

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abderrahmane Mira de Bejaia
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-Chimique

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master
Option : Biochimie appliquée

Thème

**Evaluation *in vitro* de l'activité anti- α -
amylase et antilipase des extraits de la pulpe
de *Citrus limon***

Représenté par :

M^{elle} : BENKERROU Zahra

M^{elle} : YOUNICI Saida

Membre de jury:

Présidente : M^{elle} KHETTAL B.

Promoteur: M^r BASLI A.K.

Examineurs: M^r BELKACEM N.

M^r TACHERFIOUT M.

Grade et lieu :

M.C.A (UAMB)

M.A.B (UAMB)

M.A.B (UAMB)

M.A.A (UAMB)

Année 2013/2014

Remerciement

Tout d'abord, nous exprimons nos remerciements au bon dieu de nous avoir donné le courage et la force pour terminer notre travail et pour sa bienveillance.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à la présidente de jury Dr KHETTAL BACHRA pour nous avoir consacré de son temps en nous faisant l'honneur d'accepter de présider le jury.

Profonde gratitude va à notre promoteur Mr BASLI A.K pour ses précieux conseils, ses orientations, son aide et nous lui souhaitons la réussite dans ses projets.

Nous remercions également les examinateurs, Mr BELKACEM N et Mr TACHARFUIT M pour nous avoir fait l'honneur d'examiner ce travail.

Sans oublier l'ensemble des enseignants ayant Contribué à notre formation durant notre cycle d'étude. Enfin nos remerciements s'adressent plus particulièrement à nos familles et

nos amis(es) qui ont su nous soutenir, nous encourager, nous aider tous au long des années d'études.

SAIDA et ZAHRA

Dédicace

A l'aide de DIEU, le tout puissant, ce travail est achevé ;

Nombreuses sont les personnes à qui je voudrais dédier ce travail et que je souhaite remercier seulement pour m'avoir soutenue et aidé à réaliser ce travail mais aussi pour avoir donné un sens à ma vie.

Je dédie ce travail à mes chers parents qui ont toujours été présents pour me soutenir, veiller à mon éducation et m'encourager à bien travailler dans tout ce que j'entreprends et plus particulièrement dans mes études. Je leur suis très reconnaissante. Leur fierté à mon égard aujourd'hui est pour moi la meilleure des récompenses.

A mon fiancé Abdeslam et sa famille.

A mes sœurs : Fatima, Taoufik, Yamina ;

A mes chères frères : Samah, Ahmed, Ali ;

A mes oncles Saïd, Ramdan et leurs familles ;

A mon adorable amie Amel, et sa famille

A ma très chère sœur Yamina et son mari Ziad

A mes ami(es) Besma, Samia, Soumia, Md Akli, Fouad, Koussaila

Mohamed, Medeni, Boussaad, Smail, Adel, Hamza

A mon binôme Saida, et sa famille

A tous les membres de l'association ITRAN Iryahene ;

A mes enseignants de primaire jusqu'à l'université et tous les étudiants de notre promotion

Master II Biochimie Appliquée 2014.

A tous, je vous souhaite tout le bonheur du monde et votre soleil éclaire tant et brille d'amour au quotidien.

Zahra

Dédicaces

Avec ma gratitude et grand amour, je dédie ce modeste travail :

A la mémoire de ma grand-mère et de mon père qui me manquent beaucoup, que la clémence de Dieu soit sur eux et les accueillait dans son vaste paradis, qui m'ont laissé un immense vide, rien ne pourrait le remplacer.

Ma chère grande- mère et mon cher père même si vous n'êtes pas là votre existence est éternelle dans mon cœur.

A celle qui a consacré son existence pour bâtir la mienne en m'offrant une éducation digne de confiance et qui m'a soutenu nuits et jours pendant tout mon parcours, à prunelle de mes yeux ma chère Mère ,a qui je témoigne toute mon affection que Dieu la protège et la garde en bonne santé inch Allah.

A mes adorables frères, ainsi qu'à mes chères sœurs et leurs maris.

Mes dédicaces ne seront pas complètes cité mes neuneus et nièces : Aghilas, Dihya, Ziri, Célia, Mélissa, Rayan et Sérine. Mes dédicaces sont adressées de tout mon cœur à mon fiancé Saïd et sa famille.

A tous mes amis(es)

A tous mes collègues de notre promotion master II biochimie appliquée 2014.

A tous ceux qui me sont chers.

Saida

Sommaire

*Liste des abréviations**Liste des figures**Liste des tableaux**Introduction* 1

Partie théorique

Chapitre I : Généralité sur *citrus limon*

I.1. Historique.....	2
I.2.Répartition géographique.....	2
I.3.Description botanique de citron	2
I.4. Classification botanique	3
I.5. Composition biochimique de citron.....	4
I.6.Les polyphénols de citron	6
I.7. Usage thérapeutique traditionnel	7
I.8. Activités biologiques liées aux polyphénols.....	7

Chapitre II : Généralités sur le diabète

II.1.Définition et classification.....	9
II.1.1. Le diabète de type 1.....	9
II.1.2. Le diabète de type 2.....	10
II.2. Les causes du diabète et diagnostic.....	10
II.2.1. Les cause du diabète.....	10
II.2.2. Critères de diagnostic.....	10
II.3. Prévention et traitement du diabète.....	11
II.3.1. Prévention	11
II.3.2. Traitement du diabète.....	11
II.4. Les remèdes traditionnels : une alternative ?.....	13

II.4.1. Les plantes antidiabétiques..... 13
II.4.2. Modes d'actions des plantes antidiabétiques..... 14

Partie pratique

Chapitre III : Matériel et méthodes

III.1. Matériel végétal..... 15
III.1.1. Récolte de l'échantillon..... 15
III.1.2. Séchage et broyage..... 15
III.2. Méthodes 15
III.2.1. Extraction des polyphénols 15
III.2.1.1. Macération..... 15
III.2.1.2. Délipidation..... 16
III.2.2. Fractionnement des polyphenols 16
III.3. Dosage des composés phénoliques 18
III.3.1. Dosage des polyphénols totaux 18
III.3.2. Dosage des flavonoïdes 18
III.4. Caractérisation phytochimique des composés phénoliques 19
III.4.1. Séparation par Chromatographie liquide à haute performance (HPLC) 19
III.5. Activités biologiques 20
III.5.1. Test d'inhibition de l'alpha- amylase..... 20
III.5.2. Test d'inhibition de la lipase 21
III.5.2.1. Par la méthode dosage spectrophotométrique..... 21

Chapitre IV : résultats et discussion

IV.1. Analyses phytochimiques..... 23

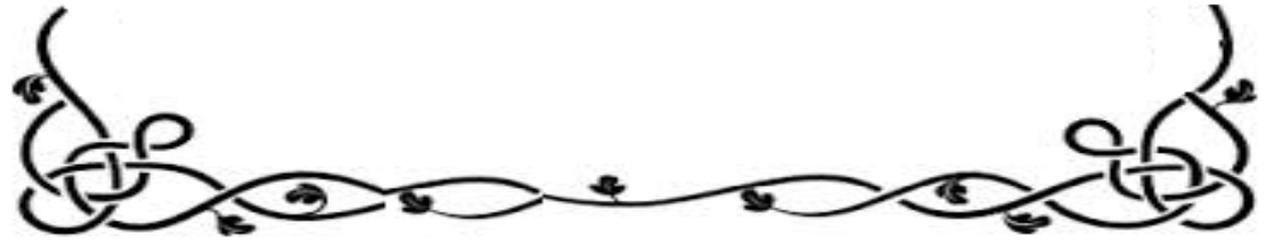
IV.1.1. Dosage des composés phénoliques	23
IV.1.1.1. Dosage des polyphénols totaux.....	23
IV.1.1.2. Dosage des flavonoïdes	23
IV.1.2. Caractérisation phytochimique	24
IV.1.2.1. Analyse des composés phénoliques sur HPLC	24
IV.2. Activité biologique des composés phénoliques	27
IV.2.1. Pouvoir inhibiteur de l'α-amylase.....	27
IV.2.2. Le pouvoir inhibiteur de la lipase	28
Conclusion et perspectives.....	30

Références bibliographiques

Annexes



Introduction



Le diabète est un groupe hétérogène de maladies métaboliques dont la caractéristique principale est une hyperglycémie résultant d'un défaut de sécrétion, d'action de l'insuline ou de ces deux anomalies associées (OMS, 2002). En plus des complications aiguës du diabète (hyperglycémie, acidocétose et/ou syndrome hyperosmolaire), l'hyperglycémie chronique provoque des complications dégénératives plus ou moins graves touchant le cœur, les vaisseaux, les yeux, les reins et les nerfs (Capet *et al.*, 1999).

L'impact de cette pathologie sur les systèmes de santé est très lourd à travers les pertes humaines, aux coûts liés aux traitements, à la prise en charge et aux complications.

Le traitement actuels du diabète de type 2 vise à soigner et non à guérir la maladie. Il repose, d'une part, sur l'amélioration de la sensibilité à l'action de l'insuline par l'activité physique régulière, les mesures diététiques et les médicaments insulinosensibilisateurs, d'autre part, sur l'amélioration de la sécrétion d'insuline par les médicaments insulinosécréteurs. De plus, le traitement peut comprendre une adjonction d'insuline (Charbonnel et Cariou, 1997).

La médecine traditionnelle basée sur l'utilisation des plantes médicinales pour le traitement de nombreuses maladies, dont le diabète sucré, continue à être utilisée, et au cours de ces dix dernières années sa popularité n'a fait qu'augmenter. Les pratiques de la médecine traditionnelle varient grandement d'un pays à l'autre et d'une région à l'autre.

Pour plusieurs plantes, les composés actifs responsables de l'activité pharmacologique ont été identifiés et isolés et les mécanismes cellulaires et moléculaires impliqués dans les effets thérapeutiques ont été partiellement ou complètement élucidés (Lamba *et al.*, 2000).

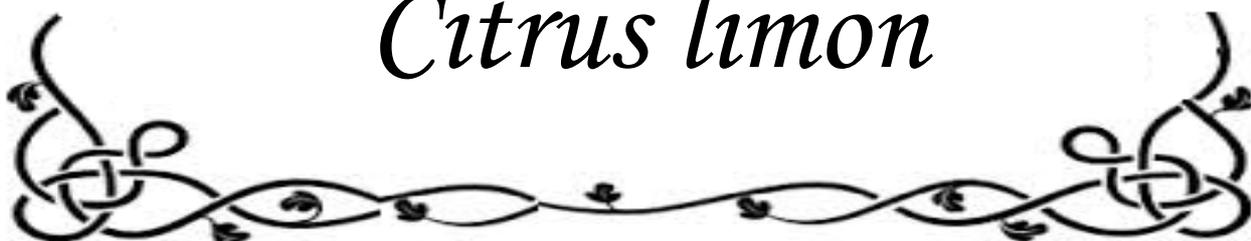
En Algérie, comme dans tous les pays du Maghreb et les pays en voie de développement, le recours à la médecine traditionnelle est largement répandu, et plusieurs remèdes à base de plantes utilisés individuellement ou en combinaison sont recommandés pour soigner le diabète sucré.

L'objectif de notre travail vise à démontrer la richesse en flavonoïdes de la plante *Citrus limon*, des rutacées et à déterminer ses propriétés biologiques. Pour cela notre étude englobe deux aspects, dont le premier est d'ordre phytochimique basé principalement sur l'extraction et la quantification des composés phénoliques et le fractionnement des flavonoïdes par entraînement avec différents solvants organiques. Il porte également sur le diagnostic et la séparation des principaux flavonoïdes par l'utilisation d'une technique chromatographique (HPLC). Le second aspect est consacré à une évaluation *in vitro* de l'activité antidiabétique et antihyperlipidémique des flavonoïdes vis-à-vis les enzymes α -amylase et la lipase.



Généralités sur

Citrus limon



I.1. Historique

Le citronnier ou *Citrus limon* est un arbuste originaire du sud-est asiatique, cultivé sur le littoral de la méditerranée et aussi dans toutes les régions du globe à climat semi-tropical (**Dubois, 2006**), c'est un agrume qui est issu d'une hybridation naturelle entre le Cédrat, la lime et le pamplemousse (**Ladaniya, 2008**).

Le citron c'est d'abord appelé -limon-, terme emprunté à l'Italien limone, qui venait lui-même de l'arabo-persan limun .Le mot est apparu dans la langue française en 1951.Le terme citron, né en 1398, est dérivé du latin *Citrus*.Il a graduellement remplacé *limon* dans la langue populaire (**Dugo et di-Giacomo, 2002**).

I.2.Répartition géographique

Les citronniers se trouvent dans des climats tropicaux et subtropicaux .Ils prospèrent dans les endroits où la température est entre 16°C et 29°C mais ils peuvent jusqu'à environ 5°C, les citronniers n'ont pas une phase dormante, les fleurs et les fruits murs peuvent exister au même temps (**Nerovique et al ., 2011**).

Les citronniers sont cultivés partout dans le monde, ils sont développés autour de la méditerranée dans les pays comme l'Italie,l'Espagne, le Portugal, la Turquie, le Liban et les pays de l'Afrique de nord. D'autres cultivateurs et exportateurs principaux des citrons incluent l'Australie, l'Afrique du sud, les Etats Unis et d'autres pays (**Dugo et di-Giacomo, 2002**).

I.3. Description botanique de citron

Le citronnier est un petit arbre épineux à feuilles persistantes, atteignant 3 à 6 m de hauteur, les fruits sont de forme ovale, avec un mamelon plus au moins apparent à leurs extrémités. La peau fine est colorée en jaune à maturité du fruit ; elle est pourvue de nombreuses glandes oléifères renfermant des essences. La pulpe, de coloration jaune ou verdâtre, est généralement riche en acide citrique, ce qu'il lui donne sa saveur acide (**Blancke, 2001**).

Cette plante est l'une des agrumes les plus vigoureuses, de croissance rapide, elle produit de nombreuses branches et fructifie abondamment, et la fructification de l'hiver est plus importante (de 60 à 70% de production annuelle de l'arbre) (**Dubois, 2006**). Les

Généralités sur *Citrus limon*

principales variétés méditerranéennes cultivées de citronnier sont «Verna », «Eureka », «Lisbonne », «Monachello », «Interdonato » et «Lunaris » (Blanke, 2001).

I.4. Classification botanique

Selon Nerovique et *al.* (2011), la classification de citron est la suivante :



Règne : *Plantae*

L'ordre : *Térébinthales*

Classe : *Dicotylédones*

Famille : *Rutaceae*

Genre : *Citrus*

Espèce : *Citrus limon*

Généralités sur Citrus limon

Tableau I : Les caractéristiques botaniques des différents organes du citronnier (Nerovique et al., 2011).

Organes	Caractéristiques botaniques	Images (source internet)
Feuilles	Feuilles persistantes, oblongues lancéolées, ordinairement de couleur vert foncé, avec un limbe nettement articulé et un pétiole nettement ailé.	
Fleurs	Fleurs à pétales blanc violacé, axillaires réunies en petits groupes.	
Fruits	Les fruits sont de forme ovale, avec un mamelon apparent à leurs extrémités. La peau est appelée écorce elle est jaune à maturité du fruit .La pulpe, de coloration jaune ou verdâtre.	

I.5. Composition biochimique de citron

I.5.1.Composition du fruit

Comme tous les agrumes, le citron est un fruit très juteux renfermant 90% d'eau, fortement acide (pH inférieur à 3). Le fruit a une haute teneur en vitamine C (40 à 50 mg/100g), les minéraux, les fibres alimentaire, les huiles essentielles et les caroténoïdes (Gonzalez-Molina et al., 2010) et avec des quantités considérables de flavonoïdes (naringosides et hésperidosides). La teneur de ce fruit en glucides est faible mais les fibres (cellulose, hémicelluloses et pectines) représentent 2,1% du poids total. La teneur en protéines ne dépasse pas 1g/100g. Diverses substances minérales ont été identifiées dans le citron à une concentration de 0,5g/100g dont le potassium est le minéral le plus abondant. Tableau N°3représentela composition moyenne du citron (pour 100 g) et le tableau N°4 représente la composition en métabolites primaires du citron (pour 100g).

Généralités sur Citrus limon

Tableau II : Composition moyenne du citron (pour 100 g) **Gonzalez-Molina et al., 2010**.

Minéraux	(mg)	Vitamines	(mg)
Phosphore	18,00	Vitamine C (Ac ascorbique)	52,00
Calcium	25,00	Provitamine A (B carotène)	0,011
Magnésium	16,00	Vitamine B1 (thiamine)	0,050
Soufre	12,00	Vitamine B2(Riboflavine)	0,020
Sodium	4,000	Vitamine B3=pp (nicotinamide)	0,200
Fe	0,500	Vitamine B5 (AC panothénique)	0,230
Cuivre	0,090	Vitamine B6 (pyridoxine)	0,070
Zinc	0,100	Vitamine B8(biotine)	0,005
Manganèse	0,030	Vitamine B9 (Ac folique)	0,009

Tableau III : Composition en métabolites primaires du citron (pour 100g) **Gonzalez-Molina et al., 2010**.

Composants	(g)
Glucides	2,50
Protéines	0,90
Lipides	0,40
Eau	88,5

I.6. Les polyphénols de citron

Le citron est très riche en composés phénoliques tels que les acides phénoliques et les flavonoïdes qui constituent la classe la plus dominante (**Tripoli et al., 2007**).

I.6.1. Les acides phénoliques

Deux types d'acides phénoliques existent dans le citron (**Gonzalez-molina et al., 2010**).

- les acides benzoïques : tels que l'acide protocatechique, l'acide hydroxybenzoïque et l'acide vanillique.
- acides hydroxycinamiques : tels que l'acide caféique, l'acide férulique, et l'acide p- coumarique.

I.6.2. Les flavonoïdes

Les flavanones, les flavones et les flavonols sont les trois principaux types de flavonoïdes de *Citrus limon* (**Ghasemi et al., 2009**).

I.6.2.1. Les flavanones

Les flavanones sont les composés majeurs de fruits de citrus limon (=90%), ils sont présents sous forme glycoside ou aglycone :

- Les formes glycosides se divisent en deux types : les neohesperidosides (naringine, néohespéridine, neoeriocitrine) et les rutinosides (hespéridine, narirutine et eriocitrine) (**Gonzalez-Molina et al., 2010 ; Peterson et al., 2006**).
- L'hespéridine et la naringénine sont les formes aglycones les plus importantes.

I.6.2.2. Les flavones

Les principaux flavones de citron sont : l'apégénine, la lutéoline, la diosmétine et la diosmine, ce dernier possède des applications pharmacologiques très importantes (**Del-Rio et al., 2004**).

I.6.2.3. Les flavonols

Les flavonols les plus abondants dans le citron sont le kampferol, la myrecétine, la quercétine et la rutine (**Calomme et al., 1996**).

I.7. Usage thérapeutique traditionnel

Depuis longtemps, le fruit et les feuilles de citrus limon ont été utilisés pour le traitement de quelques maladies telles que le rhume, la grippe, l'angine, la fièvre, les varices et les hémorroïdes, c'est un important désinfectant qui a déjà été utilisé pour la préparation du champ opératoire et en dermatologie pour combattre certaines affections de la peau, aussi comme un antidote pour divers poisons et spécialement les morsures des scorpions et les piqûres des insectes. Par ailleurs, citrus limon a été employé pour empêcher les nausées et le vomissement pendant la grossesse, et un stimulant de l'appétit (**Del-Rio et al., 2004 ; Arias et Ramon-Laca, 2005**).

Citrus limon est aussi très utilisé en cosmétique, il adoucit et hydrate la peau, fortifie les ongles fragiles, fait briller les cheveux tout en atténuant les pellicules.

I.8. Activités biologiques liées aux polyphénols de citrus limon

Les propriétés thérapeutiques de citrus limon ont été toujours associées à leurs teneurs en vitamine C et ce n'est que récemment qu'a été montré que leurs polyphénols et principalement les flavonoïdes jouent un rôle très important dans cet égard (**Del-Rio et al., 2004**).

Plusieurs études ont démontré que les flavonoïdes de *citrus limon* possèdent des activités biologiques très importantes telles que l'activité antimicrobienne, anti-inflammatoire, anti-oxydante, anticancéreuse, action vasodilatatrice, action contre les maladies cardiovasculaires, antiproliférative. (**Del-Rio et al., 2004 ; Tripoli et al., 2007**).

I.8.1. Activité anti-inflammatoire

Plusieurs études ont démontré que les flavonoïdes des agrumes avaient des propriétés anti-inflammatoires. Ils sont capables d'inhiber les kinases et phosphodiésterases essentiels pour l'activation et la transduction du signal cellulaires. Ils ont également une incidence sur l'activation de certain nombre de cellules impliquées dans la réponse immunitaire, y compris les lymphocytes T et B (**Manthey et al., 2001**).

I.8.2. Activité vasodilatatrice

Par sa teneur en hespéridine, diosmine et d'autres flavonoïdes, ayant une action similaire à la vitamine P, le citron renforce la résistance capillaire et améliore la circulation veineuse (Fuster, 1997).

I.8.3. Activité antiallergique

Citrus limon a également des propriétés antiallergiques qui sont dues à sa richesse en quercétine, hespéridine et diosmine, étant des inhibiteurs de l'histamine, un neurotransmetteur impliqué dans les réactions allergiques et l'inflammation (Gonzalez-Molina et al., 2010).

I.8.4. Activité antimicrobienne et antiviral

Plusieurs études expérimentales ont montré que les flavonoïdes de *citrus limon* ont une activité antimicrobienne très importante :

- La quercétine et l'hespéridine inhibent l'infectiosité et la réplication de l'herpès, le poliovirus, le virus para influenza et le virus syncytial (Tripoli et al., 2007).
- Hespéridine, l'aglycone d'hespéridine, possède une activité antimicrobienne modérée contre *Salmonella typhi* et *Salmonella typhimurium* (Kawaguchi et al., 2004).

I.8.5. Activité anticancéreuse

Récemment, l'influence des flavonoïdes de citron sur le cancer a été mise à jour (Gonzalez-Molina et al., 2010), l'activité anticancéreuse des citroflavonoïdes peut se produire par deux effets selon Tripoli et al. (2007).

- Effet antimutagène : La naringénine et la rutine ont un effet photo-protecteur contre les UV.
- Effet antiprolifératif : Les citroflavonoïdes sont démontrés qu'ils pouvaient ralentir la prolifération de plusieurs lignées de cellules cancéreuses et diminuer la croissance des métastases.

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

*Généralités sur
le diabète*

II .Généralités sur le diabète

II.1.Définition et classification

Selon l’OMS, le diabète est une maladie chronique qui apparaît lorsque le pancréas ne produit pas suffisamment d’insuline ou que l’organisme n’utilise pas correctement l’insuline qu’il produit. L’insuline est une hormone qui régule la concentration de sucre dans le sang.

On dit qu'une personne est diabétique quand son taux de glucose dans le sang (ou glycémie), à jeun, est supérieure à 1.26 g/L ou 7 mmol/L.

La concentration sanguine élevée de sucre, dite hyperglycémie, est un effet fréquent du diabète non contrôlé qui conduit avec le temps à des atteintes graves de nombreux systèmes organiques (**Hamza, 2011**).

En effet, le diabète peut endommager(**Vanderwood et al., 2010**).

- le cœur : 50% des diabétiques meurent d’une maladie cardio-vasculaire (principalement cardiopathie et accident vasculaire cérébral).
- Les vaisseaux sanguins et les yeux : La rétinopathie diabétique est une cause importante de cécité et survient par suite des lésions des petits vaisseaux sanguins de la rétine qui s’accumulent avec le temps. Au bout de 15 ans de diabète, près de 2% des sujets deviennent aveugles et environ 10% présentent des atteintes visuelles graves.
- Les reins : 10 à 20% des diabétiques meurent d’une insuffisance rénale.
- Les nerfs : environ 50% des diabétiques sont touchés par la neuropathie diabétique qui fait suite aux lésions nerveuses.

On peut distinguer essentiellement deux types de diabète (**ADA, 2008**) :

II.1.1.Diabète de type 1

Connu aussi sous le nom de diabète insulino-dépendant (DID) est caractérisé par une production insuffisante d’insuline et exige une administration quotidienne de cette dernière.

Le diabète de type 1 représente 10% des diabètes rencontrés dans le monde.

Les symptômes sont les suivants :excrétion excessive d’urine (polyurie), sensation de soif (polydipsie), faim constante, perte de poids, altération de la vision et fatigue. Ces symptômes peuvent apparaître brutalement.

II.1.2. Diabète de type 2

Appelé diabète non insulino-dépendant (DNID) résulte d'une mauvaise utilisation de l'insuline par l'organisme. Le diabète de type 2 représente 90% des diabètes rencontrés dans le monde. Il est en grande partie le résultat d'une surcharge pondérale et de la sédentarité.

Ses symptômes peuvent être les mêmes que ceux du diabète de type 1 mais souvent à un degré moindre. De ce fait, la maladie peut être diagnostiquée plusieurs années après son apparition, une fois les complications déjà présentes.

II.2. Causes du diabète et diagnostic

II.2.1. Causes du diabète

Le diabète de type 2 qui représente jusqu'à 95% des diabétiques résulte essentiellement de facteurs liés au mode de vie (stress, sédentarité...) ainsi que de la combinaison de facteurs génétiques et environnementaux. Les personnes ayant une prédisposition génétique sont ainsi les plus susceptibles de souffrir du diabète. L'émergence de la recherche génétique a permis de mettre en évidence des corrélations entre certains marqueurs génétiques et le risque de diabète (gènes de prédisposition) (ADA, 2008).

L'obésité et particulièrement l'accumulation de gras dans les organes de l'abdomen qui entraînent une résistance à l'insuline, demeurent également l'un des principaux facteurs de déclenchement de la maladie. En effet, pour compenser la résistance à l'insuline, le pancréas se met à produire davantage d'insuline jusqu'à son épuisement et la sécrétion d'insuline diminue. Donc, une carence relative d'insuline provoque une hyperglycémie de façon continue.

Le diabète de type 2 est donc considéré comme le résultat de deux phénomènes : d'abord une résistance à l'insuline, ensuite l'épuisement du pancréas

L'âge joue également un rôle dans l'apparition du diabète. Selon l'Institut de veille sanitaire, le taux maximum de prévalence du diabète traité est constaté chez les personnes âgées de 70 à 79 ans, avec 17.7% chez les hommes et 11.5% chez les femmes. L'âge moyen à partir duquel le diabète risque de se développer est ainsi de 45 ans.

II.2.2. Critères de diagnostics

Le diagnostic de diabète peut être établi de trois façons différentes :

1) Symptômes de diabète (polyurie, polydipsie, amaigrissement inexplicable, somnolence voire coma) et glycémie quelle que soit l'heure $\geq 2,00\text{g/L}$ ($11,1\text{mmol/l}$).

2) Glycémie à jeun $\geq 1,26\text{g/l}$ ($7,00\text{mmol/l}$).

3) Glycémie 2 h après une charge de 75 g de glucose lors d'une hyperglycémie provoquée par voie orale $\geq 2,00\text{g/l}$ ($11,1\text{mmol/l}$) (**Drouin *et al.*, 1999**).

II.3. Prévention et traitement du diabète

II.3.1. Prévention

Maladie typiquement liée au mode de vie, le diabète de type 2 s'est développé de manière exponentielle au cours des trois dernières décennies.

Pour prévenir ou retarder l'apparition du diabète de type 2 et ses complications, des mesures simples modifiant le mode de vie s'avèrent très efficaces : un régime alimentaire sain, une activité physique régulière, le maintien d'un poids corporel normal et l'arrêt du tabac

(**Paulweber *et al.*, 2010**).

L'OMS vise à susciter et à soutenir l'adoption de mesures plus efficaces de surveillance, de prévention et de lutte contre le diabète et ses complications, en particulier dans les pays à revenu faible et intermédiaire en se concentrant sur des approches à l'échelle des populations par :

- Une sensibilisation au diabète en tant qu'épidémie mondiale, notamment en partenariat avec la Fédération Internationale du Diabète.
- Une surveillance permanente du diabète et de ses facteurs de risque.
- Un établissement des normes et des critères de soins pour cette maladie

(**Paulweber *et al.*, 2010**).

II.3.2. Traitement du diabète

Le diabète non insulino-dépendant est une maladie métabolique complexe qui concerne non seulement le métabolisme glucidique mais aussi le métabolisme lipidique.

Le traitement d'un diabétique non insulino-dépendant vise non seulement à baisser les valeurs glycémiques et les maintenir normalement, mais aussi à corriger les autres facteurs de risque vasculaire souvent associés. Les personnes diabétiques peuvent ainsi mener une vie normale et échapper aux éventuelles complications à long terme.

La stratégie de prise en charge se résume en quatre étapes :

- Traitement non pharmacologique

Après avoir diagnostiqué le diabète, pendant 4 à 6 mois, le patient diabétique est soumis à un régime hygiéno-diététique strict lui permettant de perdre du poids et par conséquent réduire de manière significative les valeurs glycémiques, tensionnelles et lipidiques. Si l'objectif requis

n'est pas atteint après 4 à 6 mois, un traitement médicamenteux s'avère indispensable **(Paulweber et al., 2010)**.

➤ Monothérapie orale

Les médicaments antidiabétiques actifs par voie orale à action hypoglycémiante sont disponibles actuellement. Ils permettent d'obtenir un contrôle glycémique correct qui est évalué tous les 4 mois.

- Biguanides : ils améliorent la sensibilité à l'insuline.
- Sulfamides hypoglycémiants : ils stimulent la sécrétion d'insuline et ont une activité hypoglycémiante plus marquée.
- Inhibiteurs des α -glucosidases : ils ont une activité hypoglycémiante plus faible.
- Insulino-sécrétagogues (glinidines) : ils sont surtout actifs sur l'hyperglycémie postprandiale.

En cas d'échec, une modification du traitement est recommandée.

➤ Bithérapie orale

Elle permet de prescrire deux classes d'hypoglycémiants en association.

- Biguanides et sulfamides,
- Biguanides et inhibiteurs des α -glucosidases,
- Sulfamides et inhibiteurs des α -glucosidases.

➤ Insulinothérapie

Si les différents traitements précédents se montrent inefficaces pour un diabétique de type 2, un traitement par l'insuline est obligatoire. L'insulinothérapie permet donc d'obtenir une amélioration nette du contrôle glycémique. Parfois, on peut lui associer la prescription de biguanides qui en potentialisent l'action **(Paulweber et al., 2010)**.

En outre et en plus de la correction de l'hyperglycémie, la prise en charge globale du risque cardiovasculaire est plus que nécessaire. Pour cela, le diabétique doit arrêter impérativement le tabac, traiter les anomalies lipidiques et l'hypertension artérielle même légère.

Si le diabétique est atteint de complications cardiovasculaires, il doit bénéficier d'un traitement antiagrégant plaquettaire (prise d'aspirine par exemple). D'autre part, La prévention et le traitement de la rétinopathie et la néphropathie diabétiques sont basés sur l'établissement d'un équilibre glycémique et un contrôle strict de la tension.

Les traitements du diabète s'avèrent donc difficiles et coûteux d'où la prise de conscience de la nécessité de la prévention (**Paulweber et al., 2010**).

II.4. Les remèdes traditionnels : une alternative ?

II.4.1. Les plantes antidiabétiques

Au cours des dernières décennies, une attention particulière a ciblé l'utilisation des plantes médicinales. L'un des volets les plus dynamiques de la recherche actuelle est celui de l'évaluation des médicaments traditionnels à base de plantes dans le traitement et le contrôle du diabète conformément aux recommandations de l'OMS.

De nombreuses plantes sont considérées traditionnellement comme antidiabétiques, certaines sont à l'origine de la mise au point de médicaments tel que la metformine grâce à *Galega officinalis* (**Oubré et al., 1997 ; Grover et al., 2002**)

➤ Dans le monde

Plusieurs enquêtes ethnopharmacologiques et ethnobotaniques ont été menées à travers le monde pour recenser les plantes antidiabétiques utilisées dans les différentes pharmacopées traditionnelles.

Dans ce contexte, Plus 1123 espèces de plantes recensées par les ethno pharmacologues, sont expérimentées contre le diabète de type 2. Ces plantes représentent 725 genres et 183 familles (**Bailey et Day, 1989 ; Marles et Farnsworth, 1995**).

➤ En Algérie

L'Algérie, de part sa situation géographique, bénéficie d'un climat très diversifié, les plantes poussent en abondance dans les régions côtières, montagneuses et également sahariennes. Ces plantes constituent des remèdes naturels potentiels qui peuvent être utilisés en traitement curatif et préventif (**Mahmoudi, 1987 ; Belouad, 1998**).

Les plantes médicinales trouvent encore leurs indications thérapeutiques dans le traitement de plusieurs maladies, y compris le diabète.

Des enquêtes ethnobotaniques récentes effectuées dans le but de répertorier les plantes médicinales antidiabétiques dans l'Ouest Algérien (**Allali et al., 2008**) et l'Est Algérien (**Hamza, 2011**), soulignent l'importance qu'occupe ce patrimoine végétal dans la pharmacopée traditionnelle et surtout dans le traitement du diabète.

II.4.2. Modes d'actions des plantes antidiabétiques

Une très grande variété de mécanismes est impliquée dans la baisse du niveau de glucose dans le sang. Ceci est dû à la grande variété de classes chimiques des constituants hypoglycémiantes provenant des plantes. Certains de ces composés se révèlent véritablement hypoglycémiantes et pourraient avoir un potentiel thérapeutique, alors que d'autres produisent simplement une hypoglycémie comme effet parallèle de leur toxicité, particulièrement hépatique (Jarald *et al.*, 2008).

L'activité antidiabétique des plantes peut dépendre de plusieurs mécanismes (Jarald *et al.*, 2008 ; Kashikar et Kotkar , 2011 ; Singh *et al.*, 2012):

- Accélération de la consommation du glucose sanguin : Melon amer
- Normalisation ou suppression de l'hyperglycémie induite par un régime riche en glucides en augmentant la tolérance au glucose : racine de Ginseng.
- Empêchement de l'absorption du glucose au niveau intestinal : Figuiers de Barbarie,
- Réduction de la résistance à l'insuline ;
- Stimulation de la synthèse et la libération de l'insuline pancréatique : Myrtille, Galega
- Apport de quelques éléments nécessaires comme le Calcium, le Zinc, le Magnésium, le Manganèse et le Cuivre pour les cellules β ;
- Régénération ou/et réparation des cellules pancréatiques β lésées ;
- Effet protecteur de la destruction des cellules β ;
- Augmentation le nombre de cellules β dans les îlots de Langerhans ;
- Inhibition de la réabsorption rénale du glucose ;
- Inhibition de β -galactosidase, α -glucosidase et α -amylase ;
- Prévention du stress oxydatif, qui peut être impliqué dans le dysfonctionnement des cellules β ;
- Stimulation de la glycogénèse et de la glycolyse hépatique.



Matériel

et méthodes

A decorative flourish consisting of a central horizontal line with a series of small, dark, teardrop-shaped motifs. This line is flanked by two large, intricate, symmetrical scrollwork designs that curve upwards and outwards, resembling stylized floral or foliate patterns.

III.1. Matériel végétal

III.1.1. Récolte de l'échantillon

Notre étude a été réalisée sur les fruits de *Citrus limon* appelés localement citronnier, que nous avons récolté durant le mois de février 2014 au niveau d'une propriété privée sise à Akbou wilaya de Béjaia au nord-est de l'Algérie.

Les échantillons de fruits prélevés à partir d'un citronnier sain, bien développé et ne présentant aucune lésion, ont subi une série de traitements en vue de réaliser l'extraction et le dosage des différentes classes de polyphénols ainsi que l'évaluation de l'activité anti diabétique. Le travail est effectué au laboratoire d'enzymologie à l'université A. Mira Béjaia.

III.1.2. Séchage et broyage

Les fruits de *Citrus limon* sont lavés et débarrassés de la poussière et d'autres particules puis soumis à un séchage à l'air libre durant 15 jours, puis mis à l'étuve à 40°C, le séchage complet est confirmé par la stabilisation du poids de l'échantillon 56g.

Après le séchage, les échantillons sont broyés à l'aide d'un broyeur électrique afin d'avoir une poudre fine.

III.2. Méthodes

III.2.1. Extraction des polyphénols

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

III.2.1.1. 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 peuvent être utilisés pour l'extraction des composés phénoliques, tels que : méthanol, éthanol...etc. Un solvant pur de polarité bien définie est utilisé dans cette étude : le méthanol.

Une prise d'essai de la poudre (56g) est mise en contact avec 400 ml de solvant d'extraction. Le mélange est soumis à une agitation, à l'aide d'un agitateur magnétique pendant 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, le mélange a été filtré à l'aide d'un papier filtre.

III.2.1.2. Délipidation

Dans l'ampoule 400 mL de l'extrait méthanolique est ajouté à 400 mL de l'hexane (V :V). L'ampoule ne doit pas être remplie plus qu'aux 2/3 sinon l'agitation n'est plus assez efficace, reposer l'ampoule sur son support, enlever le bouchon et laisser décanter et récupérer la phase aqueuse.

III.2.2. Fractionnement des polyphénols

L'extrait méthanolique obtenu est soumis à une deuxième extraction de type liquide/liquide à fin de pouvoir séparer les fractions de polyphénols. Dans ce cas, nous avons utilisé deux solvants différents ; l'acétate d'éthyle et le butanol. Toutes les étapes d'extractionsont résumées dans la figure N°5.

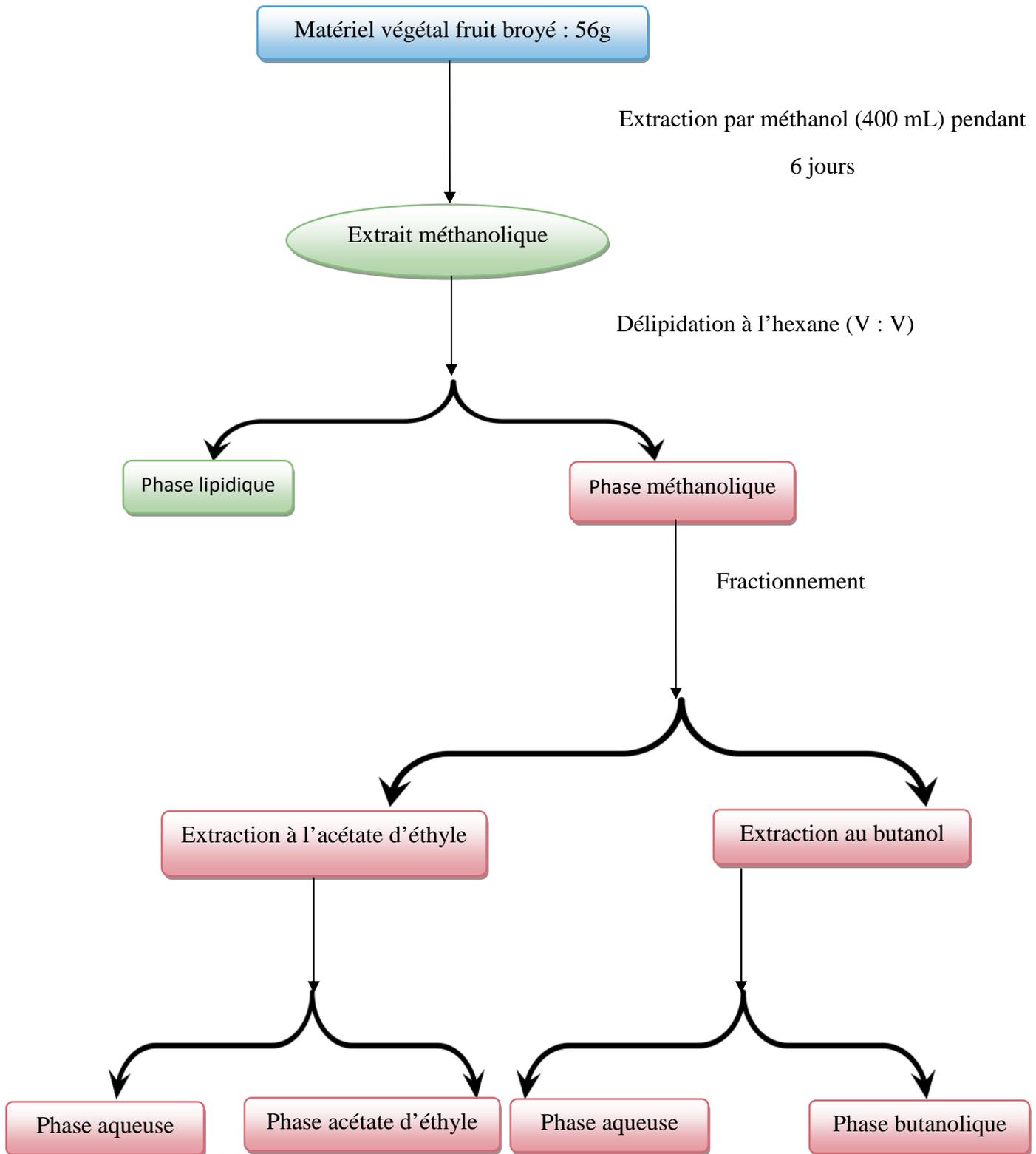


Figure N°1 : Protocole d'extraction des polyphénols à partir du fruit de *Citrus limon*.

III.3. Dosage des composés phénoliques

III.3.1. Dosage des polyphénols totaux

La détermination quantitative des polyphénols totaux contenus dans l'extrait méthanolique, des fruits de *Citrus limon* est réalisée par spectrophotométrie, selon la méthode d'**Owen et Johns. (1999)**. Cette méthode repose sur l'utilisation du réactif de Folin-ciocalteu.

➤ Principe

Cette méthode est basée sur la réaction d'oxydoréduction, le réactif de Folin-ciocalteu est utilisé comme oxydant, il est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et l'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Lors de l'oxydation des polyphénols, le Folin est réduit en un mélange bleu d'oxyde de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}) et ça en présence de carbonate de sodium. L'intensité de la coloration est proportionnelle au taux de composés phénoliques (**Ribereau-Gayon et al., 1968**).

➤ Mode opératoire

La teneur en composés phénoliques totaux de l'échantillon est déterminée selon la méthode décrite par **Owen et Johns. (1999)** ; 2,5 mL de chaque extrait méthanolique sont additionnés avec 0,5 mL de folin-ciocalteu (1N) et 22,5 mL d'eau distillée. Après 1 minute d'agitation, 1,5 mL de la solution carbonate de sodium (Na_2CO_3) sont ajoutés. Par la suite, les mélanges sont incubés pendant deux heures à l'obscurité. Une lecture d'absorbance est effectuée au spectrophotomètre à 740 nm contre un blanc témoin.

La concentration en composés phénoliques des extraits est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage réalisée avec de l'acide gallique (0,24-2 mg/mL) (annexe).

III.3.2. Dosage des flavonoïdes

➤ Principe

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner, en présence de chlorure d'aluminium, un complexe jaunâtre par chélation de l'ion Al^{3+} , la coloration jaune produite est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présente dans l'extrait (**Ribereau-Gayon, 1968**).

➤ Mode opératoire

La détermination de la quantité de flavonoïdes totaux contenue dans les fruits de *Citruslimon* est réalisée par la méthode colorimétrique de **Djeridaneet al. (2006)**. 1mL de la solution mère est ajouté à 0,5 mL de la solution de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) à 2%.Après 30minutesd'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance est lue au spectrophotomètre à 430 nm, contre un blanc de méthanol.

La quantité des flavonoïdes contenue dans l'extrait est calculée par référence à une gamme d'étalonnage établie avec la quercétine (5-25 μg /mL).

III.4. Caractérisation phytochimique des composés phénoliques

III.4.1. Séparation par Chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

➤ Principe

D'une manière générale l'HPLC, qui fait intervenir une phase stationnaire solide constituée de particules fines et une phase mobile liquide, demeure la technique la plus souvent utilisée car elle présente de nombreux avantages telles que sa simplicité de mise en œuvre, sa reproductibilité, une gamme étendue de phases stationnaires commercialement disponibles permettant de moduler les interactions avec le soluté, et ses diverses possibilités de couplages avec d'autres techniques chromatographiques et/ou des systèmes de détection.

➤ Mode opératoire

L'isolement des polyphénols des extraits d'acétate d'éthyle et butanolique de citrus limon a été effectué par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) de modèle varian, ProStar 210 couplée à un détecteur à barrette diodes (ProStar 335) avec une colonne type VarianMicrosorb 100 C18 Dynamax en phase inverse de dimension 250×21,4 mm et 5 μm à température ambiante.

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

Tableau IV: Gradient de solvant utilisé pour l'analyse des extraits butanoliques et d'acétate d'éthyle en HPLC.

Temps (min)	A%	B%
0	95	5
5	95	5
40	80	20
50	80	20
55	0	100
60	0	100

Solvant **A** : eau à 0,1% TFA, solvant **B** : acétonitrile 0,1% TFA (Acide trifluoroacétique).

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

III.5. Activités biologiques

III.5.1. Test d'inhibition de l'alpha- amylase

➤ Principe

L'amylase de mammifère, sécrétée par la glande pancréatique et de la salive comme étant une enzyme glycolytique à travers le suc pancréatique dans l'intestin, est l'enzyme clé qui catalyse la première étape du processus digestif des hydrates de carbone (glucides).

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

➤ Mode opératoire

La technique utilisée dans le cadre de ce travail est selon la méthode **Sindhun *et al.* (2013)**

Au préalable deux solutions ont été préparées, à savoir la solution mère d'amidon à 1 % et la solution d'amylase à 2,5 mg /mL dans le tampon phosphate 0,02 M à pH 6,9, les deux solutions sont conservées à une température de 4°C.

Le mélange réactionnel contient 300 µL du tampon phosphate, 80µL de chacun des extraits (acétate d'éthyle et butanolique) à (0,05-0,7 µg/mL)et 20 µL d'amylase. Le mélange est incubé pendant 15min, ensuite 100 µL d'amidon sont ajoutés. Enfin, la réaction enzymatique est stoppée par l'ajout de 2 mL de la solution acide citrique à 50%.

L'absorbance est enregistrée à 450 nm contre un blanc. L'activité inhibitrice de chaque extrait est calculée selon la formule suivante.

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{DO \text{ contrôle} - DO \text{ échantillon test}}{DO \text{ Contrôle}} \times 100$$

III.5.2. Test d'inhibition de la lipase

III.5.2.1. Par la méthode dosage spectrophotométrique

➤ Principe

Nous avons aussi évalué l'effet de nos extraits phénoliques sur l'activité de la lipase pancréatique porcine.

Cette enzyme hydrolyse l'huile d'olive (poly insaturé) riche en triglycérides en produit le glycérol et 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 les extraits est déterminée par la méthode d'**Oben. (2010)**, avec quelques modifications.

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

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{DO \text{ contrôle} - DO \text{ échantillon}}{DO \text{ Contrôle}} \times 100$$

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

Résultats

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

et discussion

IV.1. Analyses phytochimiques

IV.1.1. Dosage des composés phénoliques

IV.1.1.1. Dosage des polyphénols totaux

Le contenu des composés phénoliques a été déterminé par la méthode de Folin-ciocalteu. La pulpe du citron présente $63,63 \pm 0,05$ mg EAG/g d'extrait sec de la plante. Ces résultats sont quasiment conformes à ceux obtenus par les travaux de **Dan et al. (2011)**, qui ont signalé une teneur de l'ordre de $68,10 \pm 2,3$ mg EAG/g pour l'extrait sec de la pulpe du fruit de *Citrus nobilis* sur lequel ils travaillaient.

La quantité des composés phénoliques d'extrait méthanolique de la plante étudiée, dépend essentiellement : de leur origine, la variété, la saison de récolte, les conditions climatiques et environnementales, la localisation géographique, les différentes maladies qui peuvent affecter la plante, la maturité de la plante et la durée de conservation. D'autres paramètres peuvent influencer significativement le taux et la nature des composés phénoliques à savoir le type de solvant d'extraction, la taille des particules et le temps d'extraction (**Goli et al., 2005 ; Naczek et Shahidi, 2006**).

IV.1.1.2. Dosage des flavonoïdes

Une couleur jaunâtre est formée dans tous les extraits des fruits secs de *citrus limon* après l'addition de la solution de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$). Cette coloration révèle la présence des flavonoïdes des extraits analysés.

La teneur en flavonoïdes est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée avec la quercitrine $\mu g/mL$ (annexes).

La méthode de fractionnement en utilisant le butanol et l'acétate d'éthyle comme des solvants de séparation a permis d'obtenir des taux de flavonoïdes correspondant à $2,72$ mg EQ /g ES et $2,03$ mg EQ / g ES respectivement. Ces résultats sont presque identiques à ceux de **Del-Rio et al. (2004)** qui ont montré une teneur de $3,06$ mg EQ /g ES de l'extrait méthanolique de la pulpe de fruits de *citrus limon*.

La teneur des flavonoïdes dans la pulpe de citron obtenues à partir des extraits butanolique et d'acétate d'éthyle est représentée dans la figure N°02, ils sont exprimés en mg EQ/g ES.

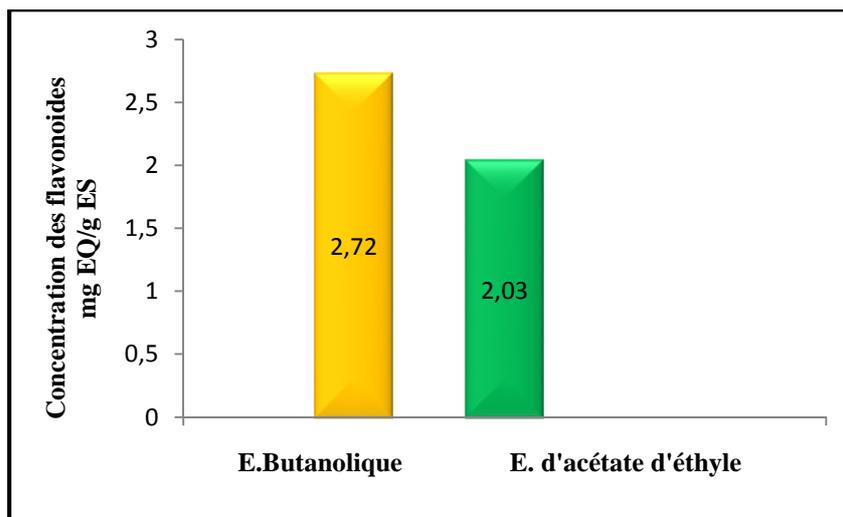


Figure N°02 : Teneurs en flavonoïdes dans les extraits de la pulpe de fruit de *citrus limon*.

L'extraction des flavonoïdes à partir de la matière végétale dépend de plusieurs facteurs qui contribuent à son efficacité : la méthode d'extraction, la granulométrie des particules, la durée d'extraction, la nature et le volume du solvant utilisé (Levizou et al., 2004).

IV.1.2. Caractérisation phytochimique

IV.1.2.1. Analyse des composés phénoliques sur HPLC.

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

Les profils chromatographiques correspondant au profil des analyses qualitatives des extraits butanoliques et d'acétate d'éthyle de la pulpe de *citrus limon* sont représentés au niveau des figures N° 04 et 05. La sortie des flavonoïdes sur la colonne dépend de leurs polarités et la

polarité du solvant utilisé. De ces résultats nous remarquons que l'ensemble des extraits contiennent suffisamment de flavonoïdes.

Les analyses sur la colonne à haute performance révèlent l'existence de certains flavonoïdes qui sont conformes aux résultats trouvés par **Shie et Lay. (2013)**.

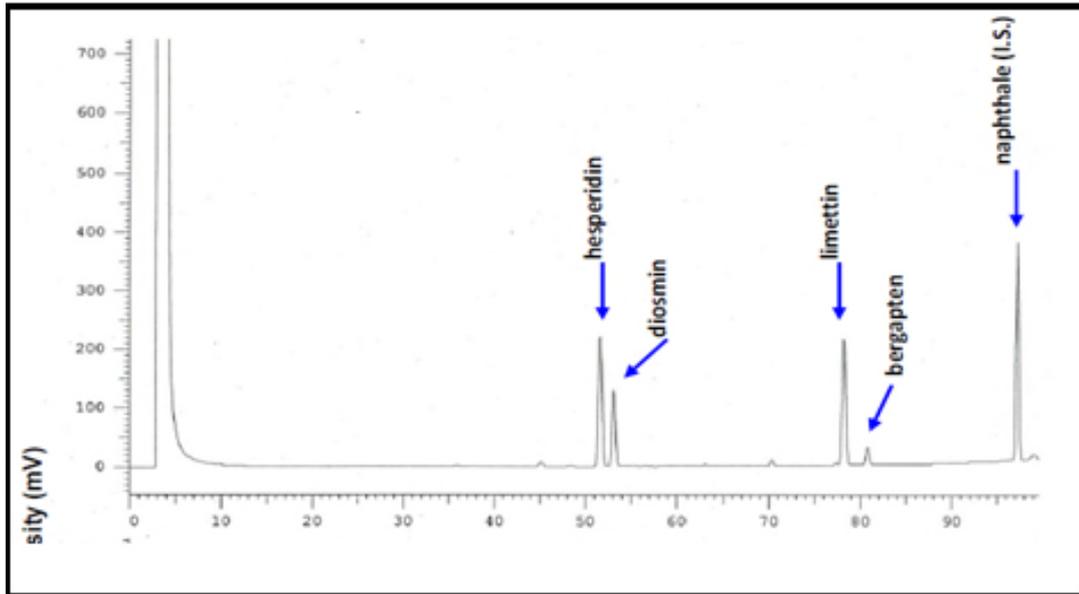


Figure 03: Profil HPLC de la solution standard commercialisée (Shie et Lay, 2013).

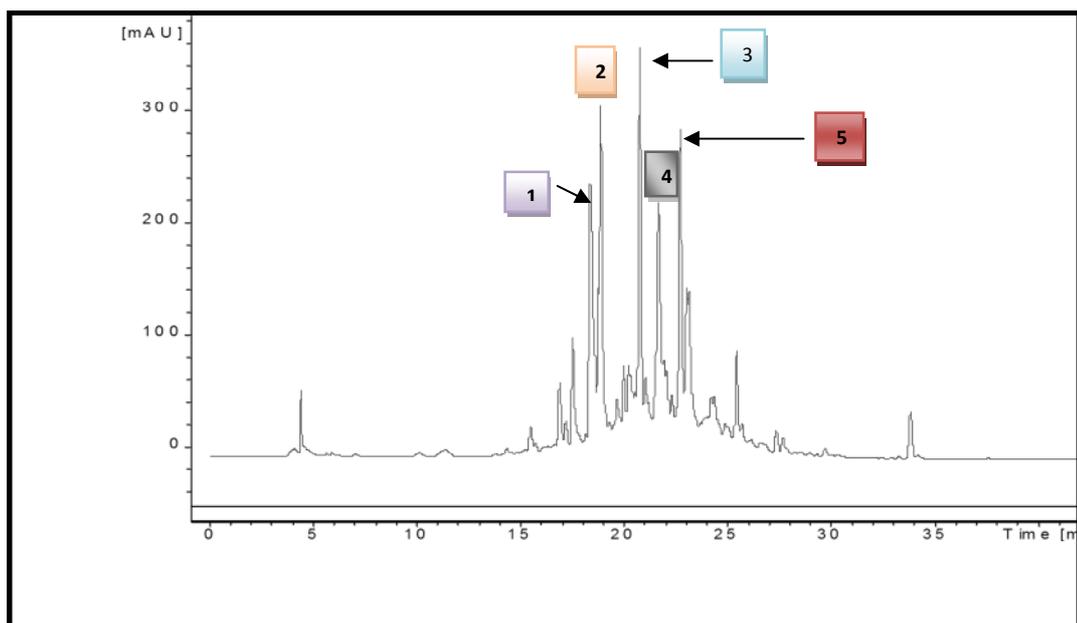


Figure N°04: Profil HPLC de l'extrait d'acétate d'éthyle de la pulpe de *citrus limon*.

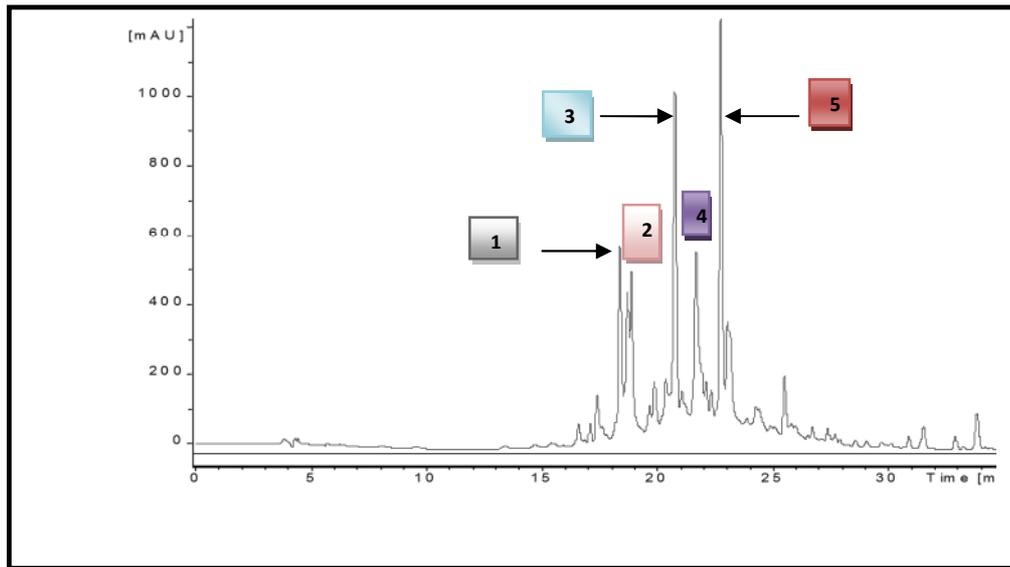


Figure N°05 : Profil HPLC de l'extrait butanolique de la pulpe de *citrus limon*.

Les résultats de l'analyse qualitative par HPLC des composés phénoliques ont été identifiés par la méthode est représentés dans le tableau N°V.

L'identification de ces flavonoïdes a été faite sur la base des données du profil HPLC des standards décrit par (Shie et Lay, 2013). Et aussi en se basant aux propriétés de solubilité des flavonoïdes.

Tableau V: Type des flavonoïdes extraits par le butanol et l'acétate d'éthyle.

Numéro	Temps de rétention	Type de flavonoïde
1	18	Hespéridine
2	19	Diosmine
3	21	Limettine
4	22	Bergaptène
5	23	Naphthale

IV.2. Activité biologique des composés phénoliques

La mise en évidence du pouvoir antidiabétique des extraits de la pulpe de *citrus limon* a été réalisée par deux techniques enzymatiques (la capacité inhibitrice de α -amylase et la capacité inhibitrice de la lipase).

Très peu de travaux ont été réalisés sur l'étude des propriétés antidiabétique de la plante choisie *citrus limon*.

IV.2.1. Pouvoir inhibiteur de l' α -amylase

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

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

L'ensemble des résultats obtenus à partir des extraits butanoliques et d'acétate d'éthyle de la plante montre qu'ils ont la capacité d'inhiber l'activité de α -amylase avec des valeurs de IC_{50} égale à $316,22 \pm 0.3$ ($\mu\text{g/mL}$) avec un pourcentage d'inhibition égale à 56,7 % et IC_{50} de $501,18 \pm 0.1$ ($\mu\text{g/mL}$) avec un pourcentage d'inhibition égale à 55,6 % respectivement. Ce pouvoir inhibiteur peut être expliqué par le fait que les extraits butanoliques et d'acétate d'éthyle possèdent des composés portant des groupements fonctionnels proches de ceux du substrat qui est l'amidon, ce qui a occupé le site actif de l'enzyme.

Ces résultats sont supérieurs à ceux trouvés par **Sarker et al. (2014)** qui ont montré un pourcentage d'inhibition de α - amylase à 28,71% à une concentration de 0,5 mg/mL de l'extrait méthanolique et de IC_{50} égale à $3,638 \pm 0,190$ (mg /mL), et à 55,38% à une concentration de 0,25 mg/mL de l'acarbose (comme un standard potentiel) et de IC_{50} égale à $0,912 \pm 0,015$ chez le fruit de *citrus macroptera*.

Le tableau N°VI récapitule les valeurs d' IC_{50} et les % d'inhibition de l'activité de α -amylase par les deux extraits.

Tableau VI : Récapitulation des valeurs d'IC₅₀ et des % d'inhibition de l'activité de α-amylase par les extraits butanoliques et d'acétate d'éthyle.

Concentration µg /mL	% d'inhibition de la α-amylase par l'extrait butanolique	IC ₅₀ (µg/mL)	% d'inhibition de α-amylase par l'extrait d'acétate	IC ₅₀ (µg/mL)
50	27,2	316.22	24,3	501.18
100	39,9		34,8	
300	49,7		47,9	
500	54,2		53,5	
700	56,7		55,6	

IV.2.2. Le pouvoir inhibiteur de la lipase

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

Nous remarquons que les deux extraits des solvants utilisés ont révélé des effets inhibiteurs significatifs par rapport à la lipase. Ce résultat a été démontré par le taux d'inhibition qui augmente en fonction de la concentration des extrais utilisés. Cependant, l'extrait d'acétate d'éthyle est le plus efficace par rapport à l'extrait butanolique.

Les résultats d'inhibition sont supérieurs à ceux trouvés par **Sharma et al. (2005)** qui ont estimé un pourcentage d'inhibition à 44,6% sur la plante entière de *citrus aurantifolium*.

Le tableau N°VII récapitule les valeurs d'IC₅₀ et les % d'inhibition de l'activité de la lipase par les deux extraits.

Tableau VII: Récapitulation des valeurs d'IC₅₀ et des % d'inhibition de l'activité de la lipase par les extraits butanoliques et d'acétate d'éthyle.

Concentration µg /mL	% d'inhibition de la lipase par l'extrait butanolique	IC ₅₀ (µg/mL)	% d'inhibition de la lipase par l'extrait d'acétate d'éthyle	IC ₅₀ (µg/mL)
25	42,7	158.48	49,5	100
50	46.6		54,9	
100	50.5		58,6	
200	52.7		63,1	
400	61.9		65,6	
800	62.5		66,3	



Conclusion



et perspectives

La présente étude avait pour objectifs le dosage des différentes classes de composés phénoliques des fruits de *citrus limon* ainsi que l'évaluation de leurs activités antidiabétique et antihyperlipidémique.

Dans la première partie, une extraction par macération a été réalisée avec le méthanol, et la quantification par des méthodes colorimétriques nous a permis de déterminer les teneurs en phénols totaux par le réactif du Folin-Ciocalteu, et en flavonoïdes par le trichlorure d'aluminium.

Les résultats des différents dosages ont permis de mettre en évidence la richesse des extraits méthanolique, butanolique et acétate d'éthyle de fruits de *citrus limon* en différentes classes de composés phénoliques (polyphénols totaux, les flavonoïdes ...), les teneurs en ces composés sont différents d'un extraits à un autre.

Dans la deuxième partie, nous nous sommes intéressés à l'étude des activités antidiabétique et antihyperlipidémique des extraits butanolique et d'acétate d'éthyle de fruits de *citrus limon* par deux tests enzymatiques.

- A propos du premier test : l'inhibition de l'activité de l' α -amylase par les extraits, les résultats obtenus nous amène à avancer les conclusions suivantes :

La capacité d'inhibition de l'activité de l' α -amylase est plus importante dans l'extrait butanolique des fruits secs de *citrus limon* avec IC_{50} de $316,22 \pm 0.3 \mu\text{g}/\text{mL}$ que dans l'extrait acétate d'éthyle avec IC_{50} de $501.18 \pm 0.1 \mu\text{g}/\text{mL}$.

- Le deuxième test : l'inhibition de l'activité de la lipase par les deux extraits,

La fraction acétate d'éthyle des fruits de *citrus limon* a présenté une meilleure activité antihyperlipidémique IC_{50} de $100 \mu\text{g}/\text{mL}$ en comparaison avec l'extrait butanolique qui a IC_{50} de $158.48 \mu\text{g}/\text{mL}$.

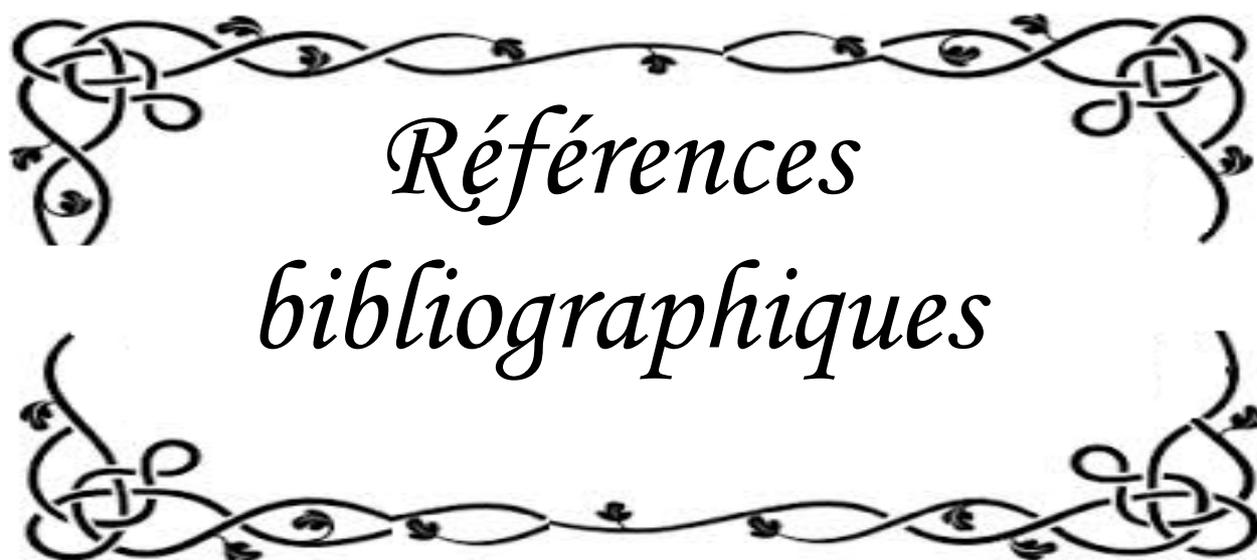
L'analyse des différents extraits par une chromatographie liquide à haut performance (HPLC) affirme la richesse des fruits de *citrus limon* en composés phénoliques et plus

particulièrement en flavonoïdes tels que : hespéridine, diosmine, limettine qui ont été détectés dans ce fruit.

L'ensemble de ces résultats a permis d'évaluer les activités antidiabétiques et antihyperlipidémique du fruit de *citrus limon* 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.

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

- Il serait intéressant de procéder à une caractérisation qualitative plus poussée, des extraits des fruits de *citrus limon* par la détermination des structures et des propriétés chimiques de leurs composés phénoliques en utilisant LC-MS et LC-RMN.
- Elargir le panel des activités antidiabétique et antihyperlipidémique *in vitro* et *in vivo* et pourquoi pas d'autres tests biologiques : anti tumorale, anticancéreuse et anti-inflammatoire.



*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

A

- **Alberti, K., G, Zimmet, P.J. (1998).** Definition and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO Consultation. *Diabet. Med.* 15 (7): 539-553.
- **Allali, H., Benmehdi, H., Dib, M.A., Tabti, B., Ghalem, S., Benabadji, N. (2008).** Phototherapy of Diabetes in West Algeria. *Asian journal of chemistry.* 20 (04): 2701-2710.
- **American Diabetes Association (ADA). (2008).** *Diabetes Care.* 31(55).
- **Arias, B.A., et Ramon –Laca, L. (2005).** Pharmacological properties of citrus and their ancient and medieval uses in the Mediterranean region. *Ethno pharmacology.* 97, 89-95.

B

- **Bailey, C.J., Day, C. (1989).** Traditional plant medicines as treatment for diabetes. *Diabetes Care;* 12:553-564.
- **Baker, J.L., Sorensen, T.I., and Olsen, L.W. (2007).** Childhood body-mass index and the risk of coronary heart disease in adulthood. *N Engl J Med.* 357:2329-37.
- **Balarac, N., Sauvanet, J.P. (1999).** Diagnostic et classification du diabète sucré. Les nouveaux critères. *Diabète et Métabolisme. Paris ;* 25(1) : 72-83.
- **Belouad, A. (1998).** Plantes médicinales en Algérie. Office des publications nationale ; Algérie : 273.
- **Blancke, R. (2001).** Guide des fruits et légumes tropicaux. Ed: Eugen Ulmer, Paris. 288 p.
- **Buyschaert, M., Hermans, M.P. (1998).** Critères révisés et nouvelle classification des diabètes sucrés. *Louvin Med.* 117: 1-6.

C

- **Capet, F., Debaille, R., Tafforeau, J., Van-Oyen, H. (1999).** Situation Actuelle et Eléments pour le développement d'une Politique de Santé : diabète épidémiologie. *CROSP.* 19 (1-12) : 27-28.
- **Charbonnel, B., Cariou, B. (1997).** Diabète non insulino-dépendant: indications thérapeutiques. *Medicines thérapeutique .* 3.hs: 103-11.

Références bibliographiques

D

- **Dan,W., Ye, X-Q., Chen, J-C., Liu, D-h.,Ping, J.,John, S., Xue, S., Xu, J-G., Kakuda,Y.(2011).**Identification of bioactive composition and antioxidant activity in young mandarin fruits .*Food Chemistry* .124:1561-1566.
- **Del-Rio, J.A., Fuster, M.D., Gomez, P., Porras, I., Garcia-Lidon, A., ET Ortuno,A, a, A. (2004).***Citrus Limon: a source of flavonoids of pharmaceutical interest. Food Chemistry*, 84,457-461.
- **Djeridane,A.,Yousfi,M. ,Nadjemi,B.,Boutassouna,D.,Stocker,P.,etVidal,N.(2006).** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, **97**,654-660.
- **Drouin, P., Blickle, J.F., Charbonnel, B., Eschwege, E., Guillausseau P.J., Daninos, J.M., Balarac , N., Sauvan, et J.P. (1999).** Diagnostic et classification du diabète sucré. Les nouveaux critères. *Diabèteet Métabolisme*. Paris ; 25(1) : 72-83.
- **Dubois. (2006).***Les arbres fruitiers*.Ed, Rustica.Paris.127p.
- **Dugo, G., et Di-Giacomo, A, A. (2002).***Citrus: the genus Citrus*. Medicinal and aromatic plants-Industrial profiles.CRC Press Taylor and Francis group, 642p.

E

- **Eckel, R.H., and R.M. Krauss. (1998).** American Heart Association call to action: obesity as a major risk factor for coronary heart disease. AHA Nutrition Committee. *Circulation*. 97:2099-100.

F

- **Fuster, M.D. (1997).**Citrus flavonoids. Distribution, modulation by phyto regulators and their possible physiological function. PhD. University of Murcia. Spain. ISBN: 84-7684-973-0.

G

- **Gautama, P. (2006).** AU-KBS RESEARCH CENTER, Anna University, Chennai.

Références bibliographiques

- **Ghasemi, K., Ghasemi, Y., et Ebrahimzadeh, M.A. (2009).**Antioxidant activity, phenol and flavonoids contents of 13 Citrus species peels and tissues. *Pakistan J.pharmacol. Sci.*, 22,277-281.
- **Goli, A. H., Barzegeer, M., and sahari, M.A. (2005).**Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*pistachia Vera*) hull extracts. *Food chemistry*.92:521-525.
- **Gonzalez – Molina ,E., Dominguez – Perles , R., Moreno,D.A.,et Garcia-Viguera,C.(2010).**Natural bioactive compounds of Citrus limon for food and health. *Journal of Pharmacoeutical and Biomedical Analysis*, 51.327-345.
- **Grover, J.K., Yadav, S., Vats, V. (2002).** Medicinal plants of India with anti-diabetic potential. *J. of Ethnopharmacol.*81:81-100.

H

- **Halimi, S., Benhamou, P.Y. (1997).** Critères diagnostiques du diabète non insulino-dépendant et dépistage dans la population générale, diagnostic et traitement. In médecine thérapeutiques ; vol.3hs.
- **Hamza, N. (2011).** Effets préventif et curatif de trois plantes médicinales utilisées dans la Wilaya de Constantine pour le traitement du diabète de type 2 expérimental induit par le régime « high fat » chez la souris C57BL/6J. Thèse Doctorat en science alimentaire option : Nutrition. Univ. Mentouri Constantine, Institut de Nutrition de l'alimentation et des Technologies agroalimentaires : 32-61.
- **Hong,G., Huang, Y- N., Gao, B., Xu, P – Y., Chika, I., et Kawabata,J. (2008).**Glucosidase inhibitory effect bu the flower buds of *Tussilofarfara*L,*Journal of Food chemistry*, Pages 1195 -1201.

J

- **Jarald, E., Joshi, S.B., Jain, D.C. (2008).** Diabetes and herbal medicine. Iranian Journal of Pharmacology and therapeutics. 7: 97-106.

K

- **Kashikar, V.S., Kotkar, T. (2011).** Indigenous remedies for diabetes mellitus. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 3 (3): 22-29.

Références bibliographiques

- **Kawaguchi, K., Kikuchi, S., Hasunuma, R., Maruyama, H., Yoshikawa, T., et Kumazawa, Y. (2004).** A citrus flavonoid hesperidin suppresses infection-induced endotoxin shock in mice. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, **27(5)**, 679-683.

L

- **Ladaniya, M.S. (2008).** Citrus fruit: Biology, technology and evaluation. Ed, Elsevier Inc. London. 558p.
- **Lamba, S.S., Buch, K.Y., Lewis, H., Lamba, H.J. (2000).** Phytochemicals as potential hypoglycemic agents. *Studies in Natural Products Chemistry*; 21: 457- 496.
- **Levizou, E., Petropoulou, Y., et Manetas, Y. (2004).** Total carotenoid amount in crude twig extracts may be overestimated due to interference by high contents of coextracted phenolics. *Photosynthetica*, 42(2), 295-297.

M

- **Mahmoudi, Y. (1987).** La thérapeutique par les plantes communes en Algérie. Blida, Edition ANES Palais du livre ; 01 : 105.
- **Manthey, J.A., Guthrie, N., et Grohmann, K. (2001).** Biological properties of citrus flavonoids pertaining to cancer and inflammation. *Current Medicinal Chemistry*, **8**, 135-153.
- **Marles, R.J., Farnsworth, N.R. (1995).** Antidiabetic plants and their active constituents. *Phytomedicine* 2: 13-189.
- **Megh Raj Bhandari, Nilubon Jong-Anurakkn, GAO Hong, Jun Kawabata, (2008).** Glucosidase and α - amylase inhibitory activities of Nepalese medicinal herb Pakhanbhed (*Bergenia Ciliata*, Haw.), *Journal of Food chemistry*, Pages 247 - 252.

N

- **Naczki, M. et Shahidi, F. (2006).** Phenolic in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. 41:1523-1542.
- **Nerovique., Ben Slama, H., Azagoh, N., et Favet, R. (2011).** Extraction et purification de composés végétaux d'intérêt fonctionnel : Elaboration d'une crème de

Références bibliographiques

nuit à base d'huile essentielle de citron. Ed, Montpellier Sup-Agro. Universités Montpellier.44p.

O

- **Oben, J. (2010).** *Journal of Natural Products*, Vol.3:165-171.
- **Olshansky, S.J., D.J. Passaro, R.C. Hershov, J. Layden, B.A. Carnes, J. Brody, L. Hayflick, R.N. Butler, D.B. Allison, and D.S. Ludwig. (2005).** A potential decline in life expectancy in the United States in the 21st century. *N Engl J Med.* 352:1138-45.
- **OMS (Organisation mondiale de la Santé). (2000).** Principes méthodologiques généraux pour la recherche et l'évaluation relatives à la médecine traditionnelle. WOH/TRM/2000.1 ; annexe II : 31-35.
- **OMS (Organisation Mondiale de la Santé). (2002).** Diabète sucré. Aide-mémoire ; N°138.
- **Oubré,A.Y., Carlson,T.J., King, S.R., Reaven, G.M. (1997).** From plant to patient: an ethnomedical approach to the identification of news drugs for the treatment of NIDDM. *Diabetologia*; 40: 614-617.
- **Owen, P.L., et Johns T. (1999).** Xanthine oxidase inhibitory activity of northeastern north American plant remedies used for gout. *Ethnopharmacology*,64,149-160.

P

- **Paulweber, B., Lindstrom, J., Valensi, P., et al. (2010).** *Metab. Res.* 42 (Suppl. 1) S3.
- **Peterson,J.J.,Beecher,G.R.,Bhagwat,S.A.,Dwyer,J.T.,Gebhardt,S.E.,Haytowitz,D. B.,et Holden,J.M.(2006).** Flavanones in grapefruit, lemons, and limes: A compilation and review of the data from the analytical literature. *Food composition and Analysis*,19, 74-80.

R

- **Rajnerayanama, K., Reddy, M., Charluvadi, M. R., Krishna, D. R. (2001).** Bioflavonoids:Classification, pharmacological, biochemical effect and therapeutic potential. *Indian Journal of Pharmacology*, 33: 2-16.
- **Ribereau-Gayon, P. (1968).** Lescomposes phénoliques des végétaux. Ed. Dunod.Paris.254p.

Références bibliographiques

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

S

- **Saker, A. et al., (2014).** *In vitro* α -amylase inhibitory activity and in vivo hypoglycemic effect of methanol extract of *citrus macropteramontr.fruit*. *Assian Pac J Trop Biomed*, 4(6), 473-479.
- **Sharma, N., Sharma, V.K., et Seo, S.y. (2005).** Screening of some medicinal plants for anti-lipase activity. *Journal of Ethnopharmacology*. 97, 453-456.
- **Shie and Lay. (2013).** Component analysis and antioxidant activity of *Citrus Limon*. *Academia Journal of Medicinal Plants*. 1(3): 049-058.
- **Sindhun, S, S., Azagoh, N., Manetas Y. (2013).** Bioactivity of polyphenols in plants. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. 3(1):128-132.
- **Singh, U., Singh, S., Kochhar, A. (2012).** Therapeutic potential of antidiabetic nutraceuticals. *Phytopharmacology*. 2(1) 144-169.
- **Stein, C.J., and G.A. Colditz. (2004).** The epidemic of obesity. *J Clin Endocrinol Metab*. 89:2522-5.
- **Sun, S.S., R. Liang, T.T. Huang, S.R. Daniels, S. Arslanian, K. Liu, G.D. Grave, and R.M. Siervogel. (2008).** Childhood obesity predicts adult metabolic syndrome: the Fels Longitudinal Study. *J Pediatr*. 152:191-200.

V

- **Vanderwood, K.K., Hall, T.O., Harwell, T.S., Butcher, M.K., Helgerson, S.D. (2010).** *Diabetes Care*. (33) 2543.
- **Vélioglu, Y.S., Mazza, G., Gao, L., et Omaha, B.D. (1998).** Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Agric. Food Chem.*, 46, 4113-4117.
- **Viguera, C. C. (2010).** Natural bioactive compounds of *Citrus Limon* for food and health. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 51.327-345.



Annexes

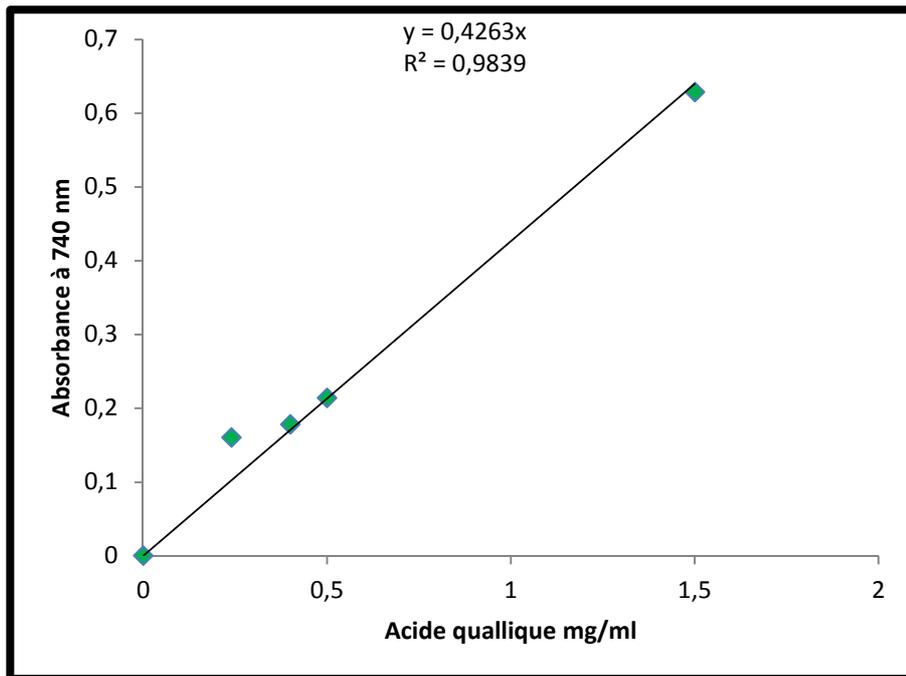


Figure 01 : Courbe d'étalonnage des polyphénols totaux.

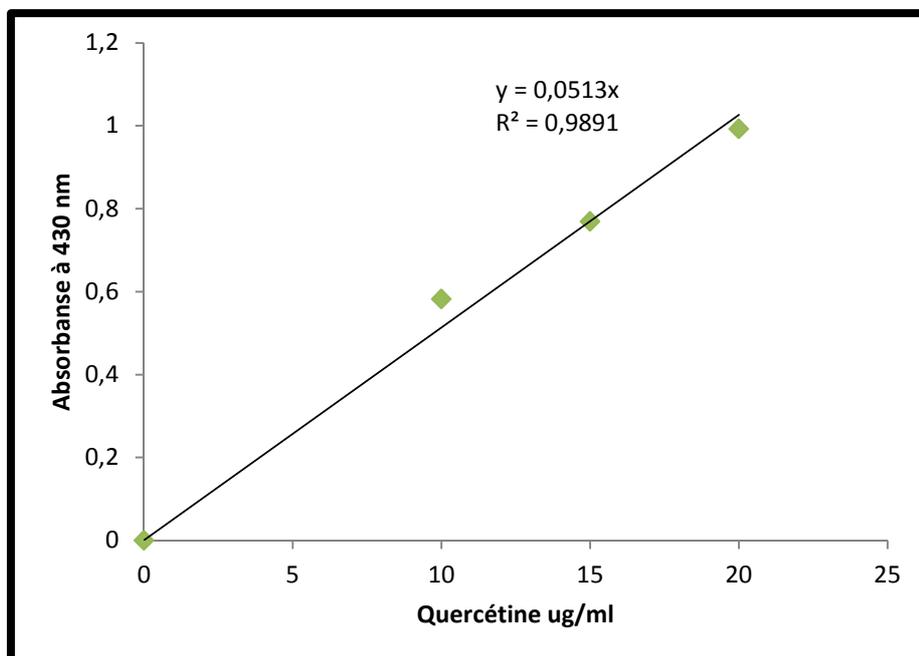


Figure 02 : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes

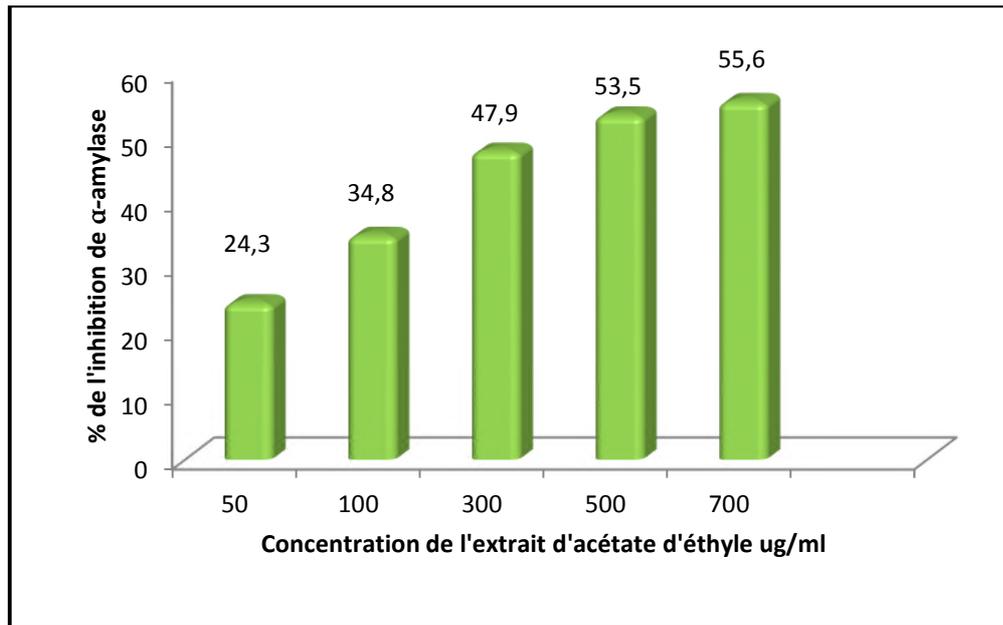


Figure 03 : Histogramme des % d'inhibition de α -amylase en fonction des concentrations des extraits d'acetate d'ethyle.

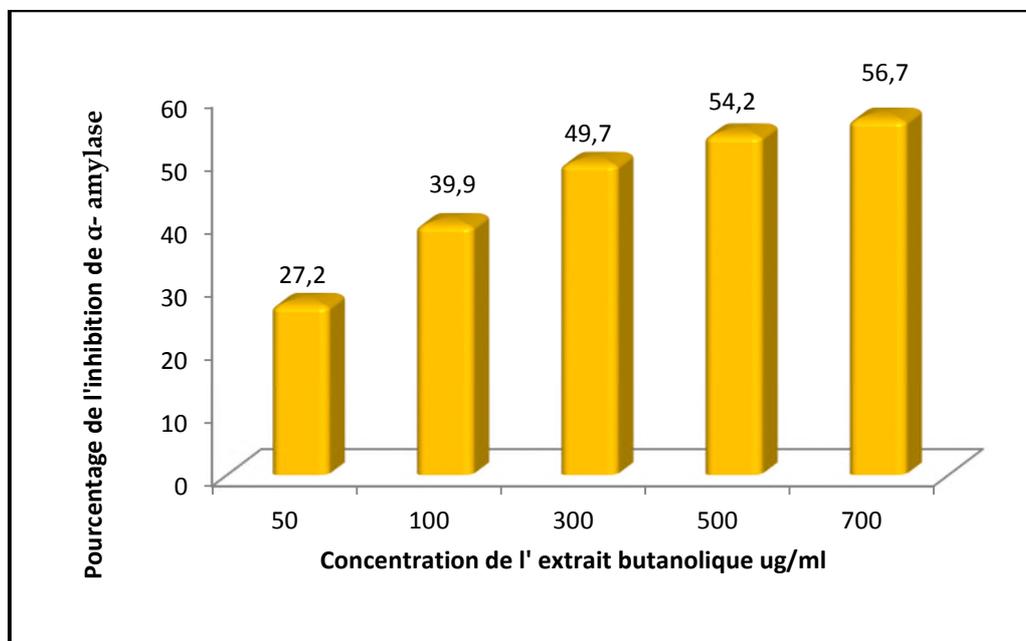


Figure 04 : Histogramme des % d'inhibition de α -amylase en fonction des concentrations de l'extrait butanolique.

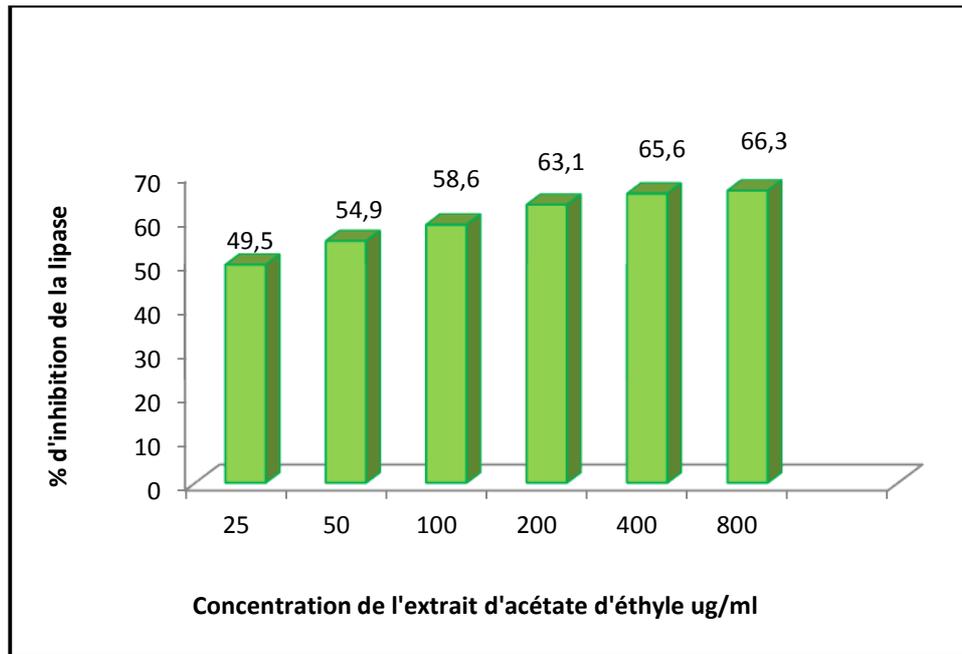


Figure 05 : Histogramme des % de l'inhibition de la lipase en fonction des concentrations des extraits d'acétate d'éthyle.

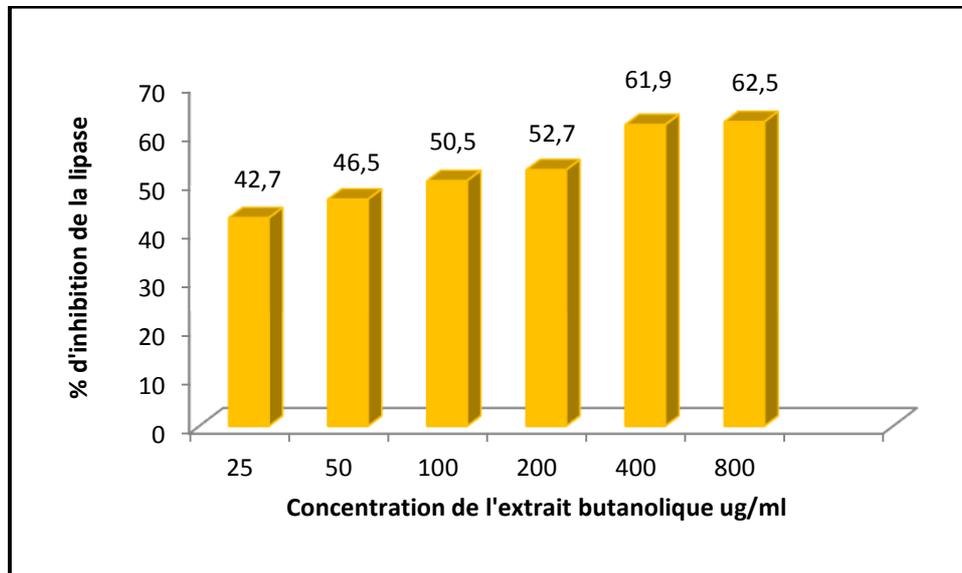


Figure 06 : Histogramme des % de l'inhibition de la lipase en fonction des concentrations des extraits butanoliques.

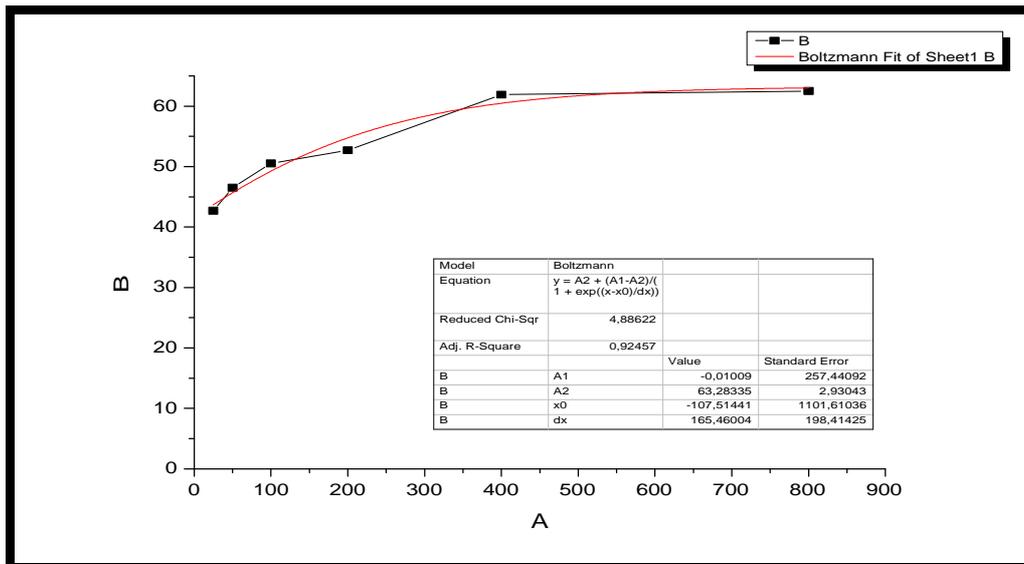


Figure 07 : Courbe pour le calcul d'IC₅₀ pour l'inhibition de la lipase par l'extrait butanolique.

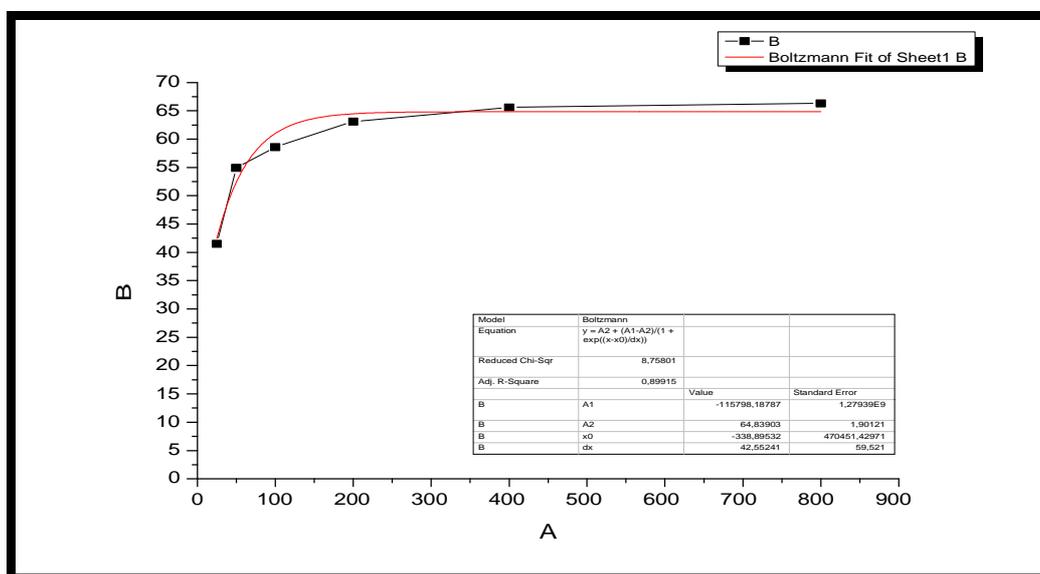


Figure 08: Courbe pour le calcul d'IC₅₀ pour l'inhibition de la lipase par l'extrait d'acétate d'éthyle.

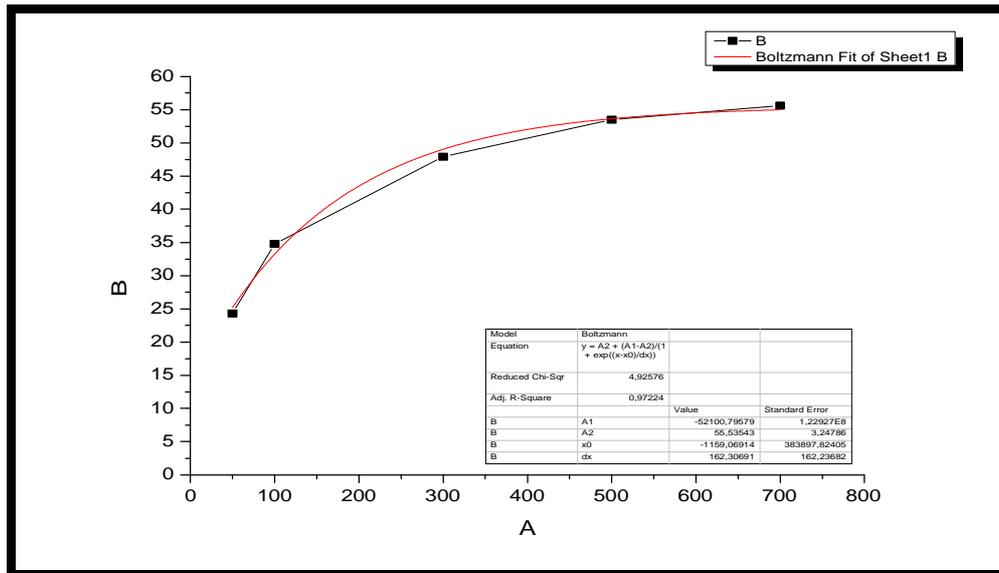


Figure 09 : Courbe pour le calcul d'IC₅₀ pour l'inhibition de α -amylase par l'extrait d'acétate d'éthyle.

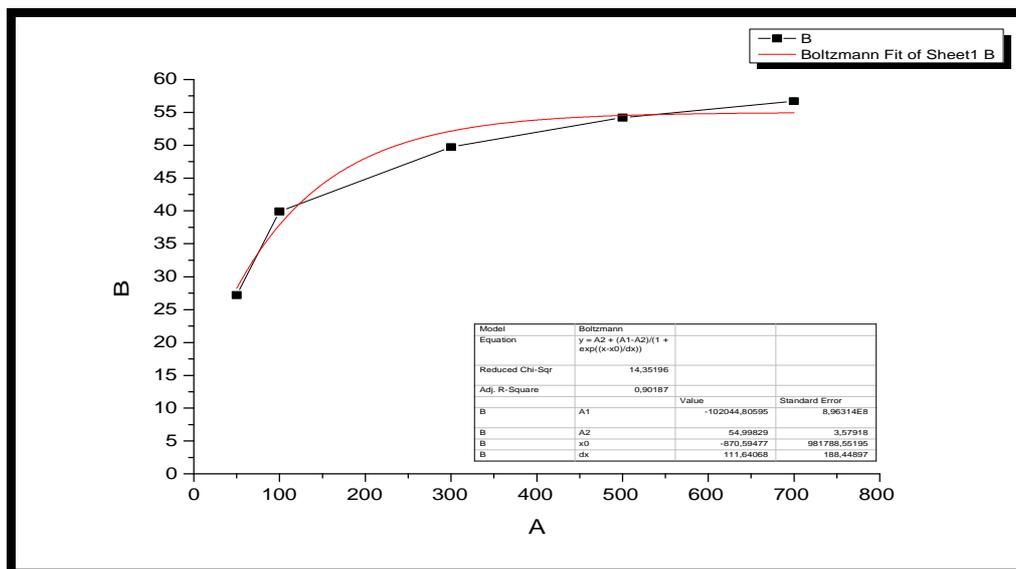


Figure 10 : Courbe pour le calcul d'IC₅₀ pour l'inhibition de α -amylase par l'extrait butanolique.

Liste des abréviations

- AlCl_3 : Trichlorure d'aluminium.
- DO: Densité optique.
- EAG : Equivalent Acide Gallique.
- EQ : Equivalent Quercétine.
- ES: Extrait sec.
- $\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$: Acide phosphomolybdique.
- $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$: Acidephosphotungstique.
- HPLC: High Performance Liquid Chromatography.
- IC_{50} : Concentration inhibitrice à 50%.
- IMC : Indice de masse corporelle
- MeOH : Méthanol.
- Mo_8O_{23} : Oxyde de Molybdène.
- Na_2CO_3 : Carbonate de sodium.
- TFA : Acide trifluoroacétique.
- UV : Ultraviolet.
- **v/v**: Rapport volume par volume.
- W_8O_{23} : Oxyde de tungstène.

Liste des figures

Figure	Titre	Page
01	Protocole d'extraction des polyphénols à partir du fruit de <i>Citrus limon</i>	17
02	Teneurs en flavonoïdes dans les extraits de la pulpe de fruit de <i>citrus limon</i>	24
03	Profil HPLC de la solution standard commercialisée.	25
04	Profil HPLC de l'extrait d'acétate d'éthyle de la pulpe de <i>citrus limon</i> .	25
05	Profil HPLC de l'extrait butanolique de la pulpe de <i>citrus limon</i> .	26

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
I	Les caractéristiques botaniques des différents organes du citronnier	04
II	Composition moyenne du citron (pour 100 g)	05
III	Composition en métabolites primaires du citron (pour 100g).	05
IV	Gradient de solvant utilisé pour l'analyse des extraits butanoliques et d'acétate d'éthyle en HPLC.	20
V	Type des flavonoïdes extraits par le butanol et l'acétate d'éthyle	26
VI	Récapitulation des valeurs d'IC ₅₀ et des % d'inhibition de l'activité de α -amylase par les extraits butanoliques et d'acétate d'éthyle.	28
VII	Récapitulation des valeurs d'IC ₅₀ et des % d'inhibition de l'activité de lipase par les extraits butanoliques et d'acétate d'éthyle.	29

Résumé :

Ce travail englobe deux aspects, le premier est d'ordre phytochimique basé sur le dosage des composés phénoliques : Les polyphénols totaux de l'extrait méthanolique de la pulpe de *citrus limon* et le fractionnement des flavonoïdes par entraînement avec le butanol et l'acétate d'éthyle, le deuxième porte sur l'évaluation *in vitro* des activités antidiabétiques et antihyperlipidémiques des flavonoïdes.

Les tests phytochimiques réalisés ont permis d'obtenir une quantité importante de composés phénoliques équivalente à **63,63 ± 0,05** mg EAG /g ES . La meilleure teneur en flavonoïdes est obtenue par le butanol, elle est de **2,72** mg EQ /g ES. Ces teneurs varient en fonction du temps, la quantité du matériel végétal et du solvant utilisé.

L'analyse qualitative des flavonoïdes des extraits de la pulpe de *citrus limon* par HPLC a révélé la présence de l'hespéridine, diosmine, limettine et bergaptène.

Les activités antidiabétiques et antihyperlipidémiques des différents extraits butanoliques et d'acétate d'éthyle ont été évaluées par deux enzymes : α -amylase et la lipase. Les résultats obtenus révèlent des propriétés antidiabétiques et antihyperlipidémiques intéressantes.

Les extraits butanoliques et d'acétate d'éthyle de la pulpe de citron ont montré des activités inhibitrices de α -amylase de IC_{50} équivalentes à **316,22** μ g /mL et **501,18** μ g /mL respectivement, par contre l'activité inhibitrice de la lipase par le butanol et l'acétate d'éthyle a permis d'évaluer des IC_{50} équivalentes à **158,48** μ g / mL et à **100** μ g / mL respectivement, cela permet de valider l'usage traditionnel de la plante dans le traitement du diabète et d'obésité.

Mots-clés : Plantes médicinales, *citrus limon*, flavonoïdes, antidiabétique, hyperlipidémie.

Abstract:

This work includes two aspects, the first is phytochemical order based on the determination of phenolic compounds: Total polyphenols of methanol extract of the pulp of *citrus limon* and fractionation of flavonoids by training with butanol and acetate ethyl, the second one is *in vitro* evaluation of the antidiabetic and antihyperlipidemic activities of flavonoids.

Phytochemicals test have achieved a substantial amount of phenolic compounds equivalent to **63.63 ± 0.05** mg AGE/g DE. The flavonoid content is best achieved by the butanol is **2.72** mg EQ /g DE. These levels vary over time, the quantity of plant material and the solvent used.

The qualitative analysis of flavonoids extracted from the pulp of *citrus limon* by HPLC revealed the presence of hesperidins, diosmin, limettine and bergapten.

Two enzymes evaluated antihyperlipidemic and antidiabetic activities of different extracts butanol and ethyl acetate: α -amylase and lipase. The results of antidiabetic and antihyperlipidemic show interesting properties.

The butanol extracts and ethyl acetate of lemon pulp showed inhibitory activities of α -amylase IC_{50} equivalent to **316, 22** μ g/mL and **501, 18** μ g /mL respectively, for the inhibitory activity against, lipase with butanol and ethyl acetate was used to evaluate the IC_{50} equal to **158, 48** μ g /mL and **100** μ g /mL respectively, it validates the traditional use of the plant in the treatment of diabetes and obesity.

Key words: Medicinal plants, *citrus limon*, flavonoids, diabetes, hyperlipidemia.

