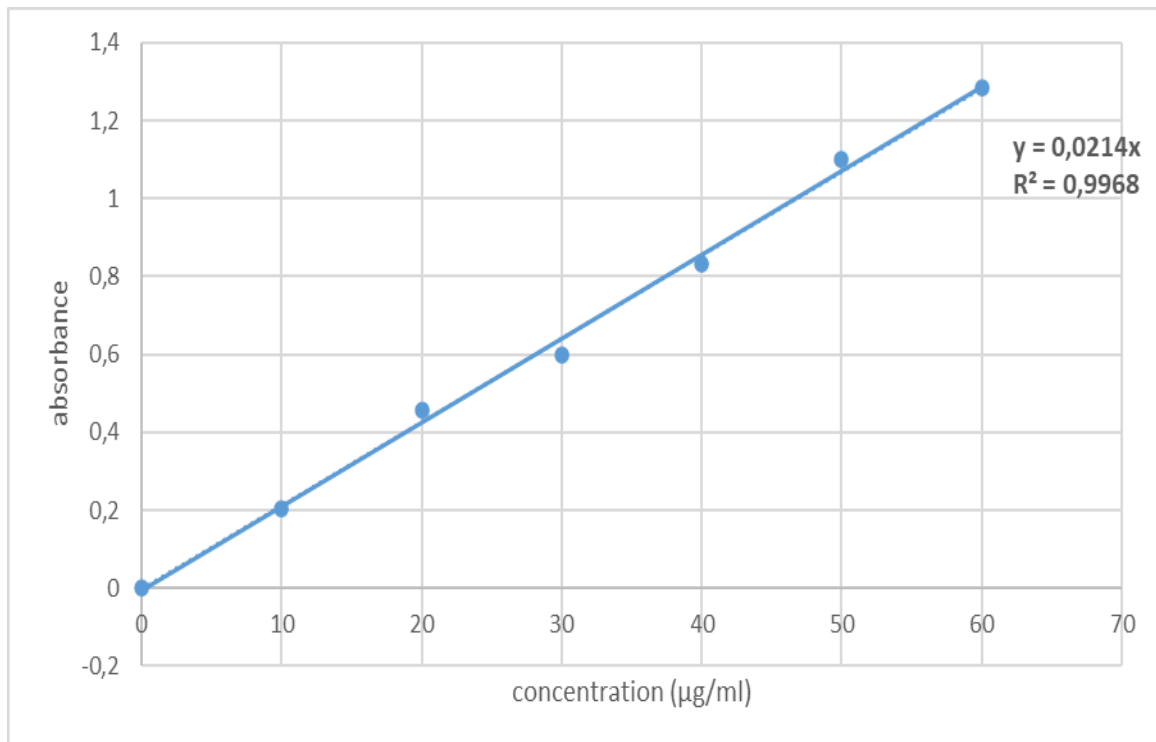
Le dosage des flavonoïdes dans l'extrait végétal de *Crataegus monogyna J* a été effectué en suivant la méthode décrite par Bahorun *et al.* (1996), dont le résumé est présenté dans la figure suivante :



**Figure 18** : protocole de dosages des flavonoïdes.

Pour évaluer la concentration de flavonoïdes, une courbe étalon a été établie en utilisant la quercétine comme référence. L'intensité de la couleur, avec une absorbance maximale mesurée à 430 nm, est directement proportionnelle à la concentration de flavonoïdes dans l'extrait végétal de *Crataegus monogyna J.* Lors de la mesure d'absorbance, un blanc a été utilisé, contenant tous les réactifs sauf les extraits.

Les résultats obtenus sont exprimés en microgrammes équivalents de quercétine par milligramme d'extrait. La figure suivante présente la courbe d'étalonnage de la quercétine, fournissant ainsi une référence essentielle pour quantifier la présence de quercétine dans notre échantillon.



**Figure 19** : courbe étalon de la quercitrine.

## 8. Méthode d'Évaluation de l'Inhibition Enzymatique de l' $\alpha$ -Amylase

### 8.1. Préparation des Échantillons et Mesure de l'Absorbance

La préparation des échantillons est une étape cruciale dans cette étude. Chaque échantillon est conçu pour représenter une condition spécifique de la réaction enzymatique.

- **Contrôle positif** : Mélange de 200  $\mu$ l d'enzyme et 400  $\mu$ l de substrat (amidon) dans 400  $\mu$ l de solution tampon PBS, représentant la réaction enzymatique normale sans inhibiteur (les concentrations sont dans l'annexe). Cela permet d'évaluer l'activité enzymatique maximale. La dégradation de l'amidon par l' $\alpha$ -amylase produit des sucres réducteurs qui réagissent avec 1 ml du réactif colorimétrique (DNS - acide 3,5-dinitrosalicylique), entraînant une augmentation de l'absorbance. Une absorbance élevée indique une activité enzymatique élevée, car plus de produits de dégradation de l'amidon sont présents.
- **Échantillon principal**: Préparé en combinant 200  $\mu$ l enzyme ( $\alpha$ -amylase), 400  $\mu$ l de substrat (amidon) et 200  $\mu$ l d'inhibiteur (Acarbose ou extrait de plante) dans 200  $\mu$ l de la solution tampon PBS (les concentrations sont dans l'annexe). Cette configuration permet d'explorer comment la présence de l'inhibiteur influence l'activité enzymatique. Lorsqu'un inhibiteur est présent, il réduit la capacité de l' $\alpha$ -amylase à dégrader l'amidon, ce qui entraîne une production moindre de sucres réducteurs. Par conséquent, l'absorbance sera plus faible.
- **Contrôle négatif** : 800  $\mu$ l de solution tampon PBS contenant uniquement 200  $\mu$ l d'inhibiteur (Acarbose ou extrait de plante), sans enzyme ni substrat (les concentrations sont dans l'annexe). Cela permet de mesurer toute absorption intrinsèque de l'inhibiteur.

L'absorbance est mesurée pour les trois conditions expérimentales : l'échantillon principal, le contrôle positif et le contrôle négatif, à une longueur d'onde de 540 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

### 8.2. Calcul des pourcentages d'inhibition

L'activité enzymatique a été considérée à 100% en absence de l'inhibiteur.

Les pourcentages d'inhibition sont calculés selon la formule suivante :

$$\textit{inhibition} (\%) = \left( 1 - \frac{\textit{Abs}(A) - \textit{Abs}(B)}{\textit{Abs}(C)} \right) \times 100$$

**Abs (A) :** Absorbance de l'échantillon ;

**Abs (B) :** Absorbance du Contrôle négative ;

**Abs (C) :** Absorbance du Contrôle positive.

# **Résultats Et Discussion**

## II. Résultats et Discussion

### 1. Rendement d'extraction

Le tableau suivant représente le rendement et les caractéristiques de l'extrait des feuilles de *Crateagus monogyna J.*

**Tableau VI :** Rendement et caractéristiques de l'extrait aqueux des feuilles de *Crateagus monogyna J.*

La partie de la plante	L'extrait	Rendement	Aspect	Solubilité	Couleur	Aspect après solubilisation
Feuilles	Extrait aqueux	1.67 %	Poudre	Eau distillée	Marron clair	Gélatineuse

Afin de préserver les activités biologiques des feuilles de *Crateagus monogyna J.*, une lyophilisation a été réalisée après la macération de 10 g de poudre des feuilles de *C.monogyna* dans de l'eau distillée.

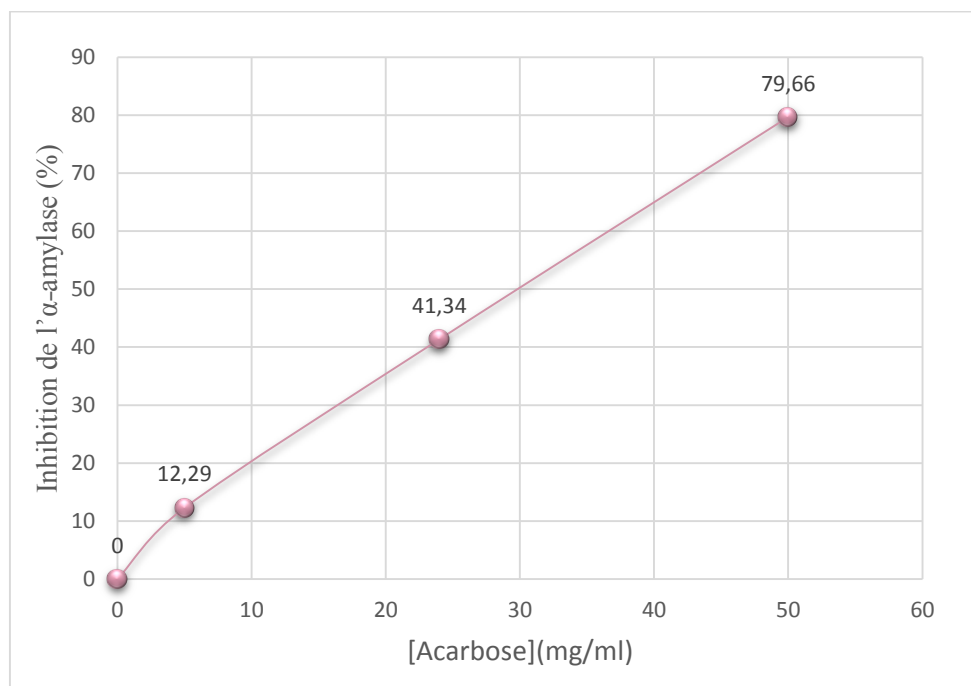
Le lyophilisat obtenu est d'une couleur marron clair et présente une bonne solubilité dans l'eau. Cependant, sa texture devient gélatineuse après hydratation, cela est probablement due à la présence de la pectine. Les pectines sont des polysaccharides complexes présents dans la plupart des plantes, leurs présences a été mise en évidence dans les feuilles de *Crataegus monogyna J* (Hamdaoui 2018).

Le rendement d'extraction obtenu est de 1,67 % équivalent à une quantité de 0,167g. En comparant ces résultats à ceux rapporté dans la littérature, notamment dans les travaux de Hamdaoui (2018) nous constatant une différence significative dans le rendement d'extraction qui est de 3,36 g par 15 g pour l'extrait aqueux des feuilles.

Dans les mêmes travaux, ils ont rapportés des rendements d'extraction variées pour différents extraits des feuilles de *C.monogyna J.*, avec un rendement de 1,11g pour l'extrait éthanolique et un rendement de 0,77 g pour l'extrait méthanolique.

Ces comparaisons soulignent l'importance des facteurs biotique telles que les différentes variétés et souches du plant, l'état physiologique de la plante et sante de la plante et l'importance des facteurs abiotique telles que la température, le pH, la durée de macération, le choix du solvant, la méthode d'extraction ainsi que la différence dans la région de récolte des plantes sur le rendement et les propriétés physiques de l'extrait. Ainsi l'optimisation de ces conditions pourrait améliorer significativement le rendement et la qualité de l'extrait des feuilles de *C.monogyna J.*

### 2. Inhibition de l' $\alpha$ -amylase par l'acarbose : étude dose-réponse



**Figure 20** : l'inhibition l'activité de l' $\alpha$ -amylase en fonction de la concentration de l'acarbose.

Le graphe présente le pourcentage d'inhibition de l'alpha-amylase par l'acarbose, utilisé comme contrôle positif, à trois concentrations distinctes : faible (5 mg/ml), moyenne (24 mg/ml) et élevée (50 mg/ml). Les résultats montrent une relation dose-réponse claire, où l'augmentation de la concentration de l'acarbose conduit à une augmentation du pourcentage d'inhibition de l'alpha-amylase.

À la plus faible concentration (5 mg/ml), l'acarbose montre un pourcentage d'inhibition modeste (12.29%). Ce résultat est attendu car, à de faibles doses, la quantité d'inhibiteur disponible est limitée, ce qui réduit sa capacité à bloquer efficacement l'activité de l'enzyme alpha-amylase.

En augmentant la concentration de l'acarbose à 24 mg/ml, nous observons une augmentation du pourcentage d'inhibition (41.34%). Cette augmentation peut être attribuée à une plus grande disponibilité de molécules d'acarbose pour interagir avec l'alpha-amylase, augmentant ainsi le nombre de sites enzymatiques inhibés.

À la concentration la plus élevée (50mg/ml), l'acarbose atteint son effet inhibiteur maximal (79.66%). Le pourcentage d'inhibition à cette concentration est le plus élevé, indiquant que la majorité des sites actifs de l'alpha-amylase sont occupés par l'inhibiteur.

Ces résultats soutiennent l'utilisation de l'acarbose comme contrôle positif et fournissent une base solide pour comparer l'efficacité des extraits des feuilles de *Crataegus monogyna J* dans l'inhibition de l'alpha amylase et potentiellement dans le traitement du diabète de type 2.

### 3. Effet inhibiteur de l'extrait aqueux des feuilles de *Crataegus monogyna J* vis-à-vis de l' $\alpha$ -amylase

Les Densités Optiques (DO) lu sur le spectrophotomètre sont rapporté dans le tableau ci-dessous ainsi que les pourcentages d'activité et d'inhibition d'alpha amylase.

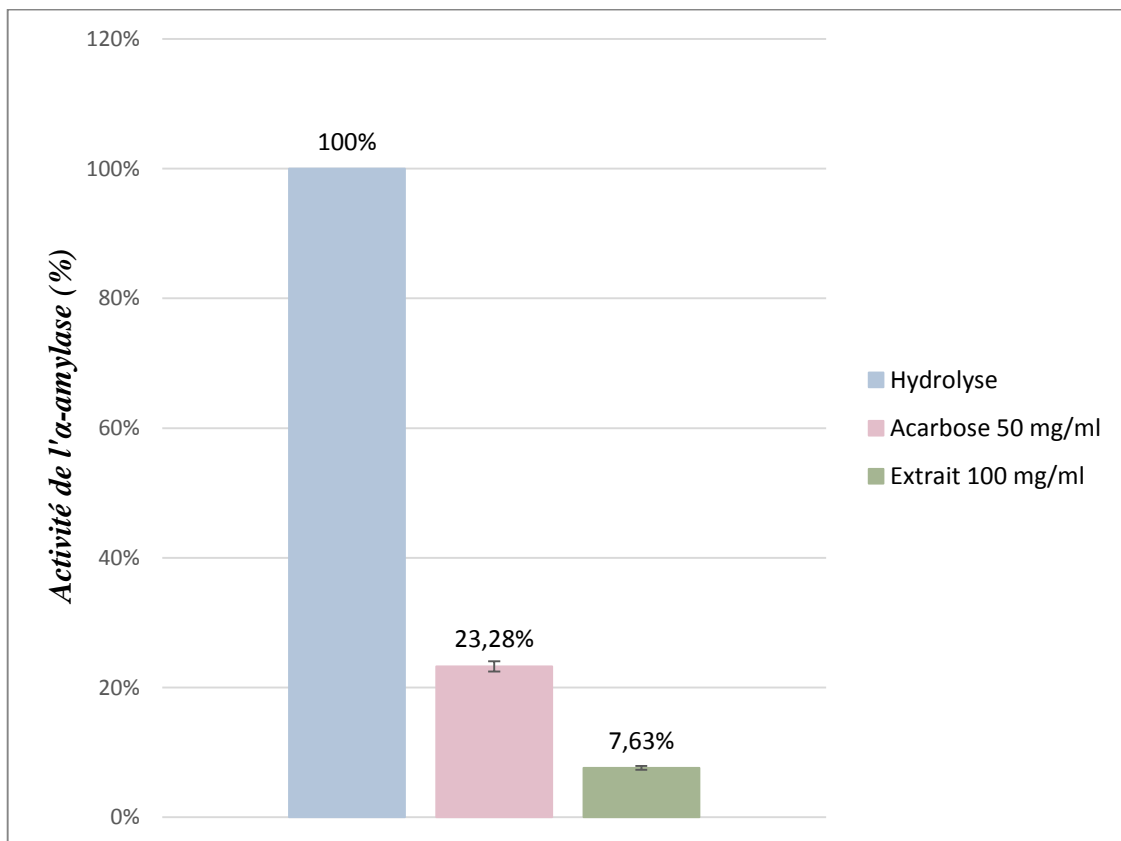
**Tableau VII:** les densités optiques (DO) et les pourcentages d'activité et d'inhibition de l'alpha amylase.

	En absence d'inhibiteur	En présence d'Acarbose	En présence de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Crataegus monogyna J</i>
<b>Les densités optiques (DO)</b>	0,537 ± 0,130	0,041 ± 0,099	0,125 ± 0,090
<b>Activité d'<math>\alpha</math>-amylase</b>	100 % ± 0,000	23,280 % ± 0,005	7,630 % ± 0,005
<b>Inhibition d'<math>\alpha</math>- amylase</b>	0 % ± 0,000	76,720 % ± 0,003	92,370 % ± 0,001

L'inhibition de l'enzyme digestive  $\alpha$ -amylase impliquées dans l'hydrolyse de l'amidon est une méthode efficace pour contrôler l'hyperglycémie postprandiale chez les patients atteints de diabète de type 2, dans notre étude, l'effet inhibiteur de l'extrait aqueux des feuilles de *Crateagus monogyna J* a été testé, en le comparant à l'Acarbose qui est un médicament inhibiteur d' $\alpha$ -glucosidase largement utilisé pour traiter le diabète de type 2.

Les résultats obtenus ont montré que l'extrait aqueux des feuilles de *Crateagus monogyna J* possède un effet inhibiteur très important de l' $\alpha$ -amylase.

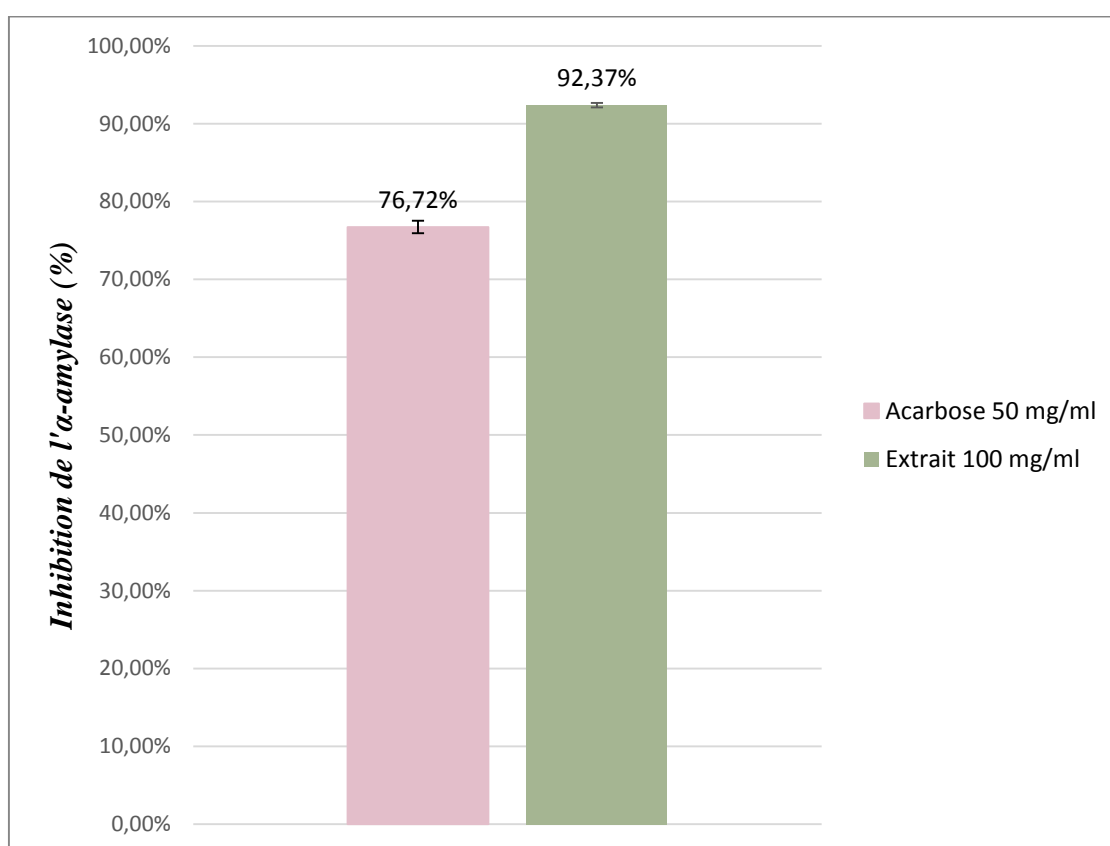
Figure 21 représente l'activité de l' $\alpha$ -amylase sous forme d'histogramme, l'activité de l'enzyme en absence d'inhibiteur est fixe à 100% servant de référence.



**Figure 21** : histogramme représentant les pourcentages d'activité de l'alpha amylase.

Lors que l'extrait aqueux des feuilles de *Crateagus monogynna J* est ajouté à la réaction, l'activité de l' $\alpha$ -amylase est réduite à 7,63 %. En comparaison, l'ajout du contrôle positif l'acarbose diminue l'activité enzymatique à 23,28 %.

Cette observation est confirmée par le second histogramme de la figure 22, représentant les pourcentages d'inhibition des inhibiteurs vis-à-vis l' $\alpha$ -amylase. Le pourcentage d'inhibition de l'extrait aqueux des feuilles de *Crateagus monogynna J* est de 92,37 %, ce qui est en accord avec la diminution de l'activité enzymatique observée dans la figure 22.



**Figure 22** : histogramme représentant les pourcentages d'inhibition de l'alpha amylase.

De manière similaire, l'acarbose montre une inhibition de 76,72 % qui est inférieure au pourcentage d'inhibition retrouvé par Pineda *et al.* (2022) qui est de 96,70 %, cette différence est probablement due à l'utilisation d'un médicament dont le principe actif est l'acarbose et pas de l'acarbose pure dans notre étude expérimentale.

En reliant ces données, il est clair que l'extrait aqueux des feuilles de *Crateagus monogynna J* a une grande efficacité, réduisant d'avantage l'activité enzymatique de l' $\alpha$ -amylase.

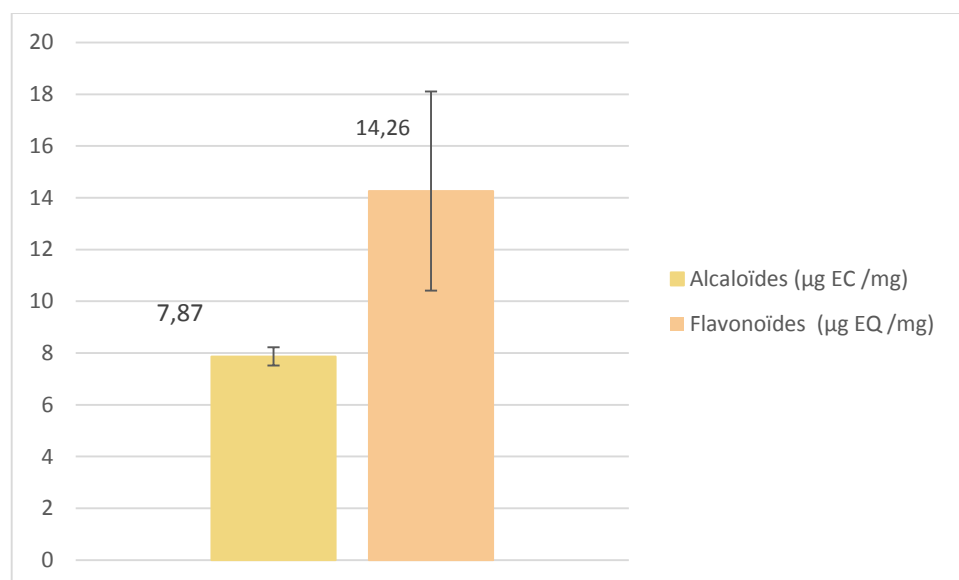
## 4. Dosage spectrophotométrique des métabolites secondaires

### 4.1. Dosage des alcaloïdes

En se référant aux protocoles Patel *et al.*, 2015 et Tabasum *et al.*, 2016, nous avons pu déterminer la teneur totale d'alcaloïdes présente dans notre extrait et cela a l'aide d'une courbe d'étalonnage préalablement établie en utilisant la colchicine comme standard.

On a rapporté et exprimé les quantités d'alcaloïdes en microgramme équivalent de colchicine par milligramme de matière sèche de notre extrait.

Les résultats de l'estimation quantitative des alcaloïdes dans notre extrait aqueux de feuilles de *Crateagus monogyna J* ont révélé une teneur de  $7,870 \pm 0,351$   $\mu\text{g EC /mg}$  de poids sec. Comme le montre la figure 23.



**Figure 23** : histogramme représentant les concentrations des métabolites secondaires présent dans les feuilles des *Crateagus monogyna J*.

La présence des alcaloïdes dans notre extrait a été imprévisible car de nombreux autres travaux scientifiques tels que les travaux de Belabdelli *et al.* (2021) sur les feuilles de *Crateagus monogyna J* récolté au ouest algérien plus précisément à sidi bel Abbas ont rapporté que ces métabolites sont absents dans les feuilles de *Crateagus monogyna J*.

L'origine géographique des échantillons, les conditions climatiques et écologiques, la saison de récolte, le processus de séchage, les procédures d'extraction et le type de solvant utilisé pourraient expliquer cette variation.

### 4.2. Dosage des flavonoïdes

La détermination de la teneur en flavonoïdes dans notre extrait de plante a été effectuée selon le protocole de Bahorun *et al.* (1996).

La quercitrine a été considérée comme témoin positif dans notre étude, ce qui nous a aidés à établir la courbe d'étalonnage utilisée ultérieurement pour déterminer la teneur en flavonoïdes de notre échantillon.

On a rapporté et exprimé les quantités de flavonoïdes en microgramme équivalent de quercitrine par milligramme de matière sèche de notre extrait.

La teneur en flavonoïdes dans nos extraits aqueux des feuilles de *Crataegus monogyna J* est de  $14,260 \pm 3,851$   $\mu\text{g}$  équivalent de quercitrine par milligramme de matière sèche. Comme le montre la figure 23.

D'après les résultats, il a été observé que la quantité totale de flavonoïdes présents dans notre extrait de feuilles de *C. monogyna* était plus élevée que celles retrouvées chez la même espèce. Ces valeurs signalées varient considérablement d'une région à l'autre.

En 2014, Keser *et al.* ont signalé que la teneur en flavonoïdes des feuilles de *C. monogyna* cultivées à Gaziantep, Turquie, était de  $2,428$   $\mu\text{g EQ/ mg}$  de poids sec dans l'extrait aqueux.

En parallèle, l'estimation quantitative des extraits aqueux des fleurs et des feuilles de *C. monogyna* récolté aux Maroc par Radi *et al.* (2023) ont révèle une quantité de flavonoïdes de  $0,33$   $\mu\text{g EQ/ mg}$  de matière sèche.

Alors qu'en 2018, les extraits de feuilles de *C. monogyna* testés par les chercheurs iraniens Alirezalu *et al.*, affichaient des valeurs de  $9,90$   $\mu\text{g EQ / mg}$  de poudre de feuilles. Cependant, la comparaison a été impossible en raison des différentes méthodes d'extraction.

Cette variation dans la composition chimique a été investiguée en 2001 par Jones *et al.*, puis plus tard par Abuashwashi *et al.*, en 2016, qui ont tous deux déclaré que cette différence est due à la différence dans la région de récolte des plantes.

En comparant nos résultats à la documentation scientifique disponible, nous avons remarqué que l'utilisation d'autres solvants pourrait entraîner une teneur plus élevée en flavonoïdes, comme l'ont indiqué Coimbra *et al.*, (2020) qui ont trouvé  $29,94$   $\mu\text{g EQ}$  par

milligramme de feuilles séchées de *Crateagus monogyna J* en utilisant le méthanol comme solvant.

La quercétine a montré une forte interaction avec l' $\alpha$ -amylase pancréatique, ce qui est mesuré par une haute fluorescence intrinsèque. Cela signifie que la quercétine se lie bien à cette enzyme. Cette interaction est due principalement à deux caractéristiques de la quercétine : Le motif catéchol. et La double liaison C2-C3 dans le cycle B.

En ce qui concerne la capacité redox de la quercétine, il a été rapporté que, en plus de ces deux caractéristiques, le groupe carbonyle en C-4 joue également un rôle important dans son activité. Le motif catéchol du cycle B est particulièrement important pour les interactions entre les flavonoïdes et les protéines.

Les flavonoïdes peuvent se lier aux résidus d'acides aminés Trp 58, Trp 59, Tyr 62, Gln 63 et Asp 197 sur l' $\alpha$ -amylase. Par exemple, la quercétine se lie par des liaisons hydrogène avec Gln63 et des forces de Van der Waals avec Leu 165. Ces interactions contribuent à l'effet inhibiteur de ce flavonoïde sur l'activité de l' $\alpha$ -amylase. (Martinez-Gonzalez et al., 2019)

D'après nos travaux, les extraits aqueux des feuilles de l'aubépine ont démontré un effet anti alpha amylasique. De plus, selon Medjber et Bechar (2022), dont le mémoire a été réalisé dans le même laboratoire que notre propre étude, les métabolites secondaires présents dans ces extraits ne se limitent pas à cet effet. Ils possèdent également des propriétés antioxydantes et anti- inflammatoires, comme l'ont montré leurs recherches sur les extraits aqueux des feuilles de l'aubépine. Cela souligne la diversité et la polyvalence des composés bioactifs présents dans ces plantes.

# **Conclusion**

## Conclusion

---

La présente étude explore les propriétés anti alpha amylasique des extraits aqueux des feuilles de *Crataegus monogyna J*, une plante médicinale largement utilisée en Afrique du nord pour ses bienfaits sur la santé. Cette recherche s'inscrit dans la quête de solutions naturelles et alternatives au traitement anti-diabétique conventionnel souvent associé à des effets secondaires indésirables.

Les résultats ont démontré que les extraits aqueux des feuilles de *Crataegus monogyna J*, possèdent une activité inhibitrice de l' $\alpha$ -amylase avec un taux d'inhibition de 92,32%. Cette inhibition pourrait contribuer à réduire l'hypoglycémie postprandiale, offrant ainsi un potentiel thérapeutique promoteur pour la gestion du diabète de type 2. De plus, les analyses colorimétriques ont révélé des concentrations de flavonoïdes et d'alcaloïdes dans les extraits, mesurés respectivement à  $14,260 \pm 3,851 \mu\text{g EQ /mg}$  et  $7,870 \pm 0,351 \mu\text{g EC/mg}$ , ce qui souligne davantage le potentiel thérapeutique de cette plante.

Les métabolites secondaires présents dans les extraits jouent un rôle crucial dans l'inhibition de l' $\alpha$ -amylase, renforçant ainsi les activités anti-hyperglycémique. Ces résultats suggèrent que cette plante pourrait être exploitée pour développer des traitements naturels contre le diabète, répondant à un besoin croissant de solutions plus sûres et moins invasives pour la gestion de cette maladie chronique.

Cependant, cette étude présente certaines limites. Les résultats obtenus sont basés sur des tests *in vitro*, et des études *in vivo* seraient nécessaires pour confirmer ces effets chez l'humain. De plus, la variabilité de composition chez des compositions chimiques des extraits en fonction des conditions de récolte et de préparation doit être prise en compte pour garantir une efficacité et une sécurité constante.

Pour les recherches futures, l'utilisation de techniques analytiques avancées telles que la résonance magnétique nucléaire (RMN), la spectrométrie de masse (MS) et chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) permettra de détecter et d'isoler les molécules responsables de ces effets, d'explorer leur mécanismes d'action précis et d'évaluer leurs potentiels thérapeutiques dans des modèles animaux et des essais cliniques, ouvrant la voie à leur utilisation future comme principes actifs pour des traitements contre le diabète. En outre, l'étude d'autres plantes médicinales locales pourraient enrichir le portefeuille de solution naturelle disponible pour la gestion du diabète.

## Conclusion

---

Cette étude apporte des preuves convaincantes du potentiel anti alpha amylasique de *Crataegus monogyna J* et ouvre la voie à des développements futurs dans le domaine de la phytothérapie anti-diabétique.

## A

Ahmed, AM (2002). Antécédents de diabète sucré. *Journal médical saoudien*, 23(4), 373-378.

Alirezalu, A., Salehi, P., Ahmadi, N., Sonboli, A., Aceto, S., Hatami, M. et Ebrahimi, SN (2018). Profil des flavonoïdes et activité antioxydante dans les fleurs et les feuilles d'espèces d'aubépine (*Crataegus spp.*) de différentes régions d'Iran. *Journal international des propriétés alimentaires*, 21(1), 452-470.

Artasensi, A., Pedretti, A., Vistoli, G. et Fumagalli, L. (2020). Diabète sucré de type 2 : examen des médicaments multi-cibles. *Molécules*, 25(8), 1987.

## B

Bahorun, T., Trotin, F., Pommery, J., Vasseur, J. et Pinkas, M. (1996). Activités antioxydantes des extraits de *Crataegus monogyna*. *Planta Medica*, 62(01), 59-61.

Belabdelli, F., Bekhti, N., Piras, A., Benhafsa, FM, Ilham, M., Adil, S. et Anes, L. (2021). Composition chimique, activité antioxydante et antibactérienne des extraits de feuilles de *Crataegus monogyna*. *Recherche sur les produits naturels*, 36(12), 3234-3239.

Bonnefont-Rousselot, D., Beaudoux, J.-L., Thérond, P., Peynet, J., Legrand, A. et Delattre, J. (2004). Diabète sucré, stress oxydant et produits de glycation avancée. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 62(3), 147-157.

Bouyahya, A., Omari, NE, Elmenyiy, N., Guaouguaou, F., Balahbib, A., Belmehdi, O., Salhi, N., Imtara, H., Mrabti, HN, El-Shazly, M., & Bakri, Y. (2021). Plantes médicinales antidiabétiques marocaines : études ethnobotaniques, composés phytochimiques bioactifs, investigations précliniques, validations toxicologiques et preuves cliniques ; défis, orientations et perspectives pour la gestion future du diabète dans le monde. *Tendances en science et technologie alimentaires*, 115, 147-254.

Brosse, J. (2000). *Larousse des arbres et des arbustes*. Larousse.

## C

Chahardahcharic, SV et Setorki, M. (2018). L'effet de l'extrait hydroalcoolique de *Crataegus monogyna* sur l'hyperglycémie, le stress oxydatif et les lésions du tissu pancréatique chez les rats diabétiques induits par la streptozotocine. *Journal de pharmacologie herbacée*, 7(4), 294-299.

Chang, WT, Dao, J. et Shao, ZH (2005). Aubépine : rôles potentiels dans les maladies cardiovasculaires. *Le Journal américain de médecine chinoise*, 33(01), 1-10.

Christensen, KI (1992). Révision de la secte *Crataegus*. *Crataegus* et *nothosect*. *Crataegineae* (Rosaceae-Maloideae) dans l'Ancien Monde. *Monographies systématiques de botanique*, 35, 1-199.

Coimbra, AT, Ferreira, S., Duarte, AP, Figueirinha, A. et Proença, C. (2020). Caractérisation phytochimique, évaluation des bioactivités et effet synergique des extraits d'*Arbutus unedo* et de *Crataegus monogyna* avec l'amphotéricine B. *Current Microbiology*, 77(9), 2143-2154.

Couplan, F. (2000). Dictionnaire étymologique de botanique : Comprendre facilement tous les noms scientifiques. Delachaux et Niestlé.

## D

Darenskaya, MA, Kolesnikova, LI et Kolesnikov, SI (2021). Stress oxydatif : rôle pathogénétique dans le diabète sucré et ses complications et approches thérapeutiques de correction. *Bulletin de biologie expérimentale et de médecine*, 171(2), 179-189.

## F

Farhat, R. (2007). Étude de la fraction lipidique et la composition en acides gras des huiles des fruits de : *Celtis australis* L., *Crataegus azarolus* L., *Crataegus monogyna* Jacq., *Elaeagnus angustifolia* L. et *Ziziphus lotus* L. (Mémoire de magister). Université El Hadj Lakhdar, Batna.

Fonseca, V. (2003). Importance clinique du ciblage de l'hyperglycémie postprandiale et à jeun dans la gestion du diabète sucré de type 2. *Recherche médicale et opinion actuelles*, 19(7), 635-631.

## H

Hamdaoui, M. et Mehdadi, Z. (2018). Valorisation biochimique et comportement germinatif de *Crataegus monogyna* Jacq. du mont de Tessala (Algérie occidentale).

Hänsel, R., Schulz, V. et Blumenthal, M. (2004). *Phytothérapie rationnelle : Un guide de référence pour les médecins et les pharmaciens*. Springer.

Hanus, M., Lafon, J. et Mathieu, M. (2003). Étude en double aveugle, randomisée et contrôlée par placebo, visant à évaluer l'efficacité et la sécurité d'une association fixe contenant deux extraits de plantes (*Crataegus oxyacantha* et *Eschscholtzia californica*) et du magnésium dans les troubles anxieux légers à modérés. *Recherche et opinion médicales actuelles*, 20(1), 63-71.

## I

Inflammatoires chez les patients souffrant d'angine de poitrine stable : un essai randomisé, en double aveugle, contrôlé par placebo. *Journal médical du Croissant-Rouge iranien*, 20(10), e68937.

## J

Jakubowicz, D., Wainstein, J., Tsameret, S. et Landau, Z. (2021). Rôle du petit-déjeuner à haute teneur énergétique « Big Breakfast Diet » dans la régulation du gène de l'horloge de l'hyperglycémie postprandiale et de la perte de poids dans le diabète de type 2. *Nutriments*, 13(5), 1558.

Jones, AT, Hayes, MJ et Hamilton, NRS (2001). L'effet de la provenance sur les performances de *Crataegus monogyna* en haie. *Journal d'écologie appliquée*, 38(5), 952-962.

## K

Kashtoh, H., & Baek, K. (2023). New Insights into the Latest Advancement in  $\alpha$ -Amylase Inhibitors of Plant Origin with Anti-Diabetic Effects. *Plants*, 12(16), 2944.

Keser, S., Celik, S., Turkoglu, S., Yilmaz, O. et Turkoglu, I. (2014). L'étude de certains composés bioactifs et propriétés antioxydantes de l'aubépine (*Crataegus monogyna* subsp. *monogyna* Jacq.). *Journal d'ethnopharmacologie interculturelle*, 3(2), 51.

Khan, MAB, Hashim, MJ, King, JK, Govender, RD, Mustafa, H. et Kaabi, JA (2019). Épidémiologie du diabète de type 2 – Charge mondiale de morbidité et tendances prévues. *Journal d'épidémiologie et de santé mondiale*, 10(1), 107.

## L

Lin, Y., Vermeer, MA et Trautwein, EA (2011). Les acides triterpéniques présents dans l'aubépine abaissent le cholestérol plasmatique en inhibant l'activité intestinale de l'ACAT chez les hamsters. *Médecine complémentaire et alternative fondée sur des données probantes*, 2011, 1-9.

Lovic, D., Piperidou, A., Zografou, I., Grassos, H., Pittaras, A. et Manolis, A. (2020). L'épidémie croissante de diabète sucré. *Pharmacologie vasculaire actuelle*, 18(2), 104-109.

## M

Ma, L., Xu, GB, Tang, X., Zhang, C., Zhao, W., Wang, J. et Chen, H. (2020). Potentiel anticancéreux du polysaccharide extrait de l'aubépine (*Crataegus*) sur la lignée cellulaire du cancer du côlon humain HCT116 via l'arrêt du cycle cellulaire et l'apoptose. *Journal des aliments fonctionnels*, 64, 103677.

Martinelli, F., Perrone, A., Yousefi, S., Papini, A., Castiglione, S., Guarino, F., Cikatelli, A., Aelaei, M., Arad, N., Gholami, M., & Salami, SA (2021). Caractéristiques botaniques, phytochimiques, antimicrobiennes et pharmaceutiques de l'aubépine (*Crataegus monogyna* Jacq.), Rosaceae. *Molécules*, 26(23), 7266.

Martinez-Gonzalez, A., Díaz-Sánchez, Á., De la Rosa, L., Bustos-Jaimes, I., & Alvarez-Parrilla, E. (2019). Inhibition of  $\alpha$ -amylase by flavonoids: Structure activity relationship (SAR). *Spectrochimica Acta. Part A, Molecular And Biomolecular Spectroscopy*, 206, 437-447.

Masteiková, R., Muselík, J., Bernatoniene, J., Majiene, D., Savickas, A., Malinauskas, F., Bernatoniene, R., Peciura, R., Chalupová, Z. et Dvorácková, K. (2007). Activité antioxydante des teintures préparées à partir de fruits d'aubépine et d'herbe d'agripaume. *Ceska a Slovenska Farmacie*, 56(1), 35-38.

Mecheri, A., Kacem, M., Benkhaled, A., Ghadjati, N., Benlamoudi, W. et Nouar, A. (2019). Effets hépatoprotecteurs des feuilles algériennes de *Crataegus oxyacantha*. *Brevets récents sur l'alimentation, la nutrition et l'agriculture*, 11(1), 49-59.

Mendiratta, P., Srivastava, AK et Yusuf, M. (2017). Importance pharmacologique de l'aubépine (*Crataegus monogyna*) : une brève revue. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 7(6), 130-132.

Monnier, L., Lapinski, H. et Colette, C. (2003). Contributions des augmentations de glycémie à jeun et postprandiale à l'hyperglycémie diurne globale des patients diabétiques de type 2 : variations avec l'augmentation des taux d'HbA1c. *Soins du diabète*, 26(3), 881-885.

Moon, YJ, Wang, X. et Morris, ME (2006). Flavonoïdes alimentaires : effets sur le métabolisme des xénobiotiques et des cancérigènes. *Toxicologie in Vitro*, 20(2), 187-210.

Motyka, S., Irzyniec, T., Pawlicki, M. et Celichowski, P. (2020). L'impact des polyphénols sur la tension artérielle et la fonction endothéliale : un examen complet. *Progrès en nutrition*, 22(1), 13-25.

Mroczek, T., Mazurek, J., Jankiewicz, U. et Chinou, I. (2012). Séparation et détermination des saponines triterpéniques de l'aubépine par chromatographie liquide haute performance couplée à la spectrométrie de masse en tandem à ionisation par électrospray. *Journal de Chromatographie A*, 1231, 111-119.

## N

Nabavi, SF, Habtemariam, S., Ahmed, T., Sureda, A., Daglia, M. et Sobarzo-Sánchez, E. (2015). Composition polyphénolique de *Crataegus monogyna* Jacq. : De la chimie aux applications médicales. *Nutriments*, 7(9), 7708-7728.

Naziri, Z., Rajaei, H. et Firouzi, J. (2015). Analyse phytochimique, activités antioxydantes et antibactériennes du fruit de *Crataegus monogyna*. *Acta Biologica Hungarica*, 66(2), 184-196.

## O

Ola, A., Amin, R., Abo-Ghalia, H. et Hamed, A. (2011). L'activité hypoglycémique des espèces de *Crataegus* : une revue. *Journal iranien des sciences médicales fondamentales*, 14(3), 236-241.

Orhan, DD, Hartevioğlu, A., Küpeli, E. et Yesilada, E. (2007). Activité anti-inflammatoire et antinociceptive in vivo de l'extrait brut et des fractions de fruits de *Rosa canina* L.. *Journal d'Ethnopharmacologie*, 112(2), 394-400.

## P

Patil, SM, Martiz, RM, Satish, AM, Shbeer, AM, Ageel, M., Al-Ghorbani, M., Ranganatha, L., Parameswaran, S. et Ramu, R. (2022). Découverte de nouveaux dérivés de la coumarine comme doubles inhibiteurs potentiels contre l' $\alpha$ -glucosidase et l' $\alpha$ -amylase pour la gestion de l'hyperglycémie postprandiale via des approches de modélisation moléculaire. *Molécules*, 27(12), 3888.

Pavlovic, R., Lakusic, B., Doslov-Kokorus, Z. et Kovacevic, N. (2017). Teneur en arbutine et activité antioxydante de certaines espèces d'Ericacées. *Pharmazie*, 64(10), 656-659.

Peña-García, J., Peña-García, J., Peña-Martínez, B., Peña-Martínez, M. et Peña-Martínez, E. (2016). Propriétés nutritionnelles et médicinales des espèces de *Crataegus*. *Aliments végétaux pour la nutrition humaine*, 71(3), 257-264.

Pineda, A., Arenas, A., Balmaceda, J., & Zúñiga, G. E. (2022). Extracts of Fruits and Plants.Cultivated In Vitro of *Aristotelia chilensis* (Mol.) Stuntz Show Inhibitory Activity of Aldose Reductase and Pancreatic Alpha-Amylase Enzymes. *Plants*, 11(20), 2772.

Popoviciu, MS, Paduraru, L., Nutas, RM, Ujoc, AM, Yahya, G., Metwally, K. et Cavalu, S. (2023). Diabète sucré secondaire aux maladies endocriniennes : une mise à jour des particularités diagnostiques et thérapeutiques. *Journal international des sciences moléculaires*, 24(16), 12676.

## R

Rachdaoui, N. (2020). Insuline : L'amie et l'ennemie dans le développement du diabète sucré de type 2. *Journal international des sciences moléculaires*, 21(5), 1770.

Ranjbar, S., Mahdavi, R., Alizadeh, BZ, Asghari Jafarabadi, M. et Ostadrahimi, A. (2018). Effets de *Crataegus monogyna* sur le profil lipidique sérique et les biomarqueurs

Rodrigo, R., Prat, H., Passalacqua, W., Araya, J. et Bächler, JP (2007). La diminution du stress oxydatif grâce à la supplémentation en vitamines C et E est associée à une réduction de la pression artérielle chez les patients souffrant d'hypertension essentielle. *Science clinique*, 114(10), 625-634.

## S

Shatoor, AS, Soliman, H., Al-Hashem, F., Gamal, BE, Othman, A. et El-Menshawy, N. (2012). Effet de l'aubépine (*Crataegus aronia* syn. *Azarolus* (L)) sur la fonction plaquettaire chez les rats albinos Wistar. *Revue européenne des sciences médicales et pharmacologiques*, 16(5), 688-694.

Shih, CC, Lin, CH et Wu, JB (2010). *Eriobotrya japonica* améliore l'hyperlipidémie et inverse la résistance à l'insuline chez les souris nourries avec une alimentation riche en graisses. *Recherche en phytothérapie*, 24(12), 1769-1780.

Stratton, IM, Adler, AI, Neil, HA, Matthews, DR, Manley, SE, Cull, CA, Hadden, D., Turner, RC et Holman, RR

Swanson, FA (1998). *Aubépine : Tonique cardiaque naturel*. Éditions Woodland.

## T

Tadi, P., Behiry, EG, Botros, SK et Ashraf, A. (2021). Diabète sucré de type 2. Dans *StatPearls*. Éditions StatPearls.

Tignokpa, M., N'Guessan, JD, Kra, AKM et Guédé-Guina, F. (1986). Les avancées récentes sur certaines plantes médicinales africaines à activité antidiabétique. *Journal d'Ethnopharmacologie*, 18(3), 209-233.

## W

Wang, ZS, Luo, P., Dai, SH, Liu, ZB, Zheng, XR et Chen, T. (2012). Effets hypoglycémiques et hypolipidémiques des saponines totales de *Momordica charantia* chez les rats HFD. *Toxicologie alimentaire et chimique*, 50(5), 1499-1507.

Wolf, PL, Williams, D. et Von der Muehll, E. (1992). Pathogenèse et traitement du stress oxydatif dans le diabète sucré. *Journal de pathologie clinique*, 45(6), 497-502.

Wu, Y., Ding, Y., Tanaka, Y. et Zhang, W. (2014). Facteurs de risque contribuant au diabète de type 2 et progrès récents dans le traitement et la prévention. *Revue internationale des sciences médicales*, 11(11), 1185-1200.

## X

Xu, Y., Yin, J., Xu, L. et Tao, X. (2015). Cardioprotection par l'acide oléanolique sur l'infarctus aigu du myocarde chez le rat. *Rapports de médecine moléculaire*, 12(3), 3537-3543.

## Y

Yao, X., Zhu, L., Chen, Y., Tian, J. et Wang, Y. (2019). Activité antioxydante in vivo et in vitro et effets inhibiteurs de l' $\alpha$ -glucosidase,  $\alpha$ -amylase des flavonoïdes des graines de *Cichorium glandulosum*. *Chimie alimentaire*, 139(1-4), 59-66.

## Z

Zaccardi, F., Webb, DR, Yates, T. et Davies, MJ (2015). Physiopathologie du diabète sucré de type 1 et de type 2 : une perspective sur 90 ans. *Journal médical postuniversitaire*, 92 (1084), 63-69.

Zhang, Y., Liu, Y., Zhu, K., Dong, Y., Cui, H., Mao, L., Xu, X. et Zhou, H. (2021). Études de toxicité aiguë et subchronique d'un nouveau composé antidiabétique, la mangiférine, chez des singes cynomolgus normaux. *Toxicologie réglementaire et pharmacologie*, 119, 104837.

Zullkiflee, N., Taha, H., & Usman, A. (2022). Propolis: Its role and efficacy in human health and diseases. *Molecules/Molecules Online/Molecules Annual*, 27(18), 6120.

### Site web

Anonyme: *Crataegus monogyna* Jacq. | Plants of the World Online | Kew Science. (n.d.).  
Plants of the World Online.  
<https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:723820-1>

Dylan. (2016, 1 avril). Is hawthorn Berry a blood thinner – a better heart naturally - Perfect health at home. Perfect Health At Home.

<https://perfecthealthathome.com/is-hawthorn-berry-a-blood-thinner-a-better-heart-naturally>

Morgenstern, K. (2020, 26 avril). Gardening Jobs in March - Sacred Earth. *sacredearth.com*.  
<https://sacredearth.com/2020/04/26/why-hawthorn-is-your-hearts-best-friend/>

Santamaría, V. (2014). *Crataegus monogyna*.

<https://floressilvestresdehormaza.blogspot.com/2014/02/crataegus-monogyna.html>

Shrestha, P. (2023, 10 novembre). *Starch : Structure, composition, Properties, uses, types*. Microbe Notes.

<https://microbenotes.com/starch>

Nadaroglu, H., & Polat, M. S. (2022). Microbial extremozymes : Novel sources and industrial applications. Dans *Elsevier eBooks* (p. 67-88).

<https://doi.org/10.1016/b978-0-12-822945-3.00019-1>

# Annexes

---

## Annexe 1

### 1. Préparation du tampon phosphate 20 mM (pH 6,9) contenant 6,7 mM de chlorure de sodium

Pour préparer 250 ml du tampon phosphate 20 mM (pH 6,9) contenant 6,7 mM de chlorure de sodium, les étapes suivantes ont été suivies :

- Dissolution de 0,6 g de sodium phosphate dans de l'eau distillée, suivie de l'ajustement du volume à 250 ml.
- Addition de 0,00975 g de chlorure de sodium.
- Homogénéisation.
- Mesure du pH à l'aide d'un pH-mètre et ajustement à 6,9 avec de l'acide chlorhydrique ou de l'hydroxyde de sodium au besoin.

### 2. Préparation de l'acide 3,5-dinitrosalicylique (3,5-DNS)

Le réactif DNS a été préparé selon les étapes suivantes :

- Préparation de la solution A : dissolution de 4 g d'acide 3,5-dinitrosalicylique dans 80 ml d'eau distillée chauffée à 100 °C.
- Préparation de la solution B : dissolution de 6,4 g de NaOH dans 60 ml d'eau distillée.
- Mélange des solutions A et B, suivi de l'ajout de 120 g de tartrate de sodium et de potassium.
- Ajustement du volume à 200 ml avec de l'eau distillée.

### 3. Préparation de la solution d'amidon à 3,2%

La solution d'amidon à 3,2% a été préparée en dissolvant 3,2 g d'amidon dans 100 ml de tampon phosphate 20 mM (pH 6,9) contenant 6,7 mM de chlorure de sodium.

# Annexes

---

## Annexe 2

### **4. Préparation de la solution d'acarbose 50 mg/ml**

La solution d'acarbose a été préparée en dissolvant 10 comprimés (CORECT, BIOPHARM) dans 10 ml de tampon phosphate 20 mM (pH 6,9) contenant 6,7 mM de chlorure de sodium.

### **5. Préparation de la solution enzymatique (alpha amylase à 3 U/ml)**

La solution enzymatique a été préparée en dissolvant 2,3 mg d'alpha-amylase dans 1 ml d'eau distillée, suivie d'une dilution décimale pour obtenir une concentration finale de 3 U/ml.

### **6. Préparation de l'extrait végétal (*Crataegus monogyna* Jacq 100 mg/ml)**

L'extrait végétal a été préparé en dissolvant 100 mg de l'extrait d'aubépine dans 1 ml d'eau distillée.