



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et populaire



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة أمحمد بوقرة – بومرداس-  
Université M'Hamed Bougara de Boumerdes

Faculté des Sciences  
Département de Biologie

### MEMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du **Diplôme de Master en Biologie**

**Domaine** : Sciences de la Nature et de la Vie

**Filière** : Sciences Biologiques

**Spécialité** : Biologie des Populations et des Organismes

### Thème :

*L'effet anti enzymatique de l'extrait méthanolique  
de la plante sophora japonica L.*

### Présenté par:

- Gaouaoui Dhaouia
- Si mohamed Samia

Soutenu, devant le jury composé de :

Mme BOUCHENAK Ouahiba	MCA	UMBB	Présidente
Mme BENHABYLES-BOUTTABA Narimen	MCB	UMBB	Promotrice
Mme BOUMAZA Sarah	MCB	UMBB	Examinatrice

**Année universitaire 2020 /2021**

# Remerciements

Nous remercions tout d'abord le bon Dieu, le tout puissant qui nous a donné le pouvoir, le courage et la patience pour élaborer ce mémoire.

Nous tenons à remercier vivement

Notre promotrice : Mme BENCHABYLES

.qu'elle trouve ici l'expression de notre vive reconnaissance pour sa disponibilité, son aide, ses conseils, ainsi qu'à ses qualités relationnelles et humaines.

Notre présidente Mme BOUCHNAK d'avoir accepté de présider ce jury et d'apporter son appréciation sur notre travail.

Mme BOUMAZA qui nous a fait l'honneur d'examiner ce travail.

Enfin, nos sentiments de reconnaissance et nos remerciements vont à tous ceux qui ont manifesté leur soutien de près ou de loin dans la réalisation de notre travail.

Merci à tous....

## Dédicaces

Toutes les lettres ne sauraient trouver le mots qu'il faut...

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, Le respect, la reconnaissance...

Aussi, c'est tout simplement que

Je dédie ce thème

À Mon très cher père, Merci pour tout ce que tu fais pour moi papa,

À Ma très chère maman, Que Dieu le tout puissant te préserve

À Mes deux frères Abd El Aziz et Abd assalam

À Ma collègue Dhaouia et sa fille tasnim

À Ma sœur Nesrine

À Ma famille

Samia

## **Dédicaces**

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

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

Je dédie mes chères parents, pour leurs encouragements, leur tendresse, leur amour et leur soutien durant mes études.

À mon mari Saïd.

À mes chères frères Nadjib et Amine.

À ma petite fille Djana Tasnime.

À ma collègue Samia.

À toute ma famille et belle famille.

**Dhaouia**

# Sommaire

---

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

**Introduction** ..... 1

## **Chapitr1 .Synthesebibliographique**

I..Le diabète.....

I.1. Définitiondediabète .....3

I.2 Classification dediabète .....3

I.2.1 Le Diabète detype1 ..... 3

I.2.2 Le Diabète detype2 ..... 4

I.2.3 Autres typesde diabète ..... 4

I.3 La physiopathologie..... 4

**II. La plante sophora japonica .L.**.....6

II.1. Présentation delaplante .....6

II.2. Origine..... 6

II.3. La classification delaplante..... 6

II .4 Lacomposition biochimique .....7

II .5Description botanique.....7

II .6 L'intérêt médicinal et pharmaceutique de laplante..... 8

III. L'effet enzymatique.....10

III.1.1 Définition del'alphaamylase..... 10

III.1.2 Nomenclature ..... 11

III.1.3 Rôle del'amylase..... 11

III.1.4 Structure del' $\alpha$ -amylasepancréatique ..... 12

III.1.5. Mode et mécanisme d'action del' $\alpha$ -amylase..... 12

# Sommaire

---

III.2. La lipase.....	14
III.2.1 Définition delipase .....	14
III.2.2 Le rôle delalipase .....	14
III.2.3 La structure delalipase.....	14

## Chapitre II: Matériel et méthodes

I. Matériel .....	15
I.1. Matériel végétal.....	15
I.2. Présentation de larégiond'étude .....	17
II. Méthodesd'étude.....	17
II.1. Extractiondespolyphénols .....	19
II.1.1.Macération .....	19
II.2.Etude in vutro de l'activité antidiabétique de l'extrait méthanolique de la plantesophora japonica.	
Evaluation de l'activité de l' EMSP sur la glycemie de rats normoglycemique .....	19
II.2.1.Test de mise en évidence de l'effet hypoglycémiant de l'EMSP.....	21
II.2.2. Test de toléranceauglucose.....	21
II.3...Evaluation in-vitro de l'activité de l'extrait de plante sur l'α-amylase et l'α glucosidase.....	2.2
II.3.1. Evaluation de l'activité de l'EMSP sur l'alpha-amylase.....	22
II.3.2 Evaluation de l'activité de l'EMSP sur l'alpha-glucosidase .....	22
II.4 Evaluation de l'activité antilipase.....	23
II.4.1 Test d'inhibition de la lipase .....	23

## Chapitre III: Résultats et discussion

I. Analysephytochimique .....	25
II.1. Analyse quantitative del'extraitméthanolique.....	25
II.1.1 Dosage des polyphenols.....	25
III. Etude de l activite antidiabétique .....	26

## Sommaire

---

III.1.	Effet hypoglycémiant et hyperglycémiant de L'EMSJ.....	26
III.2.	Activite de L'EMSJ sur l'alpha-amylase et alpha-glucosidase.....	26
III.3.	Activite de L'EMSJ sur la lipase.....	27
	Conclusion.....	28
	Reference Bibliographique.....	29

## **Liste des abréviations**

**A**: Absorbance.

**ADA** : Association américaine de diabète.

**EAG** : Equivalent Acide Gallique.

**EC** : Equivalent Catéchine .

**EOA** : Espèces oxygénées activées.

**EMSJ** :Extrait Méthanolique de Sophora Japonica.

**G0** : Glycémie basale.

**IC50** : Concentration inhibitrice.

**MS** : Matière sèche.

**MODY** : Maturity –Onset Diabètes of the Yong.

**OMS** : Organisation Mondiale de la santé.

**PC** : Poids corporel.

**WHO** : World Health Organization.

**UKPDS** : United Kingdom Prospective Diabetes Study.

## **Liste des figures**

**Figure 1.** Structure d'une  $\alpha$ -amylase pancréatique humaine.

**Figure 2.** Structure de lipase.

**Figure 3.** Les gousses de la plante sophora japonica.L.

**Figure 4.** Les gousses sèches de la plante sophora japonica.

**Figure 5.** La poudre végétale de la plante sophora japonica L.

**Figure 6.** Carte géographique de la région de Boumerdes indiquant la zone de récolte.

**Figure 7.** Schéma récapitulatif des différentes étapes de travail..

## Liste des tableaux

**Tableau1.** Classification botanique de *sophora japonica* (Linné , 1830).

# **INTRODUCTION**

## Introduction

---

Le diabète est dû à un excès de sucre dans le sang. C'est l'insuline qui permet normalement de réguler la glycémie (taux de sucre). En cas de diabète, on remarque une carence en insuline ou une résistance à l'action de cette hormone. Le corps devient incapable d'utiliser le glucose (sucre) comme source d'énergie. Celui-ci s'accumule dans le sang au lieu d'être absorbé par les cellules, provoquant ainsi des hyperglycémies (brusques élévations du taux de sucre dans le sang). Une glycémie supérieure à 1,26g/l le matin à jeun ou supérieure à 2 g/l dans la journée indique un diabète. Le traitement du diabète consiste essentiellement en la prise par voie orale de médicaments ou en injections d'insuline. Les plantes et compléments alimentaires naturels peuvent également soulager les symptômes associés au diabète et aider au stockage-déstockage des sucres

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

L Nord de l'Algérie possède une flore extrêmement riche et variée, caractérisée par son originalité sur le plan systématique (de nombreuses plantes endémiques) et sa large utilisation dans la médecine populaire. Ces caractéristiques rendent l'étude de la flore d'un grand intérêt scientifique dans le domaine photochimique (Zellagui et al., 2011). Parmi les familles des plantes médicinales qui constituent le couvert végétal, se trouve la famille des *fabaceae* (Boudjouref, 2011).

*Sophora Japonica* L. est l'arbre des pagodes de la famille des *fabaceae*, originaire de l'Asie orientale, cet arbre est un légumineux à feuilles caduques essentiellement présent en Chine qui a été introduit au Japon (Méne, 1885). Selon notre recherche bibliographique, aucune étude phytochimique de cette plante n'a été rapportée, c'est pour cela, que nous nous sommes intéressés de mettre en évidence les caractéristiques de cette plante et l'activité anti-enzymatique de son extrait méthanolique. Dans ce contexte, quatre parties vont être présentées:

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

- La deuxième partie est consacrée à une étude expérimentale ainsi que le matériel et les méthodes utilisées pour cette étude.
- La troisième partie est dédiée à la présentation des différents résultats bibliographiques obtenus et leur discussion.
- Et enfin une conclusion qui résumera l'ensemble du travail réalisé.

# **CHAPITRE I**

## **SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE**

### I. Lediabète

#### I.1. Définition du diabète

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

#### I.2. Classification du diabète

La nouvelle classification des diabètes distingue le diabète de type 1 (anciennement diabète insulino-dépendant), detype2(quiregroupelamajoritédesdiabètesnoninsulinodépendants), et les«autresdiabètesspécifiques»(oudiabètessecondaires).Laclassificationdudiabèterepose sur l'étiologie et / ou la pathogénie de chaque type de diabète, parmi les type les plusfréquent ; on distingue le diabète de type1 (environ 5 à 10% de la population diabétique), et le diabète de type2 (90 à 95%).

##### I.2.1. Le Diabète de type1

Le Diabète de type1 (diabète insulino-dépendant DID ou juvénile) est une maladie majoritairement auto-immune, représente environ 10% des cas de diabète mondiaux.

Il apparait le plus souvent chez l'enfant et le jeune adulte. C'est une maladie auto-immune conduisant à une destruction sélective et progressive des cellules  $\beta$  pancréatique, productrice de l'insuline. Le processus auto-immun des cellules  $\beta$  débute plusieurs années (**5 à10 ansvoir plus**) avant le début du diabète. L'évaluation de la glycémie suppose une destruction de 80 à 90% des cellules  $\beta$  (Grimaldi et *al.*, 2009).

### **I.2.2. Le Diabète de type 2**

Le diabète de type 2 (non insulino-dépendant DNID) Ce type de diabète débute généralement après l'âge de 40 ans et représente 90% de l'ensemble des cas mondiaux. Est un trouble de l'assimilation, de l'utilisation et du stockage des sucres apportés par l'alimentation. Ce diabète se caractérise par une hyperglycémie dont la symptomatologie est souvent moins bruyante que dans le diabète de type 1 (Capeau et Hermelin, 1994). C'est la conséquence d'une anomalie sécrétoire de l'insuline par les cellules endocrines associée à une résistance à l'action de l'insuline. A l'opposé du diabète de type 1, il se caractérise par la découverte fortuite d'une hyperglycémie chez un adulte ayant le plus souvent un surpoids. Le diabète de type 2 est souvent associé à une hypertension artérielle essentielle et/ou à une hypertriglycéridémie. Bien qu'il soit également appelé "diabète de la maturité", le diabète de type 2 est de plus en plus fréquent chez les enfants et les jeunes adultes à cause du mode de vie actuel (manque d'exercice, nourriture trop riche) (Grimaldi, 2009).

### **I.2.3. Autres types de diabète**

Parmi les autres types de diabètes, on cite :

Le diabète gestationnel qui correspond à un trouble de la tolérance glucidique apparaissant entre la 24<sup>ème</sup> et la 28<sup>ème</sup> semaine de grossesse et disparaissant après l'accouchement (Rodier, 2001).

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

et les diabètes secondaires liés à une pathologie ou un traitement pharmaceutique.

### **I.3. La physiopathologie**

Trois principales anomalies métaboliques conduisent à l'hyperglycémie dans le diabète de type 2 : insulino-pénie relative, résistance périphérique à l'action de l'insuline et augmentation de la production hépatique du glucose. Des anomalies de la sécrétion d'insuline sont observées chez les patients atteints de diabète de type 2, avec une détérioration progressive de la sécrétion d'insuline avec la durée d'évolution de la maladie (UKPDS, 1998).

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

---

L'insulinorésistance se définit comme un état de diminution de la réponse cellulaire et tissulaire à l'hormone en présence de la glycémie normale au prix d'insulinémie élevée. En effet, tant que la sécrétion  $\beta$  pancréatique est suffisante pour contrôler la résistance à l'insuline, la glycémie reste normale ou modérément altérée. Ainsi, le syndrome métabolique se traduit biologiquement soit par une hyperinsulinémie et une altération de la tolérance au glucose, soit une évolution vers un diabète de type 2 lorsque les capacités sécrétoires du pancréas sont dépassées (Bastard et *al.*, 2001). Il existe aussi, une corrélation étroite entre la production hépatique du glucose et la glycémie à jeun, ce qui indique un rôle primordial du foie dans l'élévation glycémique du réveil. L'augmentation de la production hépatique du glucose correspond principalement à une accélération de la néoglucogenèse (Broussolle et *al.*, 1990).

Le diabète de type 2 associé à l'obésité est caractérisé par l'augmentation de la concentration de glucose dans le sang, suite à une dysfonction des cellules  $\beta$  pancréatiques, une élévation de la production de glucose par le foie (gluconéogenèse et glycogénolyse) et une diminution de la capture de glucose par les tissus périphériques (Wellen et Hotamisligil, 2005).

Dans les conditions physiologiques normales, les patients qui développent une résistance à l'insuline suite à l'obésité peuvent augmenter la sécrétion d'insuline et maintenir l'homéostasie de glucose pour une longue période, évitant le développement du diabète (Marchetti et *al.*, 2006).

Au contraire, chez les patients qui subissent une dysfonction des cellules  $\beta$  pancréatiques, la sécrétion d'insuline devient progressivement trop basse pour répondre à la demande des tissus périphériques. Par conséquent, la glycémie s'élève, passant de l'état normal à l'intolérance au glucose et éventuellement à la manifestation du diabète (Chang-Chen et *al.*, 2008 ; Prentki et Nolan, 2006).

La glucotoxicité et la lipotoxicité sont les deux principaux facteurs acquis causant le dommage des cellules  $\beta$  pancréatiques. L'exposition prolongée de ces cellules à une concentration élevée en glucose stimule toutes les voies conduisant à l'augmentation de la production des radicaux libres (EOA) (Chang-Chen et *al.*, 2008).

### II. La plante *sophora japonica* L.

#### II.1. Présentation de la plante

Cette espèce est couramment utilisée dans la médecine chinoise et est considérée comme l'une des 50 herbes fondamentales. Les sophora du Japon est devenue deuxième dans une étude de 250 agents d'anti fertilité potentiels. Avec des principes de diurétique, émollient, fébrifuge, et tonique, les fleurs et les boutons floraux sont antibactériens, anti-cholestérolémiques, anti-inflammatoires, antispasmodiques, hémostatiques et hypotensifs. Les ovaires, surtout juste avant la floraison de la plante, sont une riche source de rutine et c'est un précieux agent hypotenseur. Les bourgeons, les fleurs et les gousses sont concoctés et utilisés dans le traitement de diverses affections, incluant les hémorragies internes, la mauvaise circulation périphérique, les vers internes, etc.

Ce remède ne devrait pas être prescrit aux femmes enceintes car les graines sont abortives. La graine est émétique et hémostatique. Il est utilisé dans le traitement des hémorroïdes, de l'hématurie, des saignements utérins, de la constipation, des sensations étouffantes dans la poitrine, des étourdissements, des yeux rouges, des céphalées et de l'hypertension.

Il doit être utilisé avec précaution puisqu'il est toxique. Les feuilles sont laxatives et elles sont utilisées dans le traitement de l'épilepsie et des convulsions. Une décoction de stigmes est utilisée dans le traitement des yeux douloureux et des problèmes de peau.

#### II.2. Origine

La plante *sophora japonica*, aussi connue sous le nom scientifique de *Styphnolobium Japonicum* est un arbre originaire de la Chine, il est cultivé depuis longtemps au Japon, Corée en Asie mineure, en Caucase, en Amérique du Nord, en Afrique du Nord et en Europe. (Loucif, 1998)

#### II.3. Classification de la plante

La *sophora japonica* appartient à la famille des fabacées contenant environ 52 espèces, dix-neuf variétés, et sept formes largement distribuées en Asie, en Océanie, et en les du Pacifique. Allant des herbacées aux arbres (*Sophora japonica* L.), ses deux sous-genres sont *Sophora* (fruits déhiscentes charnu et mésocarpe incomplet) et *Styphnolobium* (fruit indéhiscentes charnu et mésocarpe incomplet) (Panthathi et al., 2011).

La classification botanique de *S. japonica* selon Linné, (1830) est la suivante :

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

---

Tableau 1. Classification botanique de sophora japonica (Linné , 1830).

Règne	plantae
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Fabales
Famille	Fabaceae
Sous-famille	Fabiodeae
Tribu	Sophoreae
Genre	Styphnolobium
Espèce	Japonicum
Rang	Espèce
Nom scientifique	<i>Styphnolobium japonicum</i>
Basionyme	<i>Styphnolobium japonicum</i>
Synonymes	sophora japonica, sophora Korolkowi, sophorapubescens, sophorasinensis
Nom communs	sophora japonica, sophora de japon (Français) Japanese pagodatree (Anglais).

### II .4 La composition biochimique

La composition du sophora du japon comprend beaucoup de composés phytochimique .ses principaux constituants chimique sont des triterpénoides ; des flavonoïdes et des tannins ; les flavonoïdes comprennent principalement la quercetine ; la rutine ; l'isorhamnétine et le kaempférol .les fleurs contiennent également des acides gras.

### II .5 Description botanique

Sophora du japon est un bel arbre de 25 mètres de hauteur, 3m50 de Circonférence au pied et 27 mètres d'envergure (Décret, 1882). Tous les sophoras se sont soutenus à une hauteur égale, avec la même force de végétation. Les feuilles d'un beau vert-foncé, gai et luisant, sont

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

---

Composées d'un grand nombre de folioles comme celui du robinier, pseudo-ocasia. Ces folioles sont plus petites et plus fermes. Les branches sont divergentes et un peu pendantes. La fleur est d'un blanc tirant sur le jaune. Il ne donne ordinairement que tous les deux ans, mais en si grande abondance que l'arbre en est tout couvert. Les fleurs succèdent des gousses nombreuses, longues, minces, réunies ensemble sur un même pétiole, en forme de grappes pendantes.

Les gousses sont divisées en plusieurs segments semblables aux cosses des petites des petites haricots. Chaque segment, ou division, renferme une graine de la forme de petite fève oblongue, qui devient brune quand elle a acquis son degré de maturité. La graine est environnée d'une pulpe visqueuse ayant la consistance d'une gelée teinte en jaune.

Le tout est enveloppé par une pellicule mince. L'écorce de cet arbre est verte et luisante dans sa jeunesse. Elle est respectée par les animaux sans doute à cause de l'odeur forte qu'elle dégage. Elle devient grise à mesure que l'arbre vieillit. Les racines sont pivotantes et profondes, tandis que celle de l'acacia-robinier sont courantes sur la surface de la terre. Le bois est dur et compact, pesant, nul doute qu'il ne devienne d'une grande ressource pour les arts, quand il sera assez multiplié pour qu'on en puisse faire usage. C'est un arbre fort et vigoureux, susceptible de vivre long temps (Méne, 1885).

### II.6. L'intérêt médicinal et pharmaceutique de la plante

L'utilisation ethno-pharmacologique traditionnelle de l'espèce *sophora japonica* L est largement utilisée dans le traitement de nombreuses maladies et affections.

Les principaux constituants bioactifs de cette plante ont montrés des activités parmi lesquelles les activités sédatives, dépressives, analgésiques, hypothermiques, Cardiotoniques, anti-tumorales, antipyrétiques, anti-oxydantes, anticancéreuses, Antibactériennes, anti-inflammatoires et antispasmodiques (Panthati *et al.*, 2011)

Le fruit de la plante *sophora japonica* ainsi que ces fleurs sont utilisés en qualité de matière première pour l'obtention d'infusion de rutine et de quercétine. Les boutons floraux sont riches en rutinoside. Les fruits de la plante sont cueillis à la fin de la floraison (août-septembre), ils sont destinés pour l'obtention de préparât antiseptique et préparât améliorant la résistance capillaire (Rusznayk et Szent-Gyorgy, 1936). Les feuilles sont laxatives et elles sont utilisées dans le traitement de l'épilepsie et de convulsion (Décret, 1882). Les fleurs sont employées pour teinter le coton et le papier. Les fleurs fraîches mélangées à de la chaux et à l'huile sont appliquées sous forme d'emplâtre pour combattre les affections charbonneuses.

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

---

Les gousses sont utilisées dans la médecine Japonaise pour activer la circulation sanguine et agir contre le refroidissement des corps, ainsi que dans la teinture en jaune. Les graines sont utilisées dans le traitement des hémorroïdes de l'hématurie, des saignements utérins, de la constipation, des sensations étouffantes dans les poitrines, des étourdissements des yeux rouges, des céphalées et de l'hypertension. Les ovaires surtout juste avant la floraison de la plante, sont une riche source de rutine et c'est un précieux agent hypotenseur. Les tiges en décoction sont utilisées dans le traitement des yeux douloureux et des problèmes de la peau. Les racines sont couramment utilisées dans des médicaments traditionnels chinois pour le traitement de l'eczéma, de la colite, de l'infection aiguë de la pharyngolaryngite, du mal de gorge, de la dysenterie aiguë et de l'hémorragie gastro-intestinale. Le bois de *Sophora Japonica* L. est recherché en menuiserie et en ébénisterie. On en fait des meubles et des manches d'outils. Le *Sophora* du Japon est aussi un bel arbre d'ornement des jardins (Décret, 1882 ; Loucif, 1998 ; Panthati et al., )

### III. L'effet enzymatique

L'amylase est une enzyme digestive principalement sécrétée par le pancréas et les glandes salivaires et trouvée dans d'autres tissus à de très faibles niveaux. L'amylase a été décrite pour la première fois au début des années 1800 et est considérée comme l'une des premières enzymes de l'histoire à être étudiée scientifiquement. Il a d'abord été appelé diastase, mais a ensuite été renommé amylase au début du 20<sup>e</sup> siècle.

La fonction principale des amylases est d'hydrolyser les liaisons glycosidiques dans les molécules d'amidon, en convertissant les glucides complexes en sucres simples. Il existe trois classes principales d'enzymes amylases; Les alpha-, bêta- et gamma-amylases agissent chacune sur différentes parties de la molécule d'hydrate de carbone. L'alpha-amylase peut être trouvée chez les humains, les animaux, les plantes et les microbes. La bêta-amylase se trouve dans les microbes et les plantes. La gamma-amylase est présente chez les animaux et les plantes (Ololade et Thiruvengadam, 2021).

#### III.1. Définition de l'alphaamylase

L' $\alpha$ -amylase est la toute première enzyme découverte en 1833. Il s'agit d'une saccharidase, enzyme capable de dégrader des sucres (glucides) complexes en unités de sucres de plus petite taille, pouvant être assimilées par l'organisme. Ainsi, l'amylase catabolise des sucres complexes comme l'amidon, le glycogène ou les dextrines.

Il existe deux sous types d'amylase :

- **a-L'amylase salivaire S-amylase** elle se retrouve dans la salive, produite par les glandes salivaires. Elle commence la digestion de l'amidon dans la bouche. La transformation de l'amidon après action de l'amylase s'appelle le maltose, c'est un sucre (Junge W. *et al.*, 2003).
- **b-L'amylase pancréatique, P-amylase** contenu dans les sucs pancréatiques en dehors du corps humain, elle permet par exemple la fabrication de la bière en permettant l'hydrolyse de l'amidon de malt. Elle est aussi retrouvée dans les fruits pendant leur maturation

### III.1.2 Nomenclature

- Nom codifié : EC3.2.1.1
- Nom commun :  $\alpha$ -amylase
- Nom systématique: 1,4- $\alpha$ -D-glucane, 4-glucanohydrolase.

Synonymes : glycogénase, endoamylase, maxilase, taka-amylase ...etc (Schamburg et Slzmann, 1991 ; Brozowski et Davies, 1997 ; Dauter et *al.*, 1999).

### III.1.3 Rôle del'amylase

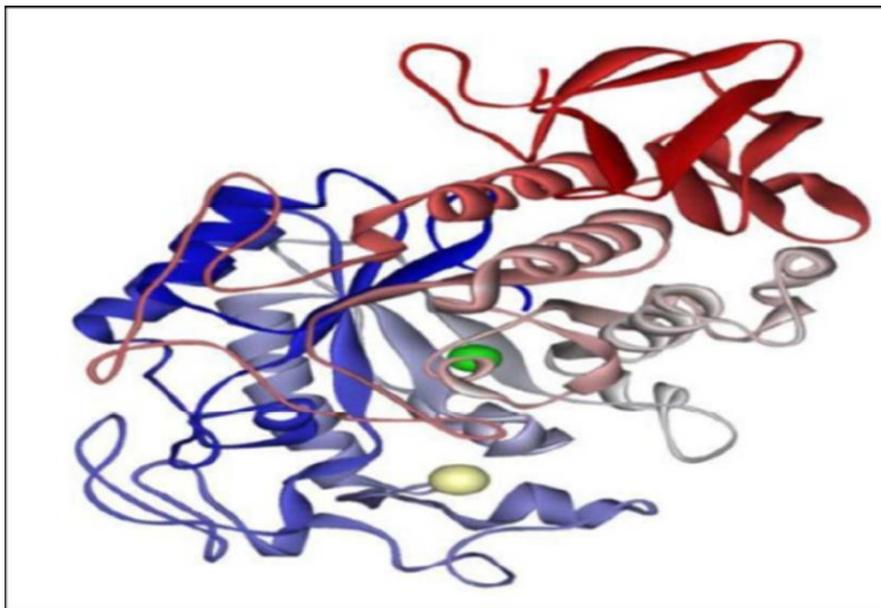
L'amylase salivaire et l'amylase pancréatique ( $\alpha$  -amylases). Elles permettent deréaliser une digestion préalable intraluminale de l'amidon. Elles hydrolysent les liaisons  $\alpha$  (1-4). Cette digestion reste partielle et doit être poursuivie par les oligosaccharidases. L'amylase salivaire agit la première, mais son activité est rapidement interrompue à cause de son inactivation dans l'estomac par l'acidité gastrique. Le relais est réalisé par l'amylase pancréatique qui hydrolyse la majorité de l'amidon au niveau du duodénum et du jéjunum proximal (pascale, 2006).

Les  $\alpha$  -amylases coupent les liaisons  $\alpha$  (1-4) loin des extrémités de l'amidon et des points de branchements. Cela libère :

- du **glucose**.
- de **I'isomaltose** : 2 molécules de glucose reliées par une liaison  $\alpha$ (1-6).
- du **maltose** (40 %) : 2 molécules de glucose reliées par une liaison  $\alpha$ (1-4).
- du **maltotriose** (25 %) : 3 molécules de glucose reliées par une liaison  $\alpha$ (1-4).
- des **a-dextrines limites** (30 %) : 5 à 10 résidus glucose en moyenne, reliés par des liaisons  $\alpha$  (1-4)' et branchés par une liaison  $\alpha$  (1-6). La composition totale est de moins de 30 résidus deglucose.

### III.1.4. Structure de l' $\alpha$ -amylasepancréatique

L'amylasepancréatiqueestcodéeparlegèneAMY2situésurlechromosomeIp21 (Zabeletal, 1983)..C'est une protéine composée d'une seule chaîne polypeptidique de 512 acides aminés possédant un poids moléculaire de 57,6 kDa (Abrams et *al.*, 1987 ; Sales et *al.*, 2012) ; Trois domaines structuraux ont été recensés chez l'amylase : A, B etC.



**Figure 1.** Structure d'une  $\alpha$ -amylase pancréatique humaine (PDB, 2006)

La figure présente les trois domaines (rose et gris: domaine A ; bleu : domaine B ; rouge : domaine C). L'ion calcium (sphère jaune) et l'ion chlorure (sphère vert). Le domaine A, formé d'un cylindre concentrique d'hélice alpha contenant 8 feuillets Bêta parallèles, possède la plus grande taille. Il est composé des résidus 1 à 99 et 169 à 404 (Brayer et al,1995).

### III.1.5. Mode et mécanisme d'action del' $\alpha$ -amylase

L'activité des  $\alpha$ -amylase reste essentiellement dépendante du pH et de la température. Le pH modifie la charge électrique des acides aminés présents sur le site catalytique, ce qui rend impossible les réactions de transferts d'atomes, nécessaires à la rupture des liaisons osidiques. La température favorise la formation du complexe enzyme/amidon (Faiveley, 2010).

Lemoded'actiondes $\alpha$ -amylasesestpeuconnuetfondusurdes probabilité(Salesetal, 2012), Il a été décrit en 4 étapes:

- **Etape 1, Formation du complexe enzyme/substrat**

L'enzyme se fixe par affinité sur l'intérieur de la chaîne ou sur les extrémités réductrices, les chaînes d'amidon déformées par le complexe enzyme/substrat et stabilisées par un grand nombre de liaisons hydrogènes entre les acides aminés du site de fixation de l'enzyme et les groupements polaires (OH) de la chaîne carbonée (Faiveley, 2010).

- **Etape 2, L'attaque de la liaison  $\alpha(1-4)$**

À un niveau de la liaison osidique située sur le site catalytique, l'acide glutamique est à l'origine de l'attaque, sous sa forme protonée (au pH optimal de l'enzyme), il fournit un atome d'hydrogène à l'atome d'oxygène de la liaison osidique à couper situé sur le carbone C4 de la chaîne, ce qui entraîne une rupture de la liaison osidique. L'acide aspartique est en revanche ionisé au pH optimal de l'enzyme, forme électro-négative, il établit une liaison covalente avec le carbone anomérique ou C1, ce qui permet alors la libération de la première partie de la chaîne carbonée (Khacheba, 2008; Sales et *al.*, 2012).

- **Etape 3, le retour à l'état initial de l'enzyme**

Cette étape est assurée par une molécule d'eau qui va hydroxylé le carbone anomérique, pour cliver la liaison covalente entre ce dernier et l'acide aspartique. L'acide glutamique, chargé négativement, capte un proton de la molécule d'eau, le groupement OH restant, instable, se fixe sur le carbone anomérique ou C1 après le clivage de la liaison entre C1 et l'acide aspartique, cette réaction rend possible l'éjection de la deuxième partie de la chaîne carbonée c'est l'**étape 4** (Khacheba, 2008 ; Devin, 2010; Sales et *al.*, 2012).

Donc l'acide glutamique semble jouer un rôle important dans la catalyse, ce résidu serait un donneur de proton et aurait donc une fonction de catalyseur général acide ou électrophile, de même, l'acide aspartique jouerait le rôle de catalyseur général basique ou nucléophile sur les transferts réactionnels permettant la rupture de la chaîne, c'est réaction nucléophile (Muralikrishna, 2005 ; Faiveley, 2010 ; sales et *al.*, 2012).

### III.2. La lipase

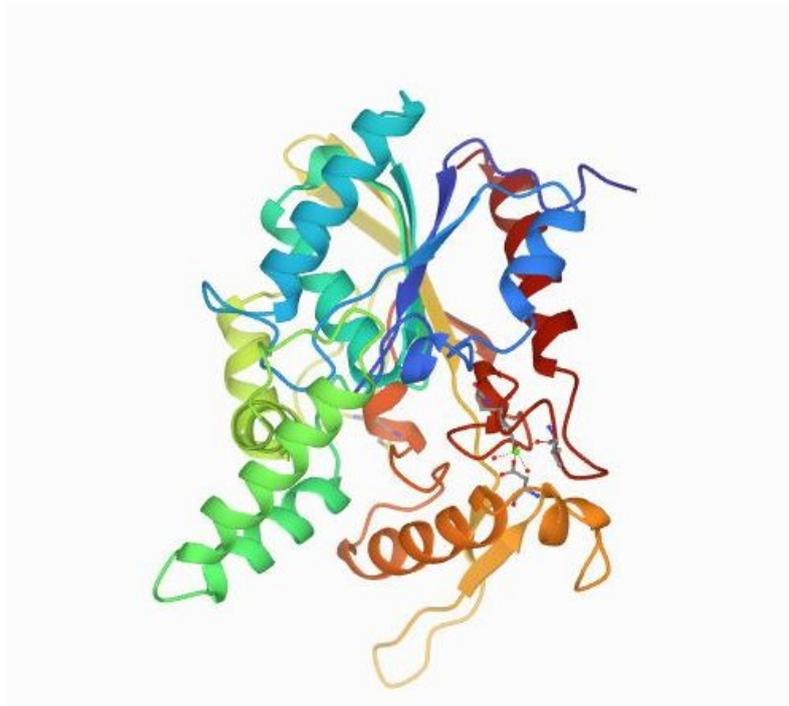
#### III.2.1 Définition de lipase

La lipase est une glycoprotéine principalement sécrétée par le pancréas .elle est présente en faible quantité dans la muqueuse gastrique, les leucocytes, les érythrocytes (Lessinger.J.M, 1992)

#### III.2.2 Le rôle de lalipase

La lipase est une glycoprotéine dont la principale mission consiste à hydrolyser les acides gras à longues chaînes, c'est-à-dire à casser les liaisons qui les unissent par l'action de molécules d'eau. Elle contribue ainsi à la transformation des triglycérides en glycérol ou en acides gras. On parle alors de lipolyse. En d'autres termes, la lipase participe à la digestion de certaines graisses. La lipase gastrique, elle, joue ainsi un rôle majeur dans le processus de digestion du nouveau-né dont l'alimentation est particulièrement riche en lipides (lait) (linden ,1998).

#### III.2.3 La structure de lalipase



**Figure 02** : la structure de la lipase (PDB ,2008)

CHAPITR II.  
MATERIEL ET METHODES



## Matériels et Méthodes

---

Le présent travail a pour objectif d'évaluer l'activité antienzymatique de l'extrait méthanolique de *Sophora japonica* L. Le travail devait être réalisé au niveau du laboratoire de BPO, mais la situation sanitaire a fait que nous nous sommes focalisés sur une étude théorique.

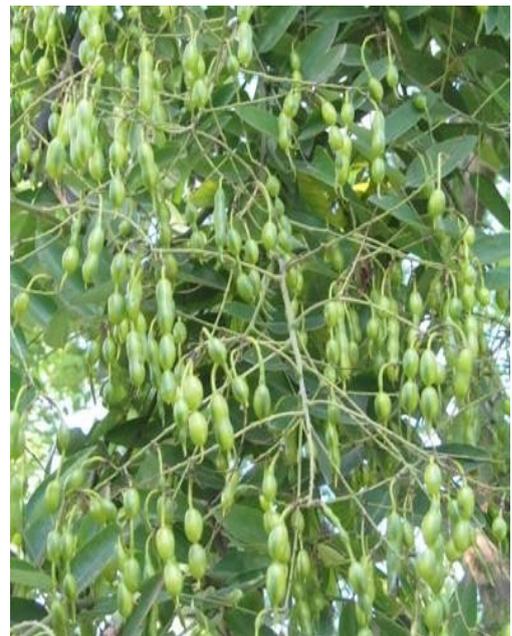
### I. Matériel

#### I.1. Matériel végétal.

Le matériel végétal est constitué des gousses de *Sophora japonica* récoltée dans la région de Boumerdes. Notre recherche bibliographique confirme que cette plante détient plusieurs avantages thérapeutiques, et son utilisation en médecine traditionnelle est très fréquente.

- Récolte

La plante a été récoltée de la région centre de la wilaya de Boumerdes.



**Figure 03** : les gousses de l'arbre *sophora japonica* L.

- **Séchage**

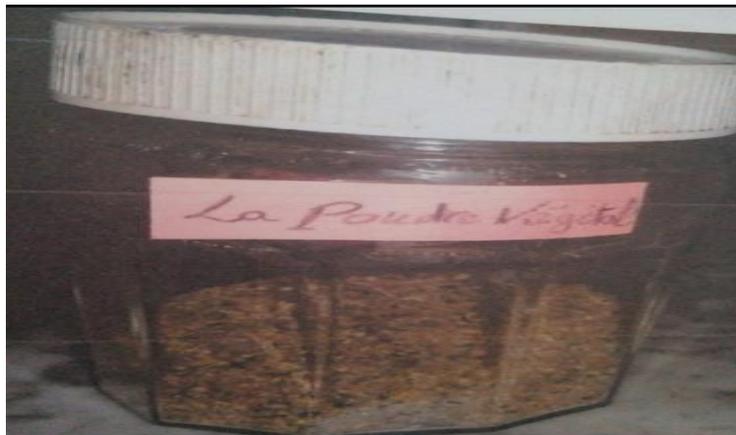
La matière végétale est séchée pendant une semaine à l'aire libre et à l'abri de la lumière .ce procédé empêche la réaction d'altération qui peuvent se produire et limite ainsi laprolifération desmicro-organismes.



**Figure 4.** Les gousses sèches de la plante *sophora japonica*

- **Broyage etconservation**

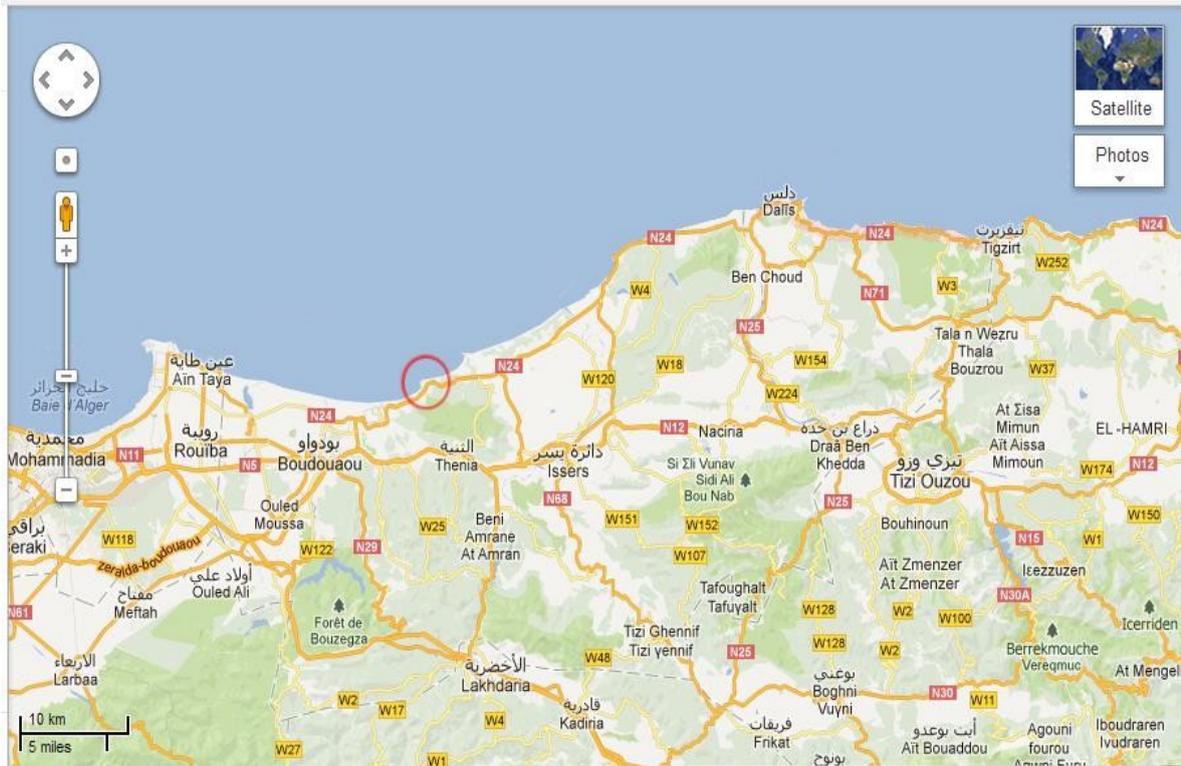
Les gousses séchées sont coupées en petits morceaux puis réduites en poudre fine à l'aide d'un broyeur électrique. La poudre obtenue est conservée à l'abri de l'air et l'humidité, dans des bocaux en verre hermétiquement fermés. Le broyat va constituer la matière sèche qui servira à l'extraction des polyphénols.



**Figure 5.** La poudre végétale de la plante *sophora japonica L*

### I.2. Présentation de la région d'étude

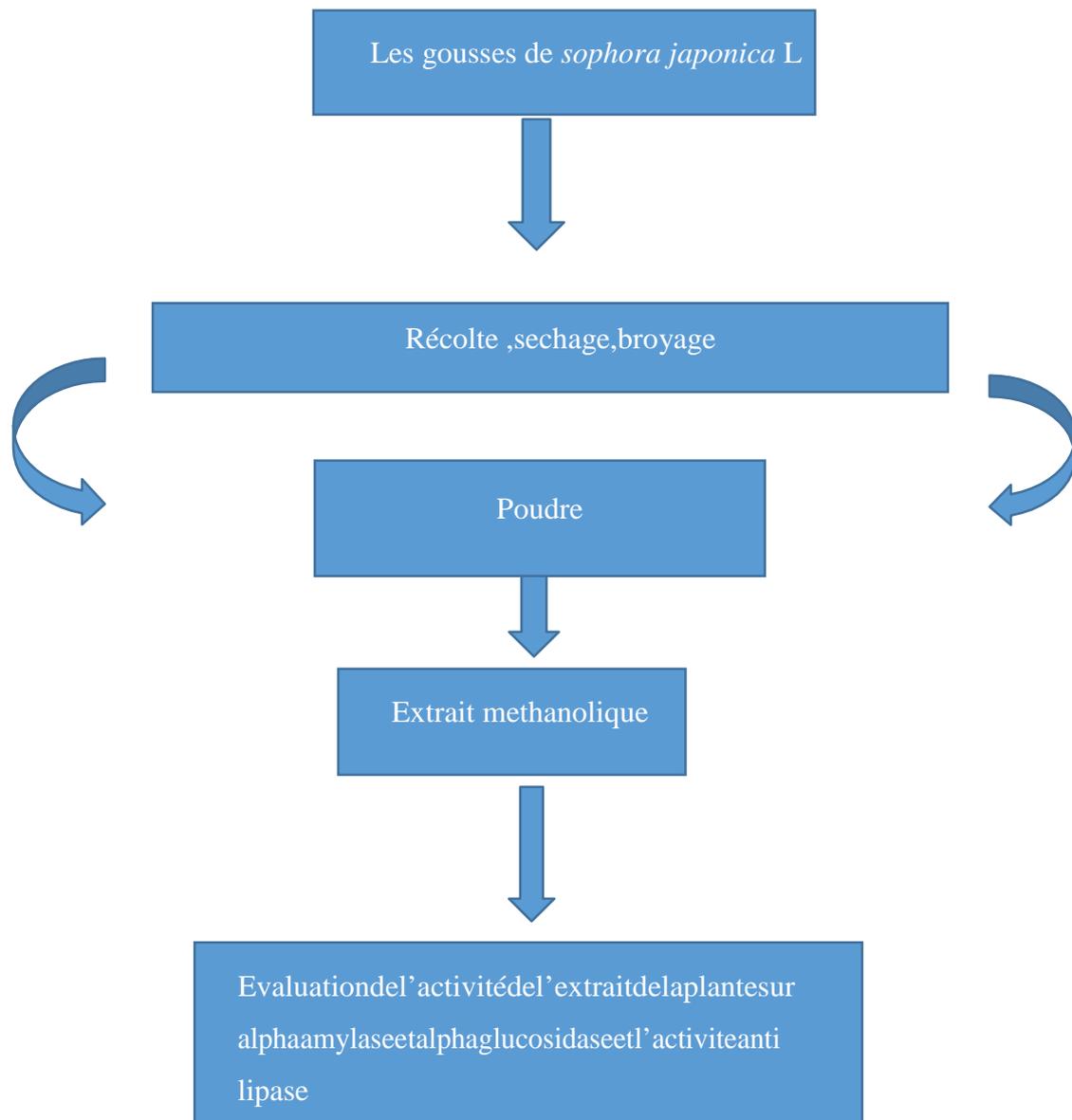
Boumerdes est une ville d'Algérie située à 45 km à l'est d'Alger et 52 km à l'ouest de Tizi-ouzou. Cette région appartient au climat méditerranéen, caractérisé par hiver pluvieux et doux et un été chaud et humide.



**Figure 6.** Carte géographique de la région de Boumerdes indiquant la zone de récolte.

## II. Méthodes d'étude

Plusieurs méthodes sont utilisées pour extraire, caractériser et tester l'activité antianzymatique de l'extrait méthanolique de la plante *sophora japonica* L. Les différentes étapes de ce travail sont résumées dans la figure 07.



**Figure 7** .Schéma récapitulatif des différentes étapes de travail.

### II.1. Extraction des polyphénols

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

#### II.1.1. Macération

##### → Principe

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

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

##### → Mode opératoire

Plusieurs solvants organiques peuvent être utilisés pour l'extraction des composés phénoliques, tels que : méthanol, éthanol...etc. (Owen et Johns, 1999). Le méthanol est l'un des solvants qui donne meilleur rendement d'extraction (Ribereau Gayon, 1968 ; Diallyon et *al.*, 2004). Le procédé d'extraction est réalisé comme suit: 22g de la poudre est ajustée à 250ml de méthanol. Le mélange est soumis à une agitation à l'aide d'un agitateur magnétique, durant 6 jours à température ambiante et à l'abri de la lumière, afin d'éviter les phénomènes d'oxydation. L'agitation des particules dans le solvant permet leur maintien en suspension et l'homogénéité du milieu. Après macération, les mélanges ont été filtrés à l'aide d'un papier filtre (watman n°1). Une partie de l'extrait obtenue a été utilisé pour les dosages totaux

### II.2. Etude in vivo de l'activité antidiabétique de l'extrait méthanolique de plante *sophorajaponica L.*

#### II.2.1. Evaluation de l'activité de l'EMSJ sur la glycémie de rats normoglycémiques

Pour cette expérience des rats « *Rattus norvegicus* », de souche Wistar, de sexe mâle, âgés de 10 à 14 semaines dont le poids varie entre 150 et 250 g, ont été utilisés. , les rats sont repartis en groupes dans des cages standard pour une période d'acclimatation (2 semaines) avant d'être utilisés dans les différentes expériences. Pendant cette période, les animaux ont un accès à la

## Matériels et Méthodes

---

nourriture (croquettes provenant de la société de production des animaux) et à l'eau. Ils sont maintenus dans une animalerie à température de  $25 \pm 3$  °C, soumis à un cycle de lumière/obscurité de 12/12h. L'administration des produits s'est faite par gavage à l'aide d'une sonde. L'extrait a été mis en suspension dans une solution d'eau distillée et à partir de la solution mère, les différentes concentrations ont été obtenues. Les animaux normoglycémiques ont été répartis en lots recevant en une seule prise les différentes doses de l'extrait par voie orale et un groupe témoin négatif qui reçoit de l'eau distillée tandis que le témoin positif reçoit la solution de glibenclamide (produit de référence : médicament hypoglycémiant) (N'guessan et al., 2011). Selon la méthode utilisée, la glycémie est mesurée à l'aide d'un lecteur glucomètre à bandelettes réactives sur une goutte de sang prélevée à partir de l'extrémité caudale des animaux (sang veineux). Généralement, les glucomètres sont constitués d'une couche absorbante sur laquelle la goutte de sang est déposée, finement poreuse ou recouverte d'une membrane sur sa face interne. Elle retient les globules rouges et ne laisse diffuser que le plasma vers les couches inférieures où se trouve le réactif constitué essentiellement du glucose-oxydase (hexokinase) associé à un chromogène. La coloration obtenue est mesurée par réflectométrie dans le lecteur de la glycémie (Desch, 2001).

### II.2.2. Test de mise en évidence de l'effet hypoglycémiant de l'EMSJ

Vingt-cinq (25) rats normoglycémiques ont été répartis en 5 lots de 5 rats et mis à jeun pendant 12 heures. Au temps T<sub>0</sub>, c'est-à-dire avant les traitements, la glycémie a été déterminée (glycémie initiale). L'eau distillée, le glibenclamide (10 mg/kg de pc) et l'extrait aqueux à différentes doses (50, 100 et 150 mg/kg de pc) ont été ensuite administrés aux différents lots. Ces doses ont été choisies suite aux tests préliminaires réalisés dans le cadre de cette étude. Des prélèvements de sang ont été effectués toutes les 30 min pendant 2 heures et la glycémie a été mesurée à l'aide d'un glucomètre de marque Accu-Chek Active avec des bandelettes réactives. Le pourcentage de variation de la glycémie par rapport à la glycémie initiale a été calculé (Formule 1) (N'doua et al., 2015).

### II.2.3. Test de tolérance au glucose

Six (6) lots de 5 rats ont été préalablement mis à jeun pendant 12 heures. Au temps T<sub>0</sub>, c'est-à-dire 30 min après les prétraitements, 5 lots de rats ont été gavés avec une solution de glucose à la dose de 4 g/kg pc. Les prétraitements ont consisté au gavage à l'extrait aqueux à différentes doses (50, 100 et 150 mg/kg de pc), à l'eau et au glibenclamide. La glycémie des rats de chaque lot a été mesurée juste avant l'administration de la solution de glucose, puis après le traitement, à des intervalles de 30 minutes, pendant 2 heures 30 min à l'aide d'un glucomètre de marque Accu-Chek Active avec des bandelettes réactives (N'doua et al., 2015). Les pourcentages d'induction et de réduction de l'hyperglycémie provoquée ont été alors calculés comme suit:

$$\text{Pourcentage de variation de la glycémie (\%)} = \frac{(G_t - G_0) \times 100}{G_0} \quad (1)$$

G<sub>0</sub> : glycémie de base à temps initial

G<sub>t</sub> : glycémie au temps t (30 ; 60 ; 90 et 120 min).

### **II.3. Evaluation in-vitro de l'activité de l'extrait de plante sur l'α- amylase et l'αglucosidase**

#### **II.3.1.Evaluation de l'activité de l'EMSJ sur l'alpha-amylase**

L'effet de l'extrait sur l'activité catalytique de l'alpha-amylase a été effectué selon le procédé de Sudha *et al.* (2011) avec une légère modification. Sur une plaque de 96 puits, un mélange réactionnel contenant 50 µL de tampon phosphate (50 mM, pH = 6,8), 10 µL d'alpha-amylase (10 UI / mL) [Sigma ; α-Amylase from *Aspergillus oryzae* 86250] et 20 µL de concentrations variables d'extraits (1 ; 0,01 ; 0,0001 et 0,000001 mg/mL) a été pré-incubé à 37 °C pendant 10 min. Ensuite, 20 µL d'amidon soluble (0,05%) sont ajoutés tant que substrat, puis le tout est incubé encore à 37 °C pendant 15 min. La réaction a été arrêtée en ajoutant 20 µL de HCl 1N, suivie de l'addition de 100 µL de réactif iodé (5 mM de I<sub>2</sub> et 5 mM de KI, stocké dans une bouteille de couleur ambrée). L'absorbance a été lue à 620 nm à l'aide d'un lecteur de plaque ELISA (MicroPlate Read, Gentaur). Chaque expérience a été effectuée 3 fois avec les témoins appropriés. L'acarbose à diverses concentrations (0,01 - 0,1 mg/mL) a été inclus comme contrôle positif. Le contrôle négatif sans extrait a été effectué parallèlement. L'activité de l'EMSP sur l'alpha-amylase est déterminée par la formule 2.

#### **II.3.2 .Evaluation de l'activité de l'EMSP sur l'alpha-glucosidase**

L'effet de l'extrait sur l'activité catalytique de l'alpha-glucosidase a été réalisé selon la méthode de Bachhawat *et al.* (2011) avec une légère modification. Dans une plaque de 96 puits, un mélange réactionnel contenant 50 µL de tampon phosphate (50 mM, pH = 6,8), 10 µL d'alpha glucosidase (1 U/mL) [Sigma ; α-Glucosidase from *Bacillus stearothermophilus* G5003] et 20 µL de concentrations variables d'extrait (1; 0,01; 0,0001 et 0,000001 mg/mL) a été pré-incubé

## Matériels et Méthodes

---

à 37 ° C pendant 15 min. Ensuite, on ajoute 20 µL de p-Nitrophenyl α-D-glucopyranoside(PNPG) (1 mM) [C<sub>12</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>8</sub> ; Sigma : 3767-28-0] en tant que substrat et on incube encore à 37 °C pendant 30min.

La réaction a été arrêtée en ajoutant 50 µL de carbonate de sodium (0,1 M). La couleur jaune produite a été lue à 405 nm en utilisant un lecteur de plaque ELISA (MicroPlate Read, Gentaur).

L'expérience a été effectuée 3 fois avec les témoins appropriés. L'acarbose à diverses concentrations (0,2 - 1 mg/mL) a été inclus comme contrôle positif. Le contrôle négatif sans extraits a été dosé parallèlement. Le résultat est exprimé en pourcentage d'inhibition, qui a été calculé selon la formule suivante:

$$\text{Inhibition (\%)} = (A \text{ Contrôle Négatif} - A \text{ Test} / A \text{ Contrôle Négatif}) \times 100 \quad (2)$$

où A est l'absorbance

Le résultat a été également exprimé en valeur de contrôle CI50 selon une équation de droite de degré 1 :  $y = Ax + B$ .

### II.4. Evaluation de l'activité antilipase

#### II.4.1. Test d'inhibition de la lipase

##### Principe

La lipase hydrolyse l'extrait méthanolique (poly insaturé) riche en triglycérides en produit le glycérol et en acides gras principalement l'acide linoléique. La spectrophotométrie est une méthode analytique quantitative qui consiste à mesurer l'absorbance ou la densité optique d'une substance chimique donnée en solution. Plus cette espèce est concentrée plus elle absorbe la lumière dans les limites de proportionnalités énoncées par la loi de Beer-Lambert.

##### Mode opératoire

L'inhibition de la lipase par l'extrait méthanolique de *sophora japonica* est déterminée par la méthode d'Oben, (2010). Avec quelques modifications. Le milieu réactionnel contient 200 µL de la lipase d'*Aspergillus* dissout dans letampon tris 0,2M de pH=7,7 et 800 µL d'huile d'olive émulsifiée, et 200 µL d'extrait à (0,025-1 mg/mL) sont ajoutés à la préparation, le mélange est

## Matériels et Méthodes

---

ensuite incubé à 37°C pendant 30 minutes et la lecture est effectuée à 560 nm contre un blanc dépourvu de l'enzyme.

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

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

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

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

# **CHAPITRE III**

## **RESULTATS ET DISCUSSION**

Dans cette partie du travail, nous allons discuter les résultats relatifs à l'extraction des polyphénols et à l'évaluation de l'activité antienzimatique de l'extrait des gousses de *sophora japonica* L.

### I. Analyse phytochimique

Les résultats des analyses phytochimiques qualitatives réalisées par (Gherbi et Nehache, 2018) sur l'extrait et la poudre végétale de gousses de *sophora japonica* L. ont permis de mettre en évidence les polyphénols présents dans les gousses de *sophora japonica* L et sont reconnus pour leurs propriétés antienzimatiques.

#### II.1. Analyse quantitative de l'extrait méthanolique

##### II.1.1. Dosage des polyphénols

Le dosage des polyphénols a été réalisé selon la méthode de Folin Ciocalteu en utilisant comme standards l'acide gallique. La quantification des composés phénoliques est faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ( $y=ax+b$ ) réalisée par une solution étalon (l'acide gallique) à différentes concentrations. La teneur en composés phénoliques de l'extrait est alors calculée à partir de la courbe d'étalonnage et exprimée en milligramme équivalent en acide gallique par gramme de la matière sèche (mg EAG/g d'extrait). La mesure de la densité optique est effectuée à la longueur d'onde 760 nm. La coloration bleue produite possède une absorption maximale aux environs de 760 nm. Elle est proportionnelle à la quantité de polyphénols présent dans l'extrait.

Les polyphénols sont estimés par plusieurs méthodes, comme la méthode de bleu de Prusse (Graham, 1992), mais la plus utilisée est celle de Folin-Ciocalteu. La teneur en polyphénols de *s. japonica* obtenue par (Gherbi et Nehache, 2018) est de 0.011 mg EAG/g d'extrait. Ces résultats sont significativement inférieurs à ceux de (Habibou *et al.*, 2018) ou la valeur de la teneur en polyphénols trouvée dans l'extrait méthanolique de la plante *Detarium microcarpum* Guill. est de 109.44 ± 40.6 mg EAG/g.

Cette différence serait due au fait que les méthodes d'extraction peuvent affecter la concentration en polyphénols du fait de la solubilité des composés phénoliques. En outre, (Alabri *et al.*, 2014) affirme que la méthode d'extraction liquide-liquide (par fractionnement)

peut faire diluer ou au contraire augmenter les teneurs en composés phénoliques de l'extrait brut. Aussi, il est très important de souligner que la méthode de détermination du taux des polyphénols totaux n'est pas basée sur des mesures des quantités absolues, mais sur leurs capacités de réduction chimique par rapport à l'acide gallique (Hossain et Shah, 2015). De plus le matériel végétal a été récolté dans des régions différentes et la distribution des métabolites secondaires peut changer pendant le développement de la plante (Christian, 2010). L'extraction des composés phénoliques est aussi influencée par le temps et la température d'extraction, ce qui reflète les actions paradoxales de la solubilisation et la dégradation par oxydation. Par conséquent, il est important de faire le bon choix de la procédure/méthode d'extraction afin de maintenir la stabilité des composés phénoliques (Turkmen *et al.*, 2007).

### III. Etude de l'activité antidiabétique *in vivo*

#### III.1. Effet hypoglycémiant et hyperglycémiant de l'EMSJ

De nos jours, nous disposons d'un ensemble d'outils thérapeutiques pour soigner les diverses formes de diabète et l'une des stratégies thérapeutiques antidiabétiques actuelles est l'inhibition des enzymes digérant les hydrates de carbone tels que l' $\alpha$ -amylase et l' $\alpha$ -glucosidase (Narkhede *et al.*, 2011). L' $\alpha$ -amylase hydrolyse les amidons complexes en oligosaccharides, tandis que l' $\alpha$ -glucosidase hydrolyse les oligosaccharides en glucose et autres monosaccharides. L'inhibition de ces enzymes produit un effet antihyperglycémique postprandial en réduisant la vitesse et l'étendue de l'absorption du glucose (He, 1998 ; Okoli *et al.*, 2011). Actuellement, il existe 5 classes de médicaments antidiabétiques classiques ; cependant divers effets secondaires sont associés à ces médicaments (Chakrabarti & Rajagopalan, 2002). Il existe donc un besoin urgent d'identifier et d'explorer les sources naturelles avec moins d'effets secondaires pour de tels inhibiteurs car selon (Lebovitz, 1997 ; et Tundis *et al.*, 2010), les inhibiteurs naturels de l' $\alpha$ -glucosidase et de l' $\alpha$ -amylase ont moins d'effets secondaires.

#### III.2. Activité de l'EMSJ sur l' $\alpha$ -amylase et l' $\alpha$ -glucosidase

La présente étude a permis d'évaluer l'effet de l'extrait méthanolique préparé à partir des gousses de *Sophora japonica* sur les 2 enzymes par des tests *in vitro*. Les résultats ont montré que l'extrait méthanolique de *Sophora japonica* présente une inhibition ( $CI_{50} = 1,16 \text{ mg/mL}$ ) nettement supérieure que ( $CI_{50} = 2,57 \text{ E}+06 \text{ mg/mL}$ ) sur l' $\alpha$ -amylase.

Cet effet serait dû à la présence des métabolites secondaires tels que les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins catéchiques inhérents à la composition des fruits de la plante. De plus, Hanhineva et al., (2010) ont prouvé que les flavonoïdes, les acides phénoliques et les tanins empêchent l'activité des enzymes tels l' $\alpha$ -amylase et l' $\alpha$ -glucosidase qui sont des enzymes clés dans le métabolisme des glucides. (Boudjelthia et al., 2017) ont suggéré que cet effet inhibiteur ou par ricochet antidiabétique serait lié à la richesse des extraits en tanins et saponines. Dans une autre étude, des extraits riches en polyphénols de diverses baies ont été testés sur l' $\alpha$ -amylase montrant que *Rubus idaeus* L. et *Sorbus aucuparia* L. étaient les plus efficaces, ce qui suggère qu'elles contiennent des inhibiteurs puissants (Grussu et al., 2011).

Nos résultats montrent que l'extrait a un effet plus prononcé sur l'activité de l' $\alpha$ -amylase. En effet, les résultats ont montré que la CI50 de l'EMSJ sur l' $\alpha$ -glucosidase est 30 fois moindre que celle du même extrait sur l' $\alpha$ -amylase. Les études menées par Maria et al. (2011) ont donné des résultats similaires. Selon ce sauteur, les extraits méthanoliques de *Croton bonplandianum* ont montré une activité inhibitrice maximale sur l' $\alpha$ -glucosidase. De plus, ces extraits contiendraient des composés bioactifs qui pourraient être des flavonols ou des acides phénoliques puisque la littérature montre un lien évident entre les polyphénols et l'activité antidiabétique des extraits de plantes (Maria et al., 2011).

### III.3. Activité de l'EMSJ sur la lipase

Les résultats de l'inhibition de la lipase sur *Sophora japonica* évalué à 73,15 % a été nettement supérieur à celui trouvé par Gholamhoseinian et al., (2010), qui ont estimé un pourcentage d'inhibition équivalent à 23% sur l'espèce *Sophora japonica*. De plus, le résultat de l'IC50 égal à  $77,20 \pm 0,5 \mu\text{g/ml}$  est clairement inférieure à celui trouvé par (Bustanji et al., 2011) qui ont signalé une inhibition de la lipase par rapport à *Sophora japonica* avec une IC50 correspondant à 234  $\mu\text{g/ml}$ .

# **CONCLUSION**

## CONCLUSION

---

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. La majorité des médicaments actuels sont des copies concentrées de remèdes végétaux, notamment les polyphénols qui sont les plus intéressants et les plus étudiés de nos jours.

Le présent travail avait pour objectif d'étudier théoriquement l'activité antienzymatique de la plante *sophora japonica*. Cette plante est particulièrement bien fournie en métabolites secondaires connus pour leurs intéressantes activités biologiques.

Les résultats de nos recherches bibliographiques confirment les propriétés antienzymatiques certainement dues aux vertus thérapeutiques attribuées à *sophora japonica*.

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

Cette étude ouvre des perspectives d'utilisation de cette plante pour différents usages et ne constitue qu'un début dans le domaine de la recherche des substances naturelles biologiquement actives. Des essais complémentaires seront nécessaires afin de pouvoir confirmer les activités mises en évidence.

# **REFERENCESS BIBLIOGRAPHIQUES**

## Références Bibliographiques

---

### Reference Bibliographique

-A-

**Abrams, C. K., Hamosh, M., & Dutta, S. K. (1987).** Role of nonpancreatic lipolytic activity in exocrine pancreatic insufficiency. *Gastroenterology*, 92, 125-129.

-B-

**Bachhawat A., Shihabudeen M. & Thirumurugan K., 2011.** - Screening of fifteen Indian Ayurvedic plants for alpha-glucosidase inhibitory activity and enzyme kinetics. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3: 267-274.

**Bastard, J. P., Vigouroux, C., & Capeau, J. (2001).** Syndrome métabolique ou syndrome d'insulinorésistance. *Encyclopédie Médico-Chirurgicale: Endocrinologie-Nutrition*, Paris: Editions scientifiques et médicales Elsevier Masson SAS, 10-363

**Boudjelthia K., Hammadi K., Kouidri M. & Djebli N., 2017.** - Evaluation of antidiabetic activity of two plants *Berberis vulgaris* and *Zygophyllum geslini*. *Journal of Physical Chemistry and Biophysics*, 7:236.

**Brayer, G. D., Luo, Y., & Withers, S. G. (1995).** "The structure of human pancreatic alpha amylase at 1.8 Å resolution and comparisons with related enzymes". *Protein Science*, 4, 1730-1742.

**Broussolle, C., Orgiazzi, J., & Noël, G. (1990).** Physiopathologie du diabète non insulinodépendant: données actuelles et conséquences thérapeutiques. *La Revue de médecine interne*, 11(2), 142-148

**Bustanji Y., Mohammad M., Hudai Bb M., Tawaha K., Ihab M., Al-Masri H., Alkhatib A., Alali F. (2011).** screening of some Medicinal plants for their pancreatic lipase Inhibitory Potential. *Journal of Pharmaceutical Sciences* .4.

-C-

**Capeau J, Hermelin B. (1994).** « Métabolisme des glucides et ses méthodes

**Chakrabarti R. & Rajagopalan R., 2002.** - Diabetes and insulin resistance associated disorders : Disease and the therapy. *Current Science*, 83: 1533-1538.

**Chang-Chen, K. J., Mullur, R., & Bernal-Mizrachi, E. (2008).**  $\beta$ -cell failure as a complication of diabetes. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 9(4), 329-343

*Control*. 15 :549-557.

## Références Bibliographiques

---

-D-

**Desch G., 2001.** - Aspects biochimiques et analytiques du diagnostic et de la surveillance du diabète. Médecine Nucléaire – Imagerie Fonctionnelle et Métabolique, 25(2): 61-72.

**Deshaies B., Pharm B., LL, B. (2011).** Les médicaments pour le contrôle de la d'exploration chez l'homme. »Encycl Méd Chir Endocrinol-Nutrition ; 10-361-A-10.

**Dorchy, H. (2010).** Stratégie thérapeutique dans le diabète de type 1 (insuline, alimentation, sport). Rev Med Brux. P : 37-51.

extract of *Origanum vulgare* sp . vulgar in the Eastern Anatolia region of Turkey. Food

-F-

**Faiveley, M. (2010).** Procédés biochimiques et chimiques en agroalimentaire. Produits d'origine végétale. Fabrication des bières. Techniques-ingénieur. ENILBIO poligny. France.

glycémie (antihyperglycémiant). Québec. P : 1-1

-G-

**Grimaldi A., Hartemann-Heurtier A., Halbron M., Sachon C. (2009).** Guide pratique du diabète. Edition Masson.

**Grussu D., Stewart D. & McDougall G., 2011.** - Berry polyphenols inhibit alpha-amylase in vitro : Identifying active components in rowanberry and raspberry. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59: 2324-2331.

-H-

**Hanhineva K., Törrönen R., Bondia-Pons I., Pekkinen J., Kolehmainen M., Mykkänen H. & Poutanen K., 2010.** - Impact of Dietary Polyphenols on Carbohydrate Metabolism. International Journal of Molecular Sciences, 11: 1365-1402.

**He L., 1998.** - Alpha-glucosidase inhibitors as agents in the treatment of diabetes. Diabetes Reviews, 6: 132–145.

-J-

**Jenkins, A.B., Campbell, L. V. (2004).** The genetics and pathophysiology of diabetes

**John et Gerich, (2004).** Classification and diagnosis. National Diabetes Data, American Diabetes Association. p : 7-28

**Jong-Anurakkun, N., Bhandari, M. R., & Kawabata, J. (2007).**  $\alpha$ -Glucosidase inhibitors from Devil tree (*Alstonia scholaris*). *Food Chemistry*, 103(4), 1319-1323

**Junge W. et al, 2003.-** *Clin Biochem*;36:161

-K-

**Khacheba, I., et Benamar, H. (2008).** Effets des extraits de quelques plantes médicinales locales sur l'alpha-amylase. Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme d'Ingénieur d'Etat en biologie. Université Amar Telidji -Laghouat.

-L-

**Lebovitz H.E., 1997.** - Alpha-glucosidase inhibitors. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 26: 539-551.

**Lessinger.J.M.,1992.-** Le cahier de formation Biochimie Tome I .Paris,Bioforma :186-191.

**LINDEN G. 1998 .-** Transformation des Produits Alimentaires par les Enzymes, Ed. Techniques Ingénieur, 1998.

**Lowry,O.H.,Rosebrough,N.J.,Farr,A.L.,&Randall,R.J.(1951).**Proteinmeasurement with the Folin phenol reagent. *J biol Chem*, 193(1),265-275.

-M-

**M.Agar, G.et Ozer, H.(2004).** Biological activities of the essential oil and Methanol

**Marchetti, Marchetti, P., Del Prato, S., Lupi, R., & Del Guerra, S. (2006).** The pancreatic beta-cell in human Type 2 diabetes. *Nutrition, metabolism and cardiovascular diseases*, 16, S3-S6d

**Maria J.K.M., Rajesh J., Mandal A. & Sampath N., 2011.** - Antioxidant and antimicrobial activity of individual catechin molecules: A comparative study between gallated and epimerized catechin molecules. *European Journal of Experimental Biology*, 1(3): 145-153.

**Megh Raj Bhandari, Nilubon Jong-Anurakkn, GAO Hong, Jun Kawabata, (2008).**Glucosidase and  $\alpha$ - amylase inhibitory activities of Nepalese medicinal herb Pakhanbhed (*BergeniaCiliata*, Haw.),*Journal of Food chemistry*, Pages 247 mellitus type II.J.Inherit. Metab.Dis.(27),p:331-347. métaboliques aiguës du diabète. Référence médicinale. P : 13-17.

## Références Bibliographiques

---

**Moret, (2010).** Traitement du diabète de type 1. Cour DCEM2. Lyon Est. p : 2-59

**Muralikrishna, G., & Nirmal, M. (2005).** Cereal  $\alpha$ -amylase an overview. Carbohydrate polymers. 60, 163-171.

-N-

**N'doua L.A.R., Abo K.J.C., Aoussi S., Gbogbo M., Yapo A.P. & Ehile E.E., 2015.** - Effets hypoglycémique et antihyperglycémique de l'extrait éthanolique 70% de racines de *Rauvolfia vomitoria* Afzel (apocynaceae). European Scientific Journal, 11: 176-190.

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

**Narkhede M.B., Ajimire P.V., Wagh A.E., Mohan M. & Shivashanmugam A.T., 2011.** - In vitro antidiabetic activity of *Caesalpinia digyna* (R.) methanol root extract. Asian Journal of Plant Science and Research, 1: 101-106

**N'guessan K., Fofié N.g.B.Y. & Zirih G.N., 2011.** - Effet of aqueous extract of *Terminalia catappa* leaves on the glycemia of rabbits. Journal of Applied Pharmaceutical Science, 01(08): 59-64.

-O-

**Oben, J. (2010).** Journal of Natural Products, Vol.3:165 -171.

**Ololade A., Thiruvengadam M., 2021.**-Amylase, George's University School of Medicine, Yale University.

**Orban, J.Ch., Lena, D., Bonciu, M., Grimaud, D., Ichai, C. (2007).** Complications

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

p : 91-93.

-P-

**panthati, M.K., Rao, K.N.V., Sandhya, S., David, B. (2012).** A review on phytochemical, ethnomedical and pharmacological studies on genus *Sophora*, Fabaceae. Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy 22(5) : 1145-1154, Sep./Oct.2012.

**Pascale D. (2006).** - Le déficit congénital de l'enzyme saccharase-isomaltase. Étude rétrospective de 53 cas en France de 1963 à 2003, p29, Henri Poincaré, Nancy 1.

**PDB (Protein Data Bank). (2006).** Alpha-amylases. [pdb101.rcsb.org](http://pdb101.rcsb.org).

**PDB (Protein Data Bank). (2008).** Structure of Lipase. RCSB PDB - 1OIL.

-R-

## Références Bibliographiques

---

**Rodier, M. (2011).**Définition et classification du diabète. Médecine Nucléaire. (25),

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

**Rusznayk ST. & Szent-Gyorgyi A. (1936).**Vitamin P : Flavonols as vitamins. Nature. 138,27.

- S-

**Sahin, F., Gulluce , M. , Daferera, D., Sokmen , A., Sokmen, M., Polissiou,**

**Sales, P. M., Souza, P. M., Simeoni, L. A., Magalhães, P. O., & Silveira, D. (2012).**  $\alpha$ -Amylaseinhibitors:areviewofrawmaterialandisolatedcompoundfromplantsource.Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences , 15(1),141-183.

**Schamburg D., Salzmann M. (1991)**  $\alpha$ -amylase in enzyme hand book. Volume 6 spring verlag Berlin.

**Scheen A. J., Luyckx F. H. (2010).**L'hyperglycémie provoquée par voie orale revisitée:1re partie: Tolérance au glucose, diabète gestationnel et hypoglycémie réactive. Médecine des Maladies Métaboliques. 4: 569-574..

**SudhaP.,ZinjardeS.,BhargavaS.&KumarA.,2011.**-Potentaamylaseinhibitoryactivity of Indian Ayurvedic medicinal plants. BMC Complementary and Alternative Medicine, 11:5.

-T-

**Tundis R., Loizzo M.R. & Menichini F., 2010.** - Natural products as alpha-amylase and alphasglucosidase inhibitors and their hypoglycaemic potential in the treatment of diabetes : an update. Mini-Reviews in Medicinal Chemistry, 10(4): 315-331.

-W-

**Wellen, K. E., & Hotamisligil, G. S. (2005).** Inflammation, stress, and diabetes.The Journal of clinical investigation, 115(5), 1111-1111

-Z-

**Zabel, B.U., Naylor, S.L., Sakaguchi, A.Y.,Bell, G.1., & Shows,T.B.(1983).** High resolution chromosomal localization of human genes for amylase, proopiomelanocortin, somatostatin, and a DNA fragment (D3SI) by in situhybridization". Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 80, 6932-6936.

## Abstract

The *sophora japonica* is a very abundant plant, used as a medicinal plant, traditional phytotherapeutics. This plant owes its therapeutic virtue to the active ingredients it contains. Among these are polyphenols.

In this context, the present work relates to a theoretical study on phytochemistry and anti-enzymatic activity from the plant *sophora japonica* used traditionally to treat several diseases. According to the various bibliographical research carried out on its phytochemical characterization, *s japonica* has anti- $\alpha$ -amylase and anti-lipase activities.

Analysis of the results of various research studies have allowed claims that the extract of the plant studied has antienzymatic properties. It emerges from this study that the pods of *sophora japonica* constitute a major source of active ingredients possessing an inhibitory activity of  $\alpha$ -amylase and lipase which makes it possible to validate the traditional use of the plant in the treatment of diabetes.

**Keywords:** *sophora japonica*, anti- $\alpha$ -amylase, anti lipase, diabetes, antienzymatic

## Résumé

Le *sophora japonica* est une plante très abondante, utilisée comme plante médicinale, phytothérapeutiques traditionnelle. Cette plante doit sa vertu thérapeutique aux principes actifs qu'elle contient. Parmi ceux-ci les polyphénols.

Dans ce contexte, le présent travail porte une étude théorique sur le phytochimie et l'activité anti enzymatique issue de la plante *sophora japonica* utilisée traditionnellement pour traiter plusieurs maladies. Selon les différentes recherches bibliographiques effectuées sur sa caractérisation phytochimique, *s japonica* possède des activités anti- $\alpha$ -amylase et anti lipase.

L'analyse des résultats de différents travaux de recherche ont permis d'affirmer que l'extrait de la plante étudié présente des propriétés antienzymatique. Il ressort de cette étude que les gousses de *sophora japonica* constituent une source majeure de principes actifs possède une activité inhibitrice de  $\alpha$ -amylase et de lipase cela permet de valider l'usage traditionnel de la plante dans le traitement du diabète.

**Mot clés :** *sophora japonica*, anti- $\alpha$ -amylase, anti lipase, diabète, antienzymatique.

## المخلص

*Sophora japonica* نبات وفير جدًا ، يستخدم كنبات طبي ، وعلاجات نباتية تقليدية. يعود الفضل في هذا النبات العلاجي إلى المكونات النشطة التي يحتوي عليها. من بين هذه البوليفينول.

في هذا السياق ، فإن العمل الحالي عبارة عن دراسة نظرية حول الكيمياء النباتية والنشاط المضاد للأنزيم من نبات الصفيراء الجابونيك المستخدم تقليديًا لعلاج العديد من الأمراض. وفقًا للأبحاث الببليوغرافية المختلفة التي تم إجراؤها على توصيفها الكيميائي النباتي ، فإن *s japonica* لديها أنشطة مضادة لـ  $\alpha$ -amylase و anti-lipase.

أتاح تحليل نتائج الدراسات البحثية المختلفة الادعاءات بأن مستخلص النبات المدروس له خصائص مضادة للأنزيم. يتضح من هذه الدراسة أن قرون *sophora japonica* تشكل مصدرًا رئيسيًا للمكونات النشطة التي تمتلك نشاطًا مثبطًا لـ  $\alpha$ -amylase و lipase مما يجعل من الممكن التحقق من صحة الاستخدام التقليدي للنبات في علاج مرض السكري.

الكلمات الرئيسية : *sophora japonica* ، anti lipase ، anti- $\alpha$ -amylase ، السكري ، antienzymatic

