

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة أبو بكر بلقايد – تلمسان

Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMCEM

كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون

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



Département de BIOLOGIE

Laboratoire Antibiotiques Antifongiques : Physico-Chimie, Synthèse et activité
Biologique

MÉMOIRE

Présenté par

ADDAD Fatiha

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Sciences biologiques

Option : Biochimie

**Contribution à la recherche sur l'effet inhibiteur de
quelques médicaments sur l' α -amylase**

Soutenu le 19 Juin 2024, devant le jury composé de :

Présidente	Mme BOUCHERIT Z.	M.C.A	Université de Tlemcen
Encadrante	Mme MEDJDOUB H.	M.C.A	Université de Tlemcen
Examinatrice	Mme BOUALI W.	M.C.A	Université de Tlemcen

Année Universitaire 2023/2024

Dédicaces

En premier lieu et avant tout, je tiens à remercier Allah, notre créateur, de m'avoir donné la santé, la volonté et la force pour suivre ainsi que la hardiesse pour dépasser toutes les difficultés.

À mes parents, pour leur amour inconditionnel et leur soutien tout au long de mes études. Merci d'avoir cru en moi.

À mon frère et ma sœur, complice de toujours avec qui j'ai partagé les joies et les peines de la vie, nos rires et nos complicités ont été un baume sur les plaies de l'existence. Que ces mémoires soient un témoignage de notre lien indéfectible.

À mes amis Chahrazed, Ismahen, Hadjer qui m'ont toujours encouragé et soutenu dans les moments les plus durs, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout-puissant, vous protégé et vous garde.

À mon fidèle compagnon Kawther, qui a vécu des moments de bonheur et de défis, apportant profondeur et chaleur à mes souvenirs de notre authentique camaraderie.

Fatiha



Remerciements

Tout d'abord, j'exprime mes remerciements profonds à Allah qui m'a donné la santé, le courage et la patience pour faire ce travail.

En premier lieu, je voudrais remercier mon encadreur de mémoire **M^{me} MEDJDOUB Houria**, Maitre de conférences au département de biologie, Faculté SNV-STU, université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen ; pour son expertise et son temps précieux. Ses conseils et son soutien ont été essentiels pour la qualité et la clarté de mon travail.

Je voudrais également remercier les membres de mon comité de suivi, pour leur participation régulière et leur feedback constructif. Leur présence a été un encouragement constant pour moi.

De même, mes remerciements se portent vers la responsable du Master Biochimie **M^{me} BOUCHERIT Zahia**, Professeur à l'université de Tlemcen, Faculté SNV-STU pour tous ses efforts durant les années de master et surtout l'amélioration de cette formation. Je vous remercie d'avoir accepté de présider le jury de ma soutenance ; c'est un honneur pour moi.

J'exprime également mon profond respect à **M^{me} BOUALI Wafaa**, Maitre de conférences au département de biologie, Faculté SNV-STU, université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen ; pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Enfin, je voudrais remercier mes proches et mes amis, qui ont supporté mon travail et m'ont encouragé tout au long de ce processus.

Liste des abréviations

OMS : Organisation mondiale de la santé

ADA : American Diabetes Association

ADOs : Les médicaments antidiabétiques oraux.

APP : L' α -amylase pancréatique de porc.

Asp 231: Aspartate 231.

Asp 328: Aspartate 328.

Asp 206: Aspartate 206.

Asp297 : Aspartate 297.

CL⁻ : Les ions chlorure

Ca²⁺ : les ions de calcium

DNSA : Acidedinitrosalicylique

DPP-4 : Les inhibiteurs de la dipeptidyl peptidase-4.

DT1 : Diabète sucré de type 1.

DT2 : Diabète sucré de type 2.

IC50 : Concentration inhibiteur de 50% de la population

ملخص

يعمل مضادات السكري من خلال آليات مختلفة مثل تثبيط إنتاج الجلوكوز الكبدي، وتحفيز إفراز الأنسولين، وزيادة حساسية مستقبلات الأنسولين وتأخير هضم السكريات. بعض الأدوية مثل إريس (غليمبريد) ودياميكرون (غليكلازيد) ونوفورمين (ميتفورمين) المعروفة بقوتها المضادة لمرض السكري من خلال العمل بآليات مختلفة عن الأكاربوز الذي يثبط الالف-أميلاز والغليكوزيدات هذا التأثير الأخير يقلل من نسبة السكر في الدم بعد الأكل

لذلك، فإن الهدف من هذا البحث هو تقييم فعالية هذه الأدوية في تثبيط نشاط الف-أميلاز. تهدف هذه الدراسة إلى توفير معلومات جديدة حول آلية عمل جديدة محتملة لهذه الأدوية المتوفرة بالفعل في السوق.

يتم تنفيذ هذا في المختبر على نشاط الخنازير الف-أميلاز. استخدم البحث نهجين مختلفين، أحدهما يتضمن فترة ما قبل الحضانة بين الدواء والإنزيم، بينما حذف الآخر خطوة ما قبل الحضانة. تم استخدام الأكاربوز كدواء مرجعي.

أظهرت النتائج تأثيرًا مثبتًا أقوى للأدوية غير قبل الحضانة IC_{50} لللايريس $0.077 = \text{ملغم/مل}$ ؛ IC_{50} للأكاربوز = 0.176 ملغم/مل ؛ IC_{50} للجليكلازيد = 0.515 ملغم/مل و IC_{50} للنوفورمين = 7.746 ملغم/مل مقارنة بتقنية ما قبل الحضانة مع قيم IC_{50} البالغة 0.07 ملغم/مل ، 0.35 ملغم/مل ، و 0.368 ملغم/مل ، و 7.74 ملغم/مل لللايريس، للجليكلازيد، للأكاربوز، للنوفورمين، على التوالي.

بناءً على هذه النتائج، اقترحنا أن عقار إيريس له خصائص مثبطة مهمة ضد ألفا أميلاز مقارنة بالأدوية الأخرى

الكلمات الرئيسية: الف-أميلاز، تثبيط، ارتفاع سكر الدم بعد الأكل، أدوية مضادة للسكري عن طريق الفم

Résumé

Les antidiabétiques agissent par le biais de divers mécanismes tels que l'inhibition de la production hépatique de glucose, la stimulation de la sécrétion d'insuline, l'augmentation de la sensibilité des récepteurs de l'insuline et le retard de la digestion des sucres. Certains médicaments comme l'Irys (Glimépéride), Diamicron (Gliclazide) et Novoformine (metformine) sont connus par leur pouvoir antidiabétique en agissant par des mécanismes différents que l'acarbose qui inhibe l' α -glucosidase et l' α -amylase. Ce dernier effet permet de réduire de la glycémie postprandiale.

Du fait, l'objectif de la présente recherche est d'évaluer l'efficacité de ces médicaments pour inhiber l'activité de l' α -amylase. Cette étude vise à fournir de nouvelles informations sur un nouveau mécanisme d'action potentielle de ces médicaments qui sont déjà disponibles sur le marché.

Cette approche est réalisée *in vitro* sur l'activité de l' α -amylase porcine. La recherche a utilisé deux approches différentes, l'une impliquant une période de pré-incubation entre le médicament et l'enzyme, tandis que l'autre a omis cette étape de pré-incubation. L'acarbose a été utilisé comme médicament de référence.

Les résultats ont révélé un effet inhibiteur plus puissant des médicaments sans préincubation (IC_{50} pour Irys = 0,077 mg/ml ; IC_{50} pour l'acarbose = 0,176 mg/ml ; IC_{50} pour le gliclazide = 0,515 mg/ml et IC_{50} pour la novoformine = 7,746 mg/ml) par rapport à la technique préincubation dont les IC_{50} sont : 0,07 mg/ml, 0,35 mg/ml, 0,368 mg/ml et 7,74 mg/ml pour Irys, le gliclazide, l'acarbose et la novoformine respectivement.

D'après ces résultats, nous avons suggéré que le médicament Irys présente des propriétés inhibitrices importantes contre l' α -amylase par rapport aux autres médicaments

Mots clés : α -amylase, inhibition, l'hyperglycémie postprandiale, médicaments antidiabétiques oraux.

Abstract

Antidiabetics agents act through various mechanisms such as inhibition of hepatic glucose production, stimulation of insulin secretion, increased sensitivity of insulin receptors and delayed digestion of sugars. Some drugs such as Irys (Glimeperide), Diamicon (Gliclazide) and Novoformin (metformin) are known by their antidiabetic power by acting by different mechanisms than acarbose which inhibits α -glucosidase and α -amylase. This last effect reduces postprandial blood sugar.

Therefore, the objective of this research is to evaluate the effectiveness of these drugs in inhibiting the activity of α -amylase. This study aims to provide new information on a potential new mechanism of action for these drugs that are already available on the market.

This approach is performed *in vitro* on the activity of porcine α -amylase. The research used two different approaches, one involving a pre-incubation period between the drug and the enzyme, while the other omitted this pre-incubation step. Acarbose was used as a reference drug.

Results showed more potent inhibitory effect of non-preincubation drugs (IC₅₀ for Irys = 0.077 mg/ml; IC₅₀ for acarbose = 0.176 mg/ml; IC₅₀ for gliclazide = 0.515 mg/ml and IC₅₀ for novoformin = 7.746 mg/ml) Compared to the pre-incubation technique with IC₅₀ values of 0.07 mg/ml, 0.35 mg/ml, 0.368 mg/ml and 7.74 mg/ml for Irys, gliclazide, acarbose and novoformin, respectively.

Based on these results, we suggested that Irys has important inhibitory properties against α -amylase compared to other drugs.

Keywords: α -amylase, inhibition, postprandial hyperglycemia, oral antidiabetic drugs.

Liste des figures

Figure 1: Principaux antidiabétiques oraux et son mécanismes d'action (Coulibaly, 2023)	7
Figure 2: (A) Galega officinalis, (B) structure de la metformine (Viollet et al., 2012).	7
Figure 3: Inhibition de la production hépatique de glucose par la metformine.....	8
Figure 4: La structure chimique de la molécule pioglitazone (ULC, 2019).....	8
Figure 5: La structure chimique de la molécule pioglitazone (Harper et al., 2013).	9
Figure 6: Structure chimique du médicament répaglinide (Zhu et al., 2014).....	9
Figure 7: Structure chimique du médicament inhibiteur de l' α glucosidase (Lysek, 2006). ..	10
Figure 8: L'inhibition compétitive de l' α glucosidase par l'acarbose (Bischoff., 1991).	11
Figure 9: Structure cristalline du complexe substrat α -amylase pancréatique(PPA)	15
Figure 10: Mécanisme catalytique des hydrolases glycosidiques (Nielsen et al., 2001).	17
Figure 11: inhibition de α -amylase pancréatique par des médicaments comme mécanisme antidiabétiques potentiel.	18
Figure 12: organigramme schématisant la méthode avec préincubation	25
Figure 13: Effet inhibiteur d'acarbose sur l' α -amylase.....	28
Figure 14: Effet inhibiteur d'Irys sur l' α -amylase.	29
Figure 15: Effet inhibiteur de Gliclazide sur l' α -amylase.....	29
Figure 16: Effet inhibiteur de Novoformine sur l' α -amylase.....	30
Figure 17: Effet inhibiteur d'acarbose sur l' α -amylase.....	31
Figure 18: Effet inhibiteur d'Irys sur l' α -amylase.	31
Figure 19: Effet inhibiteur de Gliclazide sur l' α -amylase.....	32
Figure 20: Effet inhibiteur de Novoformine sur l' α -amylase.....	33

Liste des photos

Photo 6:Préparation des tubes (prise au laboratoire) 24

Liste des tableaux

Tableau 1: Quelques différences entre le diabète de type 1 et 2 (Gariani et al., 2018).....	5
Tableau 2: Les médicaments antidiabétiques oraux “ADOs ” anti hyperglycémiant (Lalau et al., 2015).....	12
Tableau 3: les avantages et les inconvénients des médicaments (Lalau et al., 2015).	13
Tableau 4: Différentes origines de l’amylase (Khacheba, 2008).....	19
Tableau 5: Détermination des valeurs IC50 des médicaments à l'aide d'une méthode n'impliquant pas de pré incubation.	33
Tableau 6: Détermination des valeurs IC50 des médicaments à l'aide d'une méthode de pré incubation.	34

Plan de travail

Introduction	14
---------------------------	----

Synthèse bibliographique

Chapitre 1 : le diabète et les antidiabétiques	
---	--

1 Diabète sucré	3
-----------------------	---

2 Epidémiologie	3
-----------------------	---

3 Critères de diagnostique	4
----------------------------------	---

4 Classification	4
------------------------	---

4.1 Diabète de type 1 (diabète insulino-dépendant ou diabète juvénile).....	4
---	---

4.2 Diabète de type 2 (diabète non insulino-dépendant ou diabète de l'adulte)	4
---	---

4.3 Le diabète gestationnel	4
-----------------------------------	---

4.4 Le diabète secondaire	4
---------------------------------	---

5 Facteurs de risque du diabète	5
---------------------------------------	---

6 Complications du diabète	5
----------------------------------	---

6.1 Complications métaboliques aiguës du diabète	5
--	---

6.2 Complications chroniques	6
------------------------------------	---

7 Traitement	6
--------------------	---

7.1 Diabète type 1	6
--------------------------	---

7.2 Diabète type 2	6
--------------------------	---

7.2.1 Règles hygiéno-diététique (non médicamenteux)	6
---	---

7.2.2 Traitement par antidiabétiques oraux (médicamenteux)	6
--	---

7.2.2.1 L'insulinorésistance	7
------------------------------------	---

7.2.2.2 L'insulinosecrétion	9
-----------------------------------	---

7.2.2.3 Les inhibiteurs de l' α -glucosidase	9
---	---

7.2.3 Traitement du diabète sucré par les plantes médicinales	14
---	----

Chapitre 2 : l'α -amylase	
--	--

1	Définition.....	15
2	Nomenclature	15
3	Caractéristiques structurales de l'α amylases.....	15
4	Mode d'action de l'α amylase	16
5	Problèmes associés aux amylases hautement actives.....	17
6	Les inhibiteurs de l'α- amylase	17
7	Origine de l'amylase	19
8	La stabilité des α-amylases.....	19

Partie expérimentale

Matériel et méthodes		
1	Les médicaments testés	21
1.1	Acarbose	21
1.2	Novoformine.....	21
1.3	Gliclazide.....	21
1.4	Irys.....	22
2	Evaluation de l'effet inhibiteur des médicaments sur l'α- amylase	22
2.1	Préparation des réactifs.....	22
2.1.1	Solution de tampon phosphate (pH=6,9 ; 0,02 M).....	22
2.1.2	Solution d'α-amylase.....	22
2.1.3	Solution de substrat	22
2.1.4	Réactif de DNSA (acide 3,5-dinitrosalicylique)	22
2.1.5	Les médicaments testés	23
2.1.5.1	Solution de larimel(Acarbose).....	23
2.1.5.2	Solution de Novoformine	23
2.1.5.3	Solution de Gliclazide.....	23
2.1.5.4	Solution d'IRYS	23
2.2	Mode opératoire.....	23
2.2.1	Méthode sans incubation	24

2.2.2	Méthode préincubé	25
3	Objectif.....	26
Résultats et Discussion		
1	Inhibition de l'α- amylase par la méthode sans pré incubation	28
2	Inhibition de l'α- amylase par la méthode pré incubation.....	30
Conclusion		
Références bibliographiques		36

Introduction générale

Le diabète sucré est un trouble endocrinien persistant qui affecte le métabolisme des glucides, des protéines et des lipides. Elle englobe un ensemble de maladies métaboliques caractérisées par une hyperglycémie, en raison d'une production insuffisante d'insuline par le pancréas ou d'une insensibilité des cellules à l'insuline sécrétée (**Benmansour, 2024**). Du fait, cinq grandes classes d'antidiabétiques oraux (ADO) sont couramment utilisées pour la prise en charge du diabète de type 2 dont la majorité est prise par voie orale, à l'exception de l'insuline (**Okechukwu et al., 2020**).

Ces médicaments agissent par le biais de divers mécanismes tels que la suppression de la production hépatique de glucose, la stimulation de la sécrétion d'insuline, l'augmentation de la sensibilité des récepteurs de l'insuline et le retard de la digestion des polysaccharides (**Baud et al., 2018**). Ce dernier mécanisme constitue une stratégie thérapeutique efficace pour gérer le diabète en réduisant l'hyperglycémie postprandiale. Cet objectif peut être atteint en supprimant l'activité des enzymes hydrolysant les glucides telles que l' α -amylase et l' α -glucosidase (**Okechukwu et al., 2020**). L' α -amylase, une enzyme digestive, joue un rôle central dans le processus complexe de digestion des glucides dans le corps humain permettant ainsi la décomposition des polysaccharides complexes en sucres plus simples, facilitant ainsi leur absorption et leur utilisation ultérieures dans le tractus gastro-intestinal. L'inhibition de l' α -amylase, que ce soit par des mécanismes de régulation endogènes ou par des inhibiteurs exogènes, a été impliquée dans des stratégies thérapeutiques potentielles pour la prise en charge de maladies telles que le diabète sucré, mettant en évidence l'interaction complexe entre cette enzyme et les troubles métaboliques (**Nair et al., 2013**).

Certains médicaments comme l'Irys (Glimépéride), Diamicon (Gliclazide) et Novoformine (metformine) sont connus par leur pouvoir antidiabétique en agissant par des mécanismes différents que l'acarbose qui inhibe l' α -glucosidase et l' α -amylase (**Halimi, 2021**).

La metformine est le médicament le plus utilisé par les diabétiques. Ses mécanismes d'action sont très diversifiés. On pense actuellement qu'elle réduit la concentration sanguine de glucagon et diminue la glycémie, en réduisant la production de glucose par le foie (en diminuant la gluconéogenèse), en augmentant sa consommation par les tissus périphériques (en augmentant la glycolyse) et en réduisant l'absorption de glucose par l'intestin (**Foretz et Viollet, 2014**). Les effets secondaires causés par les ADO qui varient de l'hypoglycémie, troubles digestives et hépatotoxicité constituent toujours l'objectif de plusieurs études scientifiques (**Arbouche, 2022**).

Dans le présent travail, nous visons à vérifier *in vitro* l'effet inhibiteur de trois médicaments ADO, très utilisés par les diabétiques, sur l'activité de l' α -amylase porcine.

Cette contribution est réalisée au niveau du laboratoire de recherches Antibiotiques, Antifongiques, Physico Chimique, activité biologique et synthèse, de la Faculté des sciences de la nature et de la vie, université de Tlemcen.

Synthèse bibliographique

Chapitre 1 : le diabète et les antidiabétiques

1 Diabète sucré

Le diabète est caractérisé comme une affection dans laquelle la régulation du métabolisme des glucides et des lipides est mal contrôlée par l'hormone pancréatique, l'insuline, ce qui entraîne une augmentation de la glycémie. Le type de diabète le plus courant est le diabète non insulino-dépendant. La prise en charge du diabète de type II est complexe en raison de divers facteurs inhérents à la maladie, l'hyperglycémie postprandiale (HGPO) étant identifiée comme un facteur de risque. Les taux de HGPO sont augmentés grâce à l'activité des glucosidases, des enzymes responsables de la décomposition des glucides complexes en sucres plus simples tels que le maltose et le glucose. Les inhibiteurs de l' α -amylase, un type d'inhibiteur de la glucosidase, jouent un rôle crucial dans le contrôle des taux de HGPO chez les personnes diabétiques (**Bhat et al., 2011**).

La maladie se manifeste de différentes manières d'un individu à l'autre. Afin de simplifier les choses, les médecins classent depuis longtemps les affections diabétiques en deux groupes principaux : le diabète « insulino-dépendant », qui nécessite des injections d'insuline, et le diabète « non insulino-dépendant », qui peut être traité avec des médicaments non insulino-actifs (**Monnier, 2018**).

L'hormone responsable de la réduction de la glycémie est connue sous le nom d'hormone hypoglycémisante. La proinsuline, qui est le précurseur de l'insuline, est libérée en même temps que le peptide C.

Le mécanisme d'action de ces hormones repose sur leurs propriétés anabolisantes. La suppression de leur activité résulte d'une augmentation de la glycémie et de l'activation de certaines hormones gastro-intestinales (**Benberkane et Sahnoune, 2013**).

2 Epidémiologie

Le diabète est une maladie évolutive qui contribue de manière significative à la mortalité dans la société contemporaine. L'Organisation mondiale de la santé (OMS) reconnaît l'existence de ce problème.

La prévalence mondiale du diabète, à la fois globale et dans des régions spécifiques, chez les personnes âgées de 20 à 79 ans, a été documentée pour les années 2017 et 2024 :

En 2015, 415 millions de personnes ont été touchées par cette maladie.

Il est prévu que d'ici 2045, le nombre de personnes diagnostiquées avec le diabète augmentera considérablement pour atteindre le chiffre impressionnant de 642 millions (**IDF, 2017**).

En Algérie, la pathologie du diabète occupe la deuxième place dans le classement des maladies chroniques, après l'hypertension (**FID, 2018**).

La prévalence du diabète dans la population de Bâb El Oued était considérable ; toutefois, cette occurrence ne présentait aucune variation significative en fonction du sexe.

Néanmoins, elle augmentait considérablement avec l'âge, allant de 2,3 % chez les personnes de moins de 45 ans à 33,1 % chez les personnes âgées de 65 ans ou plus (**Mehenni et al., 2022**).

3 Critères de diagnostique

Il est défini par l'un des critères suivants :

- Glycémie à jeun $\geq 1,26$ g/l (7 mmol / l)
- HbA1C $\geq 6,5\%$ (critère validé, mais non appliqué partout dans le monde en raison de la standardisation de la technique de dosage, coût, etc.)
- Glycémie ≥ 2 g / l avec des symptômes classiques de diabète (polyurie polydipsie) (**ADA, 2010**).

4 Classification

4.1 Diabète de type 1 (diabète insulino-dépendant ou diabète juvénile)

(Destruction des cellules β du pancréas, conduit à un déficit absolu en insuline)

a. Auto-immun

b. Idiopathique (diabète de type 1b)

4.2 Diabète de type 2 (diabète non insulino-dépendant ou diabète de l'adulte)

(Résistance à l'insuline, déficit relatif en insuline) Formes intermédiaires de diabète

a. Latent autoimmuni diabetes in adults (LADA)

b. Ketosis prone diabetes (KPD) (**Vionnet, 2015**).

4.3 Le diabète gestationnel

La survenue de certains changements physiologiques chez les femmes pendant la grossesse peut être attribuée aux hormones sécrétées par le placenta. En fait, ces hormones provoquent un état de résistance à l'insuline semblable à celui du diabète de type 2 (**Goldenberg et al., 2013**).

4.4 Le diabète secondaire

Peut résulter d'une endocrinopathie par le biais d'un excès d'hormones (acromégalie, syndrome de Cushing, glucagonome, phéochromocytome, etc.), d'une atteinte du pancréas (pancréatite chronique, pancréatectomie, mucoviscidose, etc.), dans le contexte de syndromes génétiques ou encore médicamenteux (glucocorticoïdes, thiazides, agonistes β -adrénergiques, etc.) (**Vionnet, 2015**).

Tableau 1: Quelques différences entre le diabète de type 1 et 2 (Gariani et *al.*, 2018).

	Diabète de type 1	Diabète de type 2
Age du diagnostic	Enfance et adolescence	Adulte
Début	Rapide, aigu	Variable, souvent
Obésité	Non	Fréquente
Diabète Insulinosensibilité	Normale	Diminuée
Insulinothérapie	Indispensable	20% des cas
Complications chronique	Pas avant 5 ans dévolution. Complications à prédominance Micro angiopathique.	Déjà présente 30% des cas au moment du diagnostic Complications à prédominance macro-angiopathique

5 Facteurs de risque du diabète

Les causes exactes du diabète de type 1 sont inconnues. Il est généralement convenu que le diabète de type 1 résulte d'une interaction complexe entre des facteurs génétiques et environnementaux,

Le risque de diabète de type 2 est déterminé par l'interaction de facteurs génétiques et de facteurs métaboliques, L'existence d'un excès de masse grasse, qui constitue un indicateur complet de divers aspects de l'alimentation et de l'activité physique, représente le principal facteur de risque associé au diabète de type 2 (OMS, 2016).

6 Complications du diabète

6.1 Complications métaboliques aiguës du diabète

Les deux complications hyperglycémiques du diabète, à savoir l'acidocétose diabétique (ACD) et le syndrome d'hyperglycémie hyperosmolaire (SHH) (anciennement connu sous le nom de « coma hyperosmolaire »), sont généralement distinguées. Il convient toutefois de noter que la physiopathologie de ces deux affections est très similaire et que leur traitement repose sur des principes comparables.

6.2 Complications chroniques

Les complications chroniques comprennent les micro-angiopathies (néphropathies, rétinopathies et neuropathies) et les macro-angiopathies (maladies coronariennes, artériopathies et accidents vasculaires cérébraux), ainsi qu'un risque d'infection élevé (Yardley et Colberg, 2017)

7 Traitement

7.1 Diabète type 1

L'insulinothérapie : Les insulines couramment utilisées sont des analogues de l'insuline rapides, à action intermédiaire et à action lente. Les analogues rapides de l'insuline sont préférés aux insulines rapides ordinaires en raison de leur action plus rapide dans la réduction de l'hyperglycémie postprandiale et de l'hypoglycémie nocturne (Beltrand et Polak, 2016).

Régime alimentaire, arrêt du tabac, éducation thérapeutique, maintien d'une activité physique suffisante.

7.2 Diabète type 2

Il est basé sur deux moyens : Non médicamenteux (règles hygiéno-diététiques) et médicamenteux (antidiabétiques oraux et dans certains cas l'insuline).

7.2.1 Règles hygiéno-diététique (non médicamenteux)

Basé sur un régime alimentaire riche en fibre pauvre en glucides et lipides,
L'activité physique : le sport permet l'amélioration de la sensibilité à l'insuline ainsi que la réduction de poids et l'augmentation de la masse musculaire et osseuse (Congrès SFD, 2018).

7.2.2 Traitement par antidiabétiques oraux (médicamenteux)

Les traitements oraux contre le diabète visent à atteindre deux objectifs principaux :
L'objectif initial est d'améliorer les symptômes liés à l'hyperglycémie, notamment la fatigue, la miction excessive, la soif intense, l'augmentation de l'appétit, la perte de poids involontaire, l'irritabilité et les étourdissements.

L'objectif suivant est d'atténuer ou de limiter les risques de complications microangiopathiques, macroangiopathiques et neuropathiques associées au diabète (coulibaly, 2023).

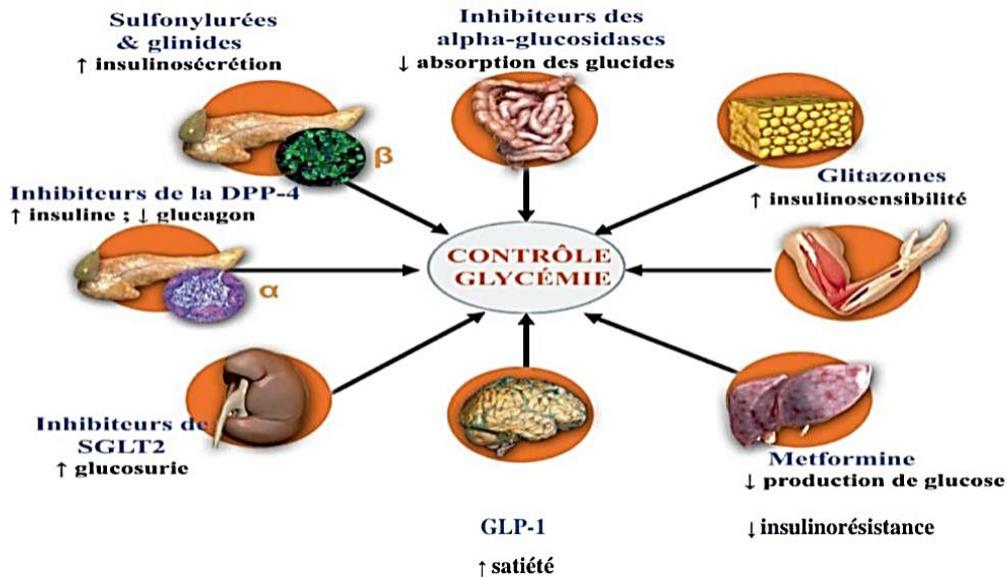


Figure 1: Principaux antidiabétiques oraux et son mécanismes d'action (Coulibaly, 2023)

On distingue les antidiabétiques qui ont une action sur :

7.2.2.1 L'insulinorésistance

Biguanides, thiazolidinediones, principalement indiqués chez les patients diabétiques obèses,

- **La metformine** (1,1-diméthylbiguanide) est un biguanide dérivé de la galégine, extraite du lilas français (*Galega officinalis*) selon la figure 2, Il inhibe le complexe 1 de la chaîne respiratoire, modifiant ainsi l'équilibre énergétique cellulaire. Cela entraîne une réduction de la disponibilité de l'ATP et une augmentation des taux d'AMP cellulaire, inhibant ainsi la production de glucose. L'activation de l'AMPK en augmentant le rapport AMP/ATP réduit la lipotoxicité et améliore la sensibilité à l'insuline, permettant ainsi de contrôler la gluconéogenèse par l'insuline selon la figure 3 (Viollet et al., 2012).

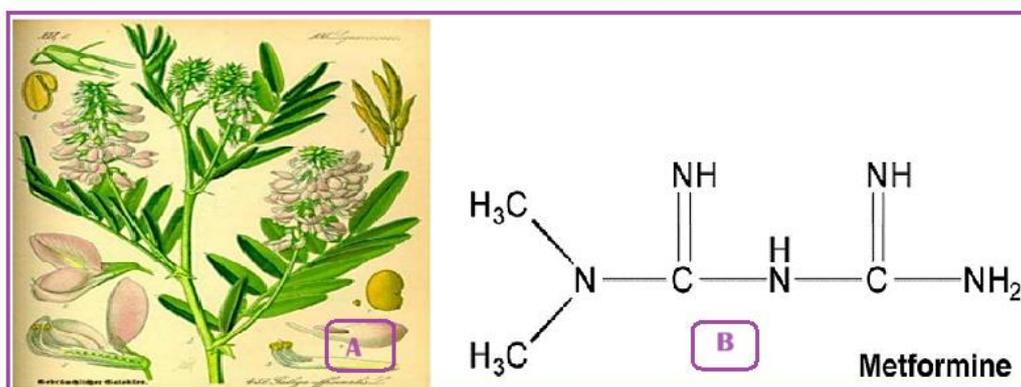


Figure 2:(A) Galega officinalis, (B) structure de la metformine (Viollet et al., 2012).

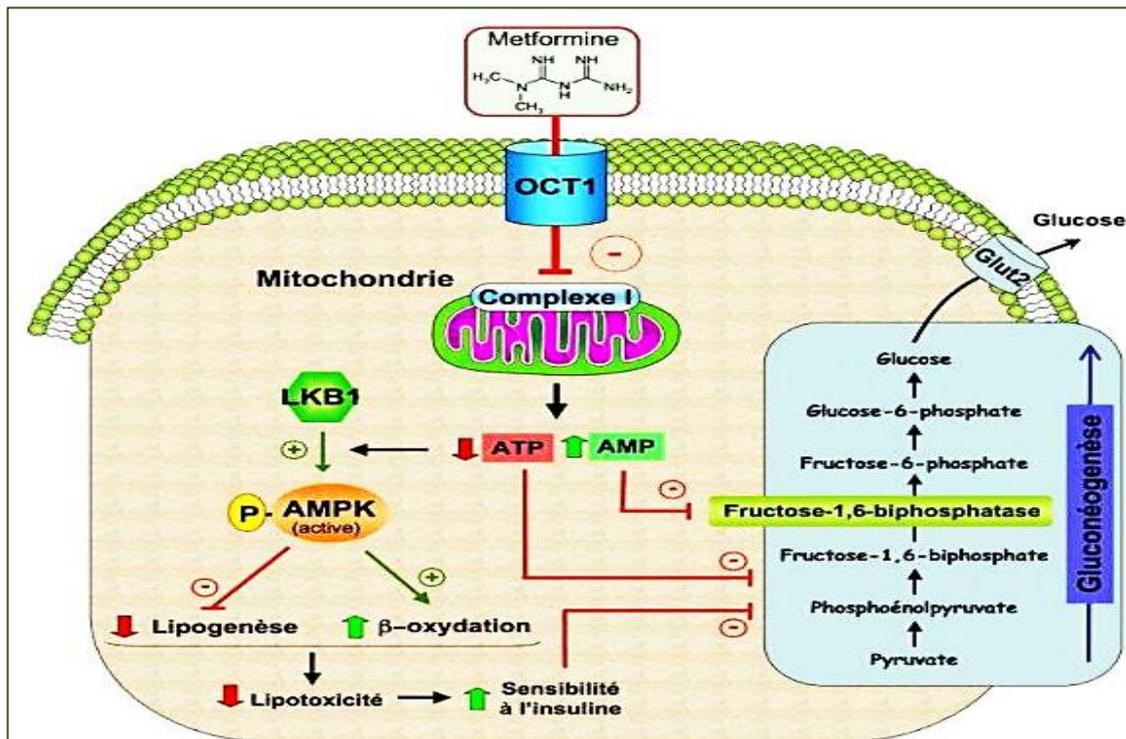


Figure 3: Inhibition de la production hépatique de glucose par la metformine

AMPK: AMP-activated protein kinase;
 Glut2 : Glucose transporter 2; LKB1 : Liver kinase B1 ;
 OCT1 : organic cation transporter 1 (Viollet et al., 2012).

- **Le chlorhydrate de pioglitazone** est un antidiabétique thiazolidinediones. Son action repose sur la présence d'insuline. Il réduit la résistance à l'insuline dans les zones périphériques et dans le foie, ce qui entraîne une augmentation de l'élimination du glucose et une diminution de la production hépatique de glucose (ULC, 2019).

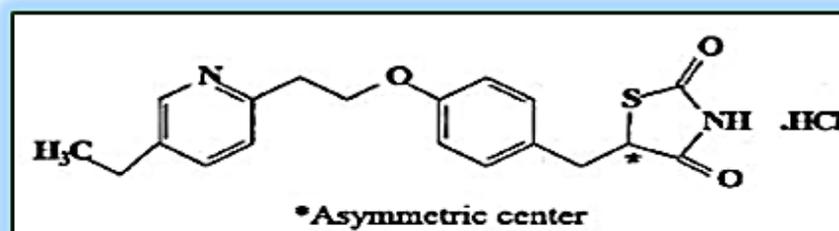


Figure 4: La structure chimique de la molécule pioglitazone (ULC, 2019).

7.2.2.2 L'insulinosecrétion

Sulfamides, glinides, indiqués en première intention chez les patients présentant une obésité peu sévère,

- **Le gliclazide** est un hypoglycémiant oral de la classe des sulfonylurées qui améliore la sécrétion d'insuline par les cellules bêta du pancréas. Il améliore la sécrétion d'insuline et améliore sa dynamique.

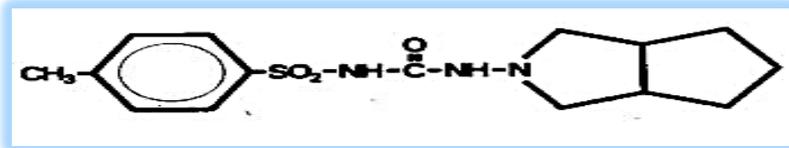


Figure 5: La structure chimique de la molécule pioglitazone (Harper et *al.*, 2013).

- **Le répaglinide (REP)**, connu chimiquement sous le nom d'acide 2-éthoxy-4- [2- [(1S)-3-méthyl-1- [2- (1-pipéridinyl) phényl] butyl] amino] -2-oxoéthyl] benzoïque :

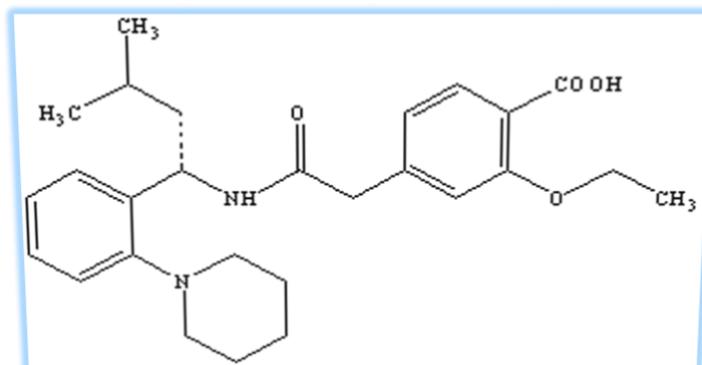


Figure 6: structure chimique du médicament répaglinide (Zhu et *al.*, 2014).

Le mécanisme d'action de la REP consiste à se lier à des récepteurs spécifiques des cellules bêta des îlots pancréatiques, à provoquer la fermeture des canaux potassiques, la dépolarisation de la membrane cellulaire et, finalement, à la sécrétion d'insuline (Zhu et *al.*, 2014).

7.2.2.3 Les inhibiteurs de l' α -glucosidase

Indiqués chez les patients présentant des glycémies à la limite supérieure

- **L'acarbose et le miglitol** sont des pseudotétracosaccharides d'origine bactérienne, Ces analogues structuraux des oligosaccharides alimentaires inhibent de façon compétitive et réversible les α -glucosidases de la bordure en brosse de l'intestin grêle (glucoamylase,

maltase, isomaltase et sucrase). Les inhibiteurs des α -glucosidases intestinales jouant le rôle de faux substrat retardent l'hydrolyse enzymatique des glucides complexes en mono et disaccharides qui sont alors absorbés dans l'iléon. L'absorption du glucose après un repas est ainsi retardée dans le temps. Les inhibiteurs des α -glucosidases sont essentiellement actifs sur l'hyperglycémie postprandiale (Lysek et al., 2006).

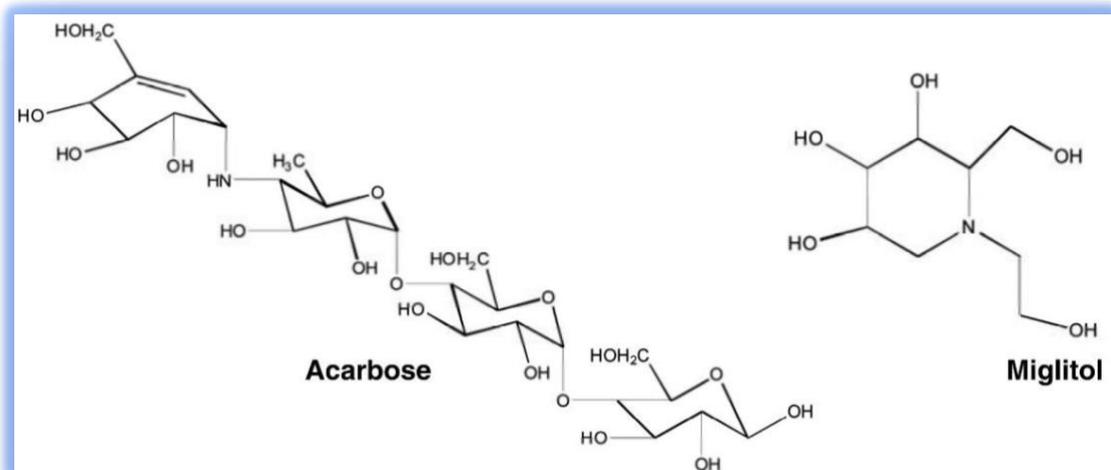


Figure 7: structure chimique du médicament inhibiteur de l' α glucosidase (Lysek, 2006).

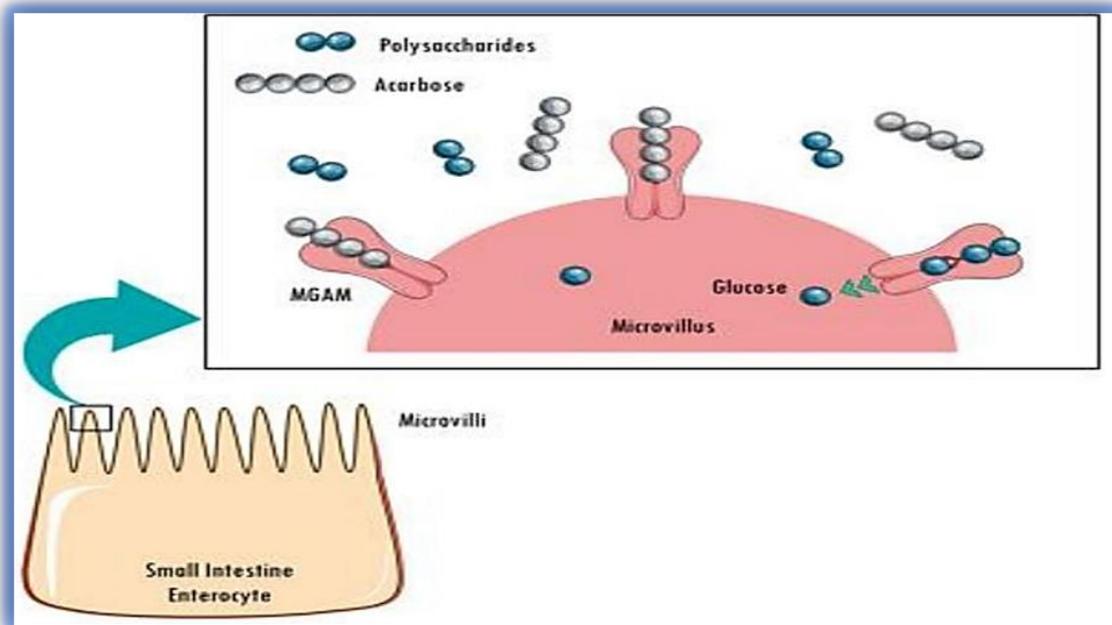


Figure 8: L'inhibition compétitive de l' α -glucosidase par l'acarbose (Bischoff., 1991).

Donc les ADO agissent par ;

- Stimulation de la sécrétion d'insuline : Sulfamides, glinides ;
- Diminution de la production hépatique de glucose : Metformine ;
- Augmentation de la captation musculaire du glucose : Glitazones ;
- Diminution de l'absorption intestinale des sucres alimentaires : inhibiteurs de l' α -glucosidase ;
- Diminution de l'insulinorésistance : Sulfamides, glinides, glitazones et metformine ;
- Potentialisation de l'action de l'insuline au niveau musculaire : metformine.
- Les inhibiteurs de la dipeptidyl-peptidase-4 potentialisant l'activité de l'incrétine (Moumou et Braik, 2018)

Tableau 2: Les médicaments antidiabétiques oraux "ADOs" anti hyperglycémiant (Lalau et al., 2015).

Classe	Mécanisme d'action	Mécanisme cellulaire	Médicament /nom	Métabolisme /Élimination	Dose habituelle (mg)
Biguanides	Réduction de la production hépatique de glucose	Activation de l'AMPK hépatique	Metformine	Filtre et sécrété inchangé dans l'urine	500-2550
Sulfamides Hypoglycémiant	Stimuler le pancréas pour la sécrétion d'insuline	Fixation sur protéine SUR1 du canal potassique des cellules bêta pancréatiques	glibenclamide	100 % Métabolisme hépatique en métabolites faiblement actifs excrétés dans l'urine (50 %) et la bile/ les selles (50 %)	2,5 - 15
			Gliclazide	99 % de métabolisme hépatique à 8 métabolites inactifs excrété dans l'urine (80%) et la bile (20%)	30 à 120
Glinides	Stimule la sécrétion de l'insuline	Fixation sur la protéine SUR1 du canal potassique.	Répaglinide	100% Métabolisme hépatique aux métabolites inactifs excrétés dans l'urine (10 %) et les selles (90 %)	0,2–12
Inhibiteurs du dipeptidyl peptidase 4 (DPP-4)	Potentialisation de l'insulinosécrétion	Inhibition de la dégradation des incrétines (GLP-1, GIP)	Vildagliptine	Seulement 25 % du médicament est excrété par les reins. La principale voie d'élimination est le métabolisme	250
Thiazolidinediones	améliorer la sensibilité à l'insuline. ligand pour le récepteur PPAR- δ	activer le facteur de transcription nucléaire PPAR- δ	Pioglitazone	Métabolisme hépatique étendu ; métabolites actifs; excrété dans l'urine (15%) et les selles (85%)	15-45
Inhibiteurs des α -glucosidases Intestinales	Retard de l'absorption intestinale du glucose	Inhiber α -glucosidase intestinale	Acarbose	Près de 100 % du métabolisme du tractus gastro-intestinal	75-300

Tableau 3:les avantages et les inconvénients des médicaments (Lalau et *al.*, 2015).

Médicaments classes	Avantages	Inconvénients	Coût
Biguanides	<p>Pas d'hypoglycémie</p> <p>Pas de prise de poids</p>	<p>.Côté gastro-intestinal effets : diarrhée, crampes abdominales</p> <p>.Risque d'acidose lactique (rare)</p> <p>.Carence en vitamine B12</p> <p>.Contre-indications multiples : IRC, hypoxie, déshydratation, choc, insuffisance hépatique</p>	Faible
sulfonylurées	<p>Une vaste expérience</p> <p>↓Micro vasculaire risque (UKPDS)</p>	<p>.Hypoglycémie</p> <p>.Prise de poids</p> <p>.Atténue le pré conditionnement ischémique myocardique</p> <p>.Faible durabilité</p>	Faible
Glitinides	<p>↓Postprandial excursions en glucose</p> <p>Flexibilité de dosage</p>	<p>.Hypoglycémie</p> <p>.Gain de poids</p> <p>. Émoussé le myocarde ischémique pré conditionnement</p> <p>.Dosage fréquent calendrier</p>	Haut
DPP-IV inhibiteurs	<p>Pas d'hypoglycémie</p> <p>Bien toléré</p>	<p>Généralement modeste Efficacité HbA1c</p> <p>Urticaire/angio-œdème</p> <p>Pancréatite</p>	Haut
Thiazolidinediones	<p>Pas d'hypoglycémie</p> <p>Durabilité</p> <p>↑HDL-C</p> <p>↓Triglycérides (pioglitazone)</p>	<p>Gain de poids</p> <p>Œdème/insuffisance cardiaque</p> <p>Fractures osseuses</p> <p>↑ Cancer de la vessie (pioglitazone)</p>	Haut
Inhibiteurs de la Glucosidase	<p>Pas d'hypoglycémie</p> <p>Postprandial</p>	<p>Généralement modeste Efficacité HbA1C</p> <p>Côté gastro-intestinal effets (flatulences,</p>	Modéré

	excursions en glucose	diarrhée)	
	Non systémique effets	Dosage fréquent calendrier	

7.2.3 Traitement du diabète sucré par les plantes médicinales

Les plantes sont historiquement utilisées à des fins thérapeutiques. Diverses herbes, épices et parties de plantes sont utilisées dans le monde entier pour le traitement des maladies et la régulation du métabolisme des glucides.

Environ 1 200 espèces de plantes sont utilisées en médecine traditionnelle pour le traitement du diabète. Le traitement consiste à utiliser des plantes sous différentes formes, comme la décoction, l'infusion et la macération (**Holaly et al., 2017**).

Chapitre 2 : l' α -amylase

1 Définition

Les α -amylases (α - 1,4-glucane-4-glucanohydrolases, EC 3.2.1.1) appartiennent à la famille des hydrolases et constituent une endoenzyme. Il hydrolyse de façon aléatoire les liaisons osidiques de l'amylose, de l'amylopectine, de l'amidon, du glycogène et d'autres polysaccharides contenant plus de trois liaisons α (1,4) D-glucose (**Keating et al., 1998**).

Les glandes salivaires et pancréatiques produisent de l' α -amylase chez l'homme. Il existe cinq gènes de l' α -amylase sur le chromosome 1, trois pour l' α -amylase salivaire et deux pour l' α -amylase pancréatique (**Ćorković et al., 2022**).

2 Nomenclature

Nom commun : α -amylase.

Numéro de commission enzymatique: EC 3.2.1.1.

Nomenclature scientifique: (1,4 – α -D-glucane, 4glucano hydrolase).

Autres nom (s):glycogénèse, α -amylase; endoamylase Taka-amylase (**Lee et deMan, 2018**).

3 Caractéristiques structurales de l' α - amylases

La structure des α -amylases d'insectes et de mammifères englobe trois domaines (Figure9)

(a) le domaine central catalytique A, qui se compose d'un barillet (β/α),

(b) le domaine B, caractérisé par une boucle étendue provenant du troisième brin et de la troisième hélice,

Et (c) le domaine C, une unité globulaire distincte située à l'extrémité C-terminale.

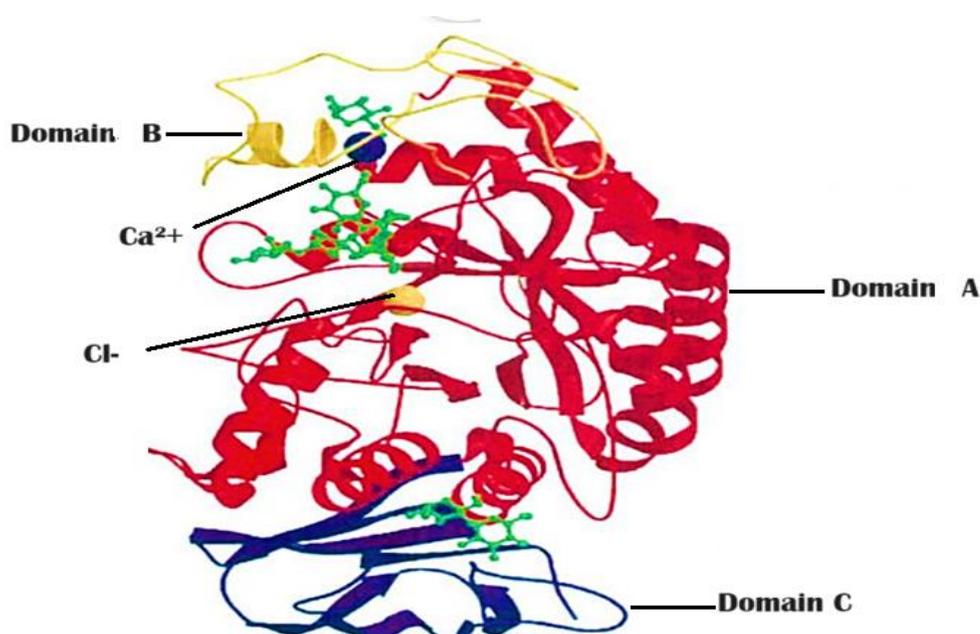


Figure 9: Structure cristalline du complexe substrat α -amylase pancréatique(PPA).

Ou les rubans rouges indiquent le domaine A, les rubans jaunes indiquent le domaine B, les rubans bleu indiquent le domaine C, la sphère bleu indique lion calcium et la sphère jaune.

Les domaines A et B jouent un rôle crucial dans la définition de l'architecture des trois principaux sites fonctionnels de l'enzyme, à savoir le site actif, le site de liaison au calcium et le site de liaison au chlorure. Les ions calcium et chlorure jouent un rôle essentiel dans le maintien de l'intégrité structurale et le déclenchement de l'activation des amylases (**Payan, 2004**).

Les sites de liaison de l' α -amylase fonctionnent comme un site allostérique en raison de leur proximité avec une molécule d'eau, qui serait impliquée dans l'initiation du clivage du substrat (**Kaur et al., 2014**).

4 Mode d'action de l' α - amylase

Les α -amylases présentent généralement de multiples modes d'action en fonction de diverses conditions telles que la température, le pH, la taille du substrat et la structure. L'enzyme peut utiliser différents mécanismes ou une combinaison de ceux-ci en fonction des conditions spécifiques.

- L'attaque aléatoire fait référence à l'hydrolyse de toute liaison α - (1-4), initiée par l'extrémité réductrice, conduisant à la production de glucose, de maltose et de D-dextrine.
- L' α -amylase a tendance à cibler des liaisons glycosidiques spécifiques au sein du substrat, ce que l'on appelle attaque préférée.
- Lors d'attaques multiples ou répétitives, l'enzyme se déplace le long de la chaîne du substrat, hydrolysant en continu les liaisons glycosidiques sans se détacher du substrat.
- Le mécanisme à chaîne unique consiste à dégrader une chaîne avant de passer à la suivante. Lors de la formation d'un complexe actif avec le substrat initial, l'enzyme catalyse la réaction et retarde la formation d'un autre complexe actif avec d'autres substrats jusqu'à ce que la dégradation de la première chaîne soit complète.
- En revanche, le mécanisme multichaîne entraîne une dégradation simultanée de toutes les chaînes (**Khadraoui, 2021**).

L'activité catalytique de l'enzyme implique la participation des trois acides aminés du site actif : Asp. 231 (nucléophile catalytique), Glu 261 (donneur catalytique de l'hydrogène) et Asp. 328 (l'aide de catalyse).

Le mécanisme catalytique des hydrolases glycosidiques se décompose en trois étapes :

1. Protonation de l'oxygène glycosidique par le donneur de proton Glu 261.

2. Attaque nucléophile sur C1 du résidu du sucre en position 1 par Asp 231 et départ de l'extrémité réductrice du substrat.
3. Activation d'une molécule d'eau par le maintien du Glu 261 déprotonné, régénération de l'état initial et libération de l'autre fragment du substrat par hydrolyse du lien covalent entre l'oxygène nucléophile de l'Asp 231 et le C1 de résidu du sucre en position 1 (Davies *et al.*, 1999 ; Nielson *et al.*, 2001).

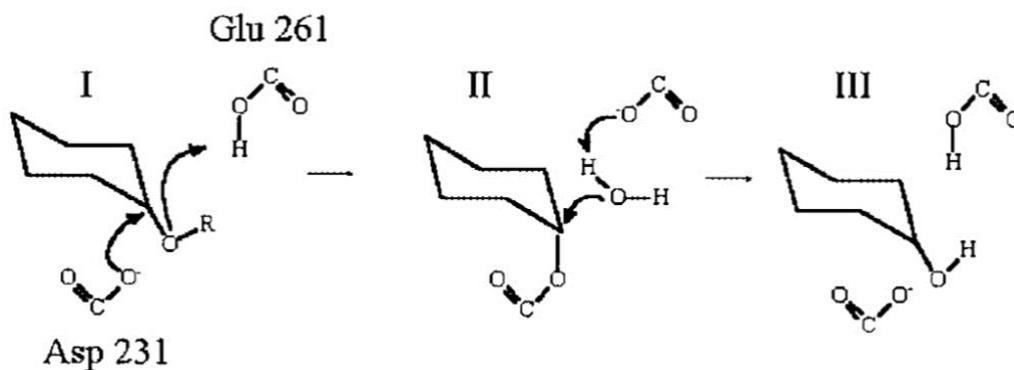


Figure 10: Mécanisme catalytique des hydrolases glycosidiques (Nielson *et al.*, 2001).

5 Problèmes associés aux amylases hautement actives

Les enzymes actives décomposent les amidons riches en calories en sucres simples, qui régulent l'appétit par le biais de divers signaux. L'excès d'énergie sous forme d'hyperglycémie entraîne une augmentation de l'apport calorique par rapport à la dépense

De tels déséquilibres ou fluctuations du carburant énergétique de l'organisme (apport énergétique par rapport à la dépense énergétique) peuvent entraîner un risque accru d'obésité (prise de poids), qui est à son tour associé au développement de diverses maladies chroniques et de troubles métaboliques tels que le diabète, l'hypertension, l'hypercholestérolémie et les maladies cardiovasculaires (Rosin, 2008).

Par conséquent, la régulation de l'activité de l'amylase est cruciale, car des niveaux incontrôlés de cette enzyme peuvent entraîner des dysfonctionnements importants. Ces problèmes peuvent être résolus par la dégradation des enzymes ou l'utilisation d'inhibiteurs enzymatiques, tels que les inhibiteurs de l' α -amylase (Shamki *et al.*, 2012).

6 Les inhibiteurs de l' α - amylase

L' α - amylase est une cible thérapeutique bien connue pour le traitement et le maintien des élévations postprandiale de la glycémie. Divers inhibiteur enzymatique tels que l'acarbose le miglitole et le voglibose, se sont révélés efficaces pour cibler cette enzyme (Navjot *et al.*,

2021), L'inhibition qui en résulte entraîne une réduction de la quantité de glucose absorbée par l'intestin (Bochra et Baouta, 2023).

L'acarbose a non seulement un impact crucial et direct sur l'absorption des glucides des aliments dans la circulation sanguine, mais joue également un rôle indirect dans l'amélioration du métabolisme du glucose tout au long de la journée en influençant l'adaptation de la sécrétion d'insuline (Rosak et Mertes, 2012).

En inhibant l' α -amylase et α -glucosidase, il se produit un retard d'absorption du glucose, réduisant ainsi la glycémie postprandiale selon la figure 11,

Il convient de noter que les plantes contiennent d'abondants composés phénoliques qui présentent des propriétés inhibitrices de l' α -amylase, ce qui peut réduire efficacement la glycémie sans provoquer d'effets secondaires indésirables (Gandhi et al., 2020).

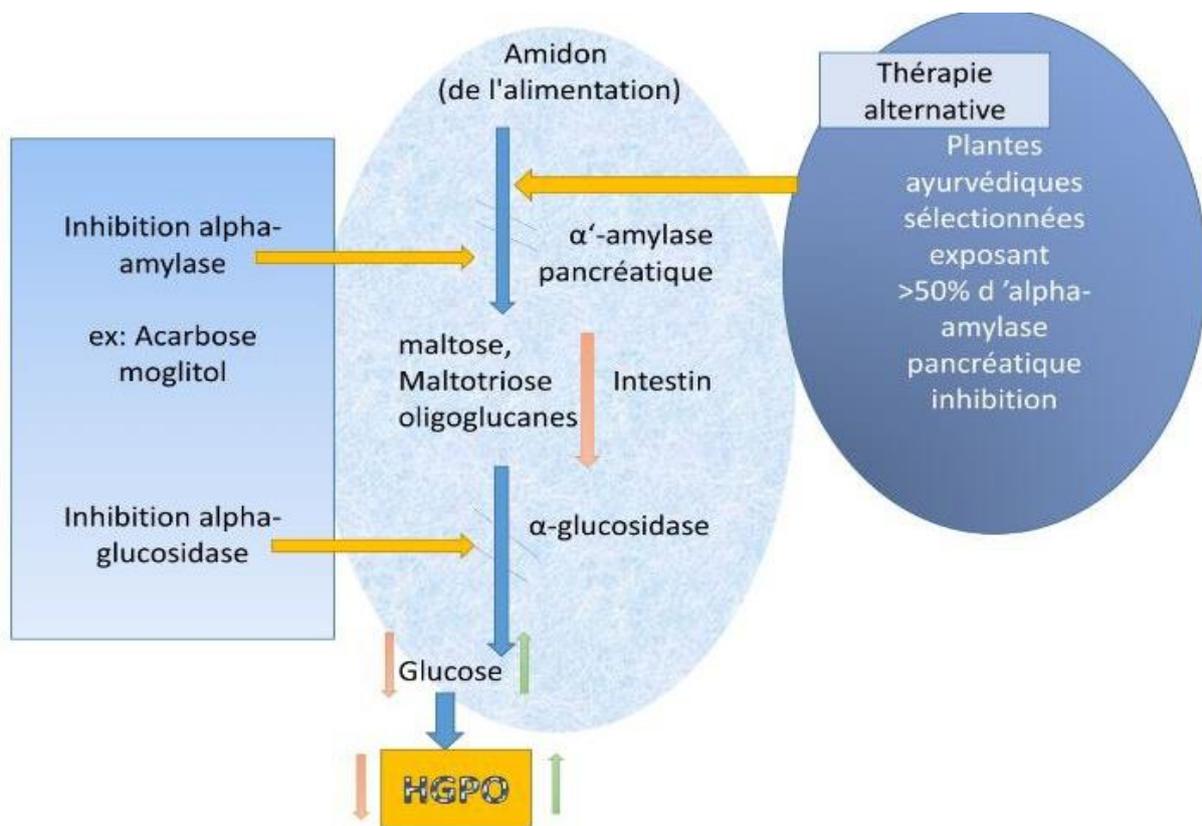


Figure 11: inhibition de α -amylase pancréatique par des médicaments comme mécanisme antidiabétique potentiel. Les doubles barres indiquent une inhibition de l'activité de l'amylase conduisant à une réduction de la concentration de maltose, d'oligosaccharide et de maltose, d'oligosaccharide et de glucose et diminue par la suite le taux de glycémie (Ponnusamy et al., 2011).

7 Origine de l'amylase

Les α -amylases sont omniprésentes dans divers taxons, notamment les animaux, les plantes et les microorganismes. Bien que l' α -amylase de différentes origines ait très peu de séquences d'acides aminés identiques, leur structure tridimensionnelle et l'organisation de leur site actif sont similaires (Nouadri, 2011).

Le niveau de production de l' α -amylase varie selon le genre, l'espèce et la souche de microbes

Les α -amylases produites par voie microbienne, dérivées de champignons et de bactéries, sont largement utilisées dans diverses recherches scientifiques et domaines industriels. L'efficacité de la production microbienne d' α -amylase est influencée par les techniques de fermentation et par une série de variables, telles que la température, le pH, ainsi que les sources d'azote et de carbone. Certains microorganismes ont la capacité de générer des α -amylases qui présentent une stabilité thermique, résistant ainsi à des conditions environnementales difficiles (Sundarram et al., 2014).

Tableau 4: Différentes origines de l'amylase (Khacheba, 2008)

Enzyme d'origine	Exemples	pH optimal	Température optimales (C°)
Animale	Salive humaine	6,9	40
	Pancréas de porc	6,9	37
Végétal	Malt d'orge	4,7 – 5,4	50 – 55
	Blé	4,6	60- 66
Microbienne	<i>Bacillus coagulans</i>	5,2	57
	<i>Aspergillus oryzae</i>	5,5 – 6,9	40

8 La stabilité des α -amylases

Les α -amylases sont stables à des pH compris entre 4 et 11, à quelques exceptions près pour des plages de stabilité étroites.

La température optimale pour l'activité de l' α -amylase est liée à la croissance des microorganismes, Divers facteurs tels que le calcium, le substrat et les stabilisants influencent les thermostabilités.

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

1 Les médicaments testés**1.1 Acarbose**

Commercialisé sous le nom commercial LARIMEL 50 mg

- Classe thérapeutique : inhibiteur de l' α -glucosidase
- Substance : acarbose
- Excipients : amidon de maïs modifié, cellulose microcristalline, silice colloïdale anhydre, magnésium stéarate.
- Mécanisme d'action : Il agit en inhibant de manière compétitive les α -glucosidases intestinales, diminuant ainsi la dégradation des glucides en monosaccharides facilement absorbables.

1.2 Novoformine

Commercialisé sous le nom de Novoformine 500 mg

- Classe thérapeutique : Insulinosensibilisateur périphérique
- Substance : metformine chlorhydrate
- Excipients : povidone K30, cellulose microcristalline, amidon de maïs pré-gélatinisé, saccharine sodique.
- Mécanisme d'action : il agit en augmentant la sécrétion d'insuline par le pancréas, ce qui permet de réduire le taux de sucre dans le sang.

1.3 Gliclazide

Commercialisé sous le nom de Diamicron 30 mg

- Classe thérapeutique : insulinosécrétoire
- Substance : gliclazide
- Excipients : hypromellose, magnésium stéarate, maltodextrine, silice colloïdale anhydre.
- Mécanisme d'action : Le gliclazide se lie à des récepteurs spécifiques sur la cellule bêta, ce qui entraîne une augmentation de la sécrétion d'insuline.

1.4 Irys

Commercialisé sous le nom de Irys 2 mg

- Classe thérapeutique : insulinosécrétoire
- Substance : glimépiride
- Excipients : cellulose microcristalline, sodium carboxyméthylamidon, povidone K 30, magnésium stéarate.
- Mécanisme d'action : la glimépiride stimule la sécrétion d'insuline par le pancréas, ce qui permet de diminuer l'excès de sucre dans le sang.

2 Evaluation de l'effet inhibiteur des médicaments sur l' α -amylase

2.1 Préparation des réactifs

2.1.1 Solution de tampon phosphate (pH=6,9 ; 0,02 M)

La solution tampon est formulée par la combinaison de deux solutions, à savoir l'acide (A) et la base (B). La solution A est caractérisée comme monobasique (NaH_2PO_4) avec une masse molaire de 119,98 g/mol, tandis que la solution B est classée comme dibasique (Na_2HPO_4) avec une masse molaire de 141,96 g/mol ; les deux sont préparés séparément à une concentration de 0,02 M, ensuite mélangés jusqu'à l'obtention d'un pH final de 6,9.

2.1.2 Solution d' α -amylase

L'enzyme utilisée est l' α -amylase (E.C.3.2.1.1) du pancréas du porc (PPA) sous forme lyophilisée (Fluka), son poids moléculaire est de 13000 Da, avec une activité spécifique de 13 UI/mg, conservée à + 4°C. 6 mg de PPA sont solubilisés dans 20 ml de solution tampon phosphate (pH= 6,9 ; 0,02 M), la solution obtenue contient une activité α -amylasique de 3,9 UI/ml. L'optimum de l'activité α -amylasique d'origine porcine est à pH=6,9 pour une température de 37°C.

2.1.3 Solution de substrat

Le substrat de cette catalyse est l'amidon soluble. 1 g d'amidon est solubilisé dans 100ml de Tampon phosphate additionné de Na Cl à 6mM. Le tout est chauffé jusqu'à ébullition sur plaque chauffante agitatrice. Après 10 min, la solution est refroidie et le volume est de nouveau ajusté à 100ml.

2.1.4 Réactif de DNSA (acide 3,5-dinitrosalicylique)

Dans un bécher, 1g de DNSA est dispersé dans 40 ml d'eau distillée. La solution obtenue est de couleur jaune opaque. 30 g de tartrate double de sodium et de potassium sont ajoutés sous

agitation. Après, 20ml de NaOH (2N) doivent être additionnés au mélange. Le réactif devient limpide avec une couleur orange. Le volume final est ajusté à 100 ml avec de l'eau distillée. Le réactif obtenu est conservé à l'abri de la lumière et à +4°C.

2.1.5 Les médicaments testés

2.1.5.1 Solution de Larimel (Acarbose)

L'acarbose « LARIMEL®50 » est utilisé dans cette expérience comme molécule de référence, afin de comparer son activité vis-à-vis de l' α -amylase par rapport à celle des autres médicaments.

Pour le préparer, un comprimé de 50mg a été dispersé dans 50 ml de tampon phosphate (pH=6,9 ; 0,02 M). La solution obtenue constitue la solution mère à partir de laquelle différentes solutions filles sont préparées par dilution en cascade.

2.1.5.2 Solution de Novoformine

Un comprimé de 500 mg a été préparé dans 50 ml de tampon phosphate (pH=6,9 ; 0,02 M) pour avoir une solution mère

2.1.5.3 Solution de Gliclazide

Dans le cas de ce médicament, un comprimé de 30 mg a été préparé dans un 50 ml tampon phosphate (pH=6,9 ; 0,02 M). C'est la solution mère.

2.1.5.4 Solution d'Irys

Du fait que la dose de ce médicament est faible par rapport aux autres, un comprimé de 2 mg a été préparé dans un 10 ml de tampon phosphate (pH=6,9 ; 0,02 M) formant ainsi la solution mère d'Irys.

2.2 Mode opératoire

Cette approche est exécutée conformément aux directives procédurales établies par **Thalapaneni et al., (2008)**, bien qu'avec des modifications de la quantité, en remplaçant 0,2ml par un volume augmenté de 0,5 ml. Un spectre de concentrations est organisé par dilution en cascade, suivie de l'évaluation de l'impact des concentrations individuelles du médicament sur l'activité de l' α -amylase.

Deux méthodologies ont été utilisées, l'une impliquant la pré-incubation et l'autre sans pré-incubation.

2.2.1 Méthode sans incubation

- Tube blanc (pour le contrôle) : 1 ml solution tampon +0,5ml solution d'amidon.
- Tube blanc (pour médicament) : 0,5 ml solution tampon +0,5ml solution de médicament +0,5 ml solution d'amidon.
- Tube contrôle : 0,5 ml solution tampon +0,5 ml d'amidon + 0,5 ml de solution enzymatique.
- Tube essai : 0,5 ml solution d'amidon +0,5 ml solution de médicament +0,5 solution enzymatique.
- Agiter les tubes et incuber pendant 15 minutes à 37C°.
- Après incubation, on ajoute 1 ml de DNSA et on place les tubes dans un Bain marie bouillant pendant 8 minutes à 100 C°, pour stopper les réactions Enzymatiques.
- Afin de stopper la réaction entre le produit et DNSA on possède à un choc thermique en déposant les tubes dans un bain d'eau glacée.
- Mesure les densités optiques au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 540 nm.



Photo 1:préparation des tubes à essai (Photo prise au laboratoire)

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

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

A contrôle : absorbance contrôle ; **A échantillon** : absorbance échantillon

• **IC₅₀** est la concentration inhibant 50% de l'activité enzymatique. Elle est calculée graphiquement.

2.2.2 Méthode par préincubation

L'organigramme sur la figure 13 résume les étapes de notre travail :

- Tube blanc(pour le contrôle): 1ml solution tampon .
- Tube blanc(pour les extraits): 0,5ml solution tampon + 0,5ml solution de médicament .
 - Tube contrôle: 0,5ml solution tampon + 0,5ml solution enzymatique .
 - Tube essai: 0,5ml solution de médicament + 0,5ml solution enzymatique .

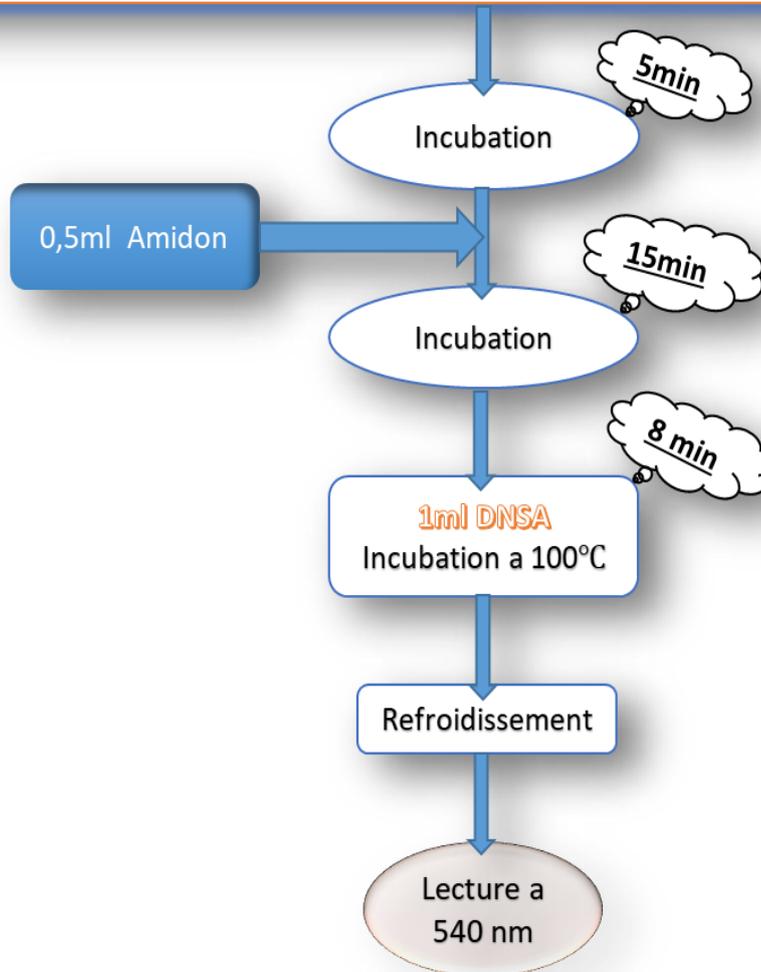


Figure 12 : organigramme schématisant la méthode avec préincubation

3 Objectif

Le travail expérimental que nous avons réalisé a été effectué au sein du laboratoire de recherche Antibiotique, Antifongiques ; Physico-chimie, Synthèse et Activité biologique LAPSAB de la faculté des sciences de la nature et de la vie, sciences de la terre et de l'univers, université AbouBekr Belkaid, Tlemcen.

Le but de ce travail pratique est la recherche d'éventuel effet inhibiteur de quelques médicaments antidiabétiques sur l' α -amylase.

Le principe de cette recherche repose sur l'évaluation de la capacité de ces médicaments à bloquer ou retarder l'activité de l'enzyme α -amylase. Cette enzyme est responsable de la dégradation de l'amidon en sucre. Ce mécanisme permet de diminuer la glycémie postprandiale chez les diabétiques.

Certains médicaments tel que l'acarbose ont été développés spécifiquement pour inhiber l' α -amylase et réduire l'absorption du glucose pour un bon contrôle glycémique.

Dans ce travail, deux méthodologies ont été utilisées, l'une impliquant la pré-incubation entre le médicament et l'enzyme pendant 5 min et l'autre sans pré-incubation.

Résultats et discussion

1 Inhibition de l' α -amylase par la méthode sans pré incubation

○ Inhibition par l'acarbose (contrôle positif)

D'après les résultats résumés sur la figure 14, nous pouvons remarquer une augmentation relativement importante des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations croissantes de l'acarbose. Nous remarquons qu'à la concentration de 0,1mg/ml l'Acarbose provoque une inhibition de l'ordre de 28,5%.

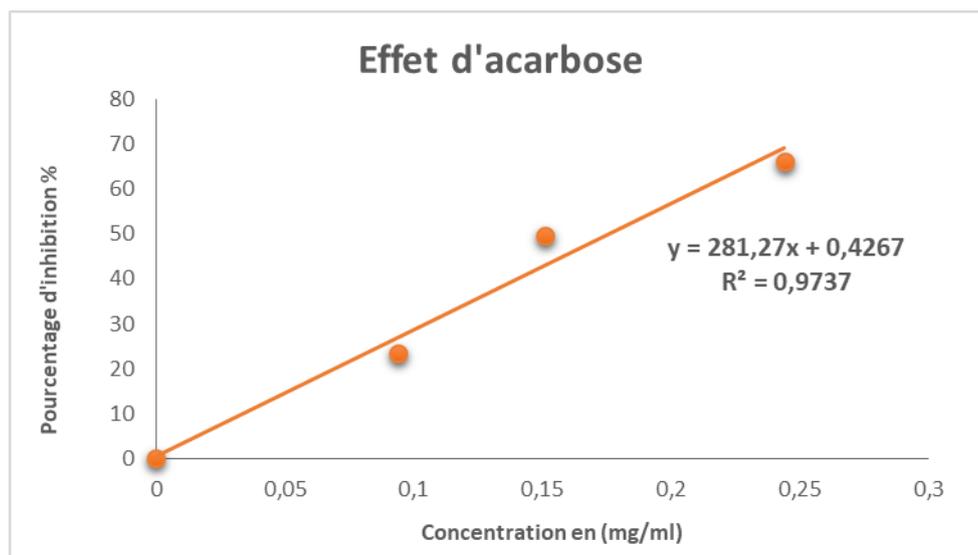


Figure 13 :Effet inhibiteur d'acarbose sur l' α -amylase

○ Inhibition par Irys

Sur la base des résultats présentés dans la figure 15, une augmentation substantielle des pourcentages d'inhibition est observée avec l'augmentation des concentrations d'Irys. Il est évident qu'à une concentration de 0,1 mg/ml, l'Irys induit un taux d'inhibition d'environ 65,4 %.

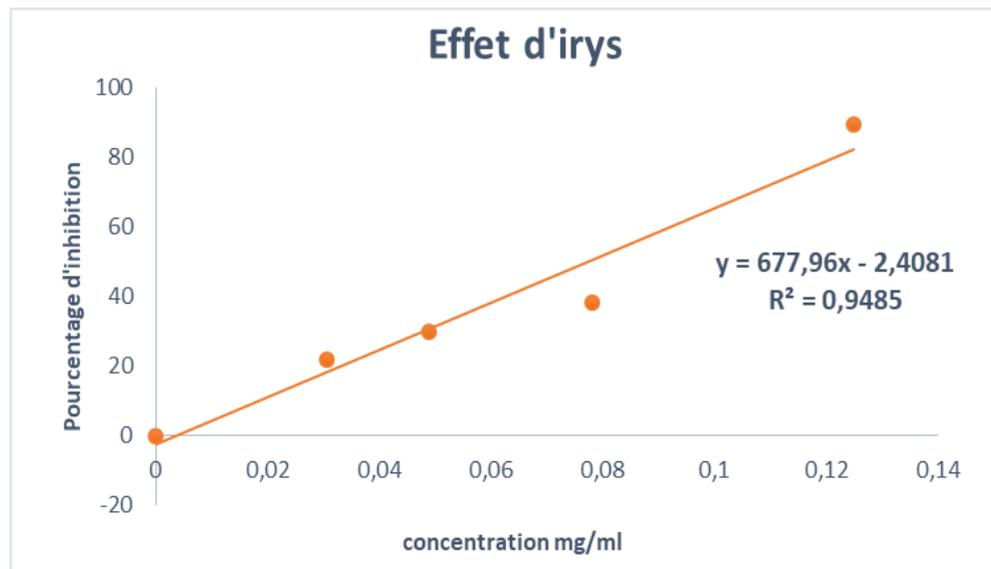


Figure 14 : Effet inhibiteur d'Irys sur l'α-amylase.

○ Inhibition par Gliclazide

Sur la base des résultats présentés dans la figure 16, une augmentation notable des niveaux d'inhibition est observée avec l'augmentation des concentrations de gliclazide. Il est observable qu'à la concentration de 0,1 mg/ml, ce médicament induit un taux d'inhibition approximativement équivalent à 22,4 %.

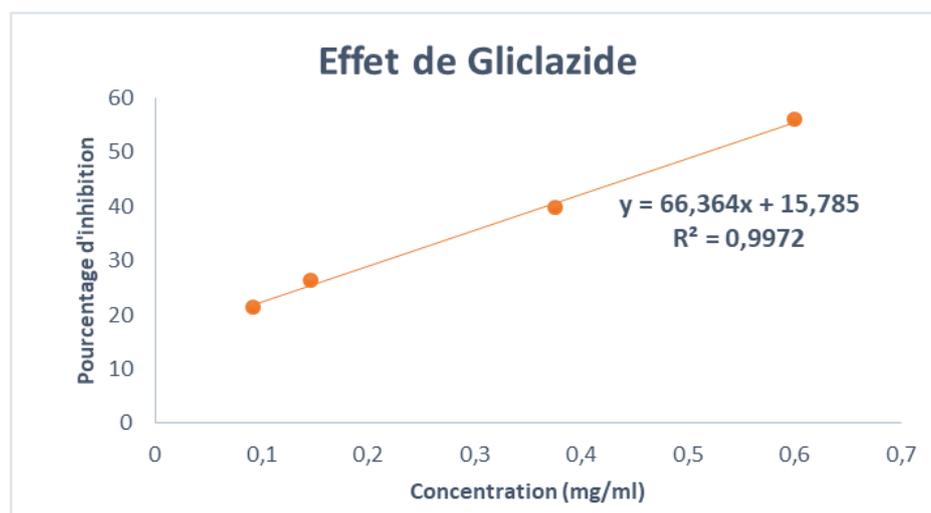


Figure 15 : Effet inhibiteur de Gliclazide sur l'α-amylase.

- Inhibition par Novoformine

La Figure 17 regroupe les résultats obtenus avec Novoformine ; une augmentation progressive des pourcentages inhibiteurs est perceptible avec l'augmentation des concentrations de Novoformine. A la concentration de 2 mg/ml, il provoque une inhibition d'environ 13,1 %.

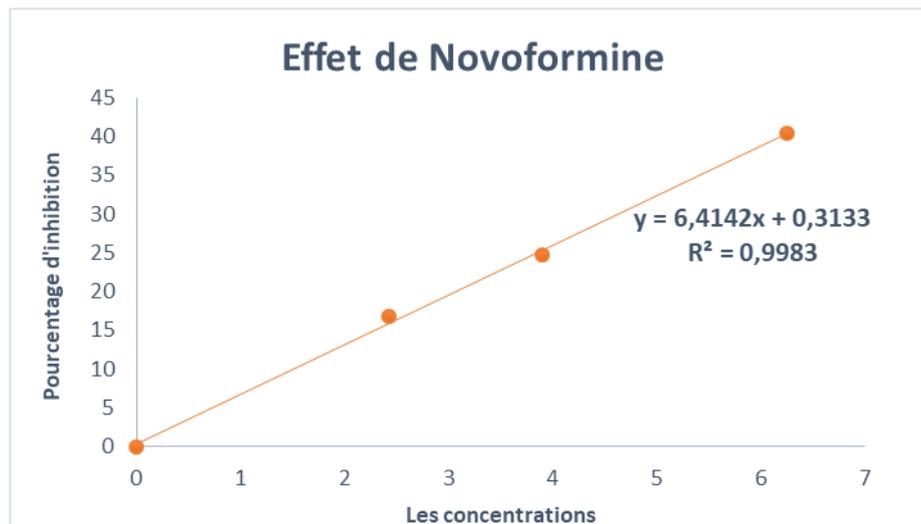
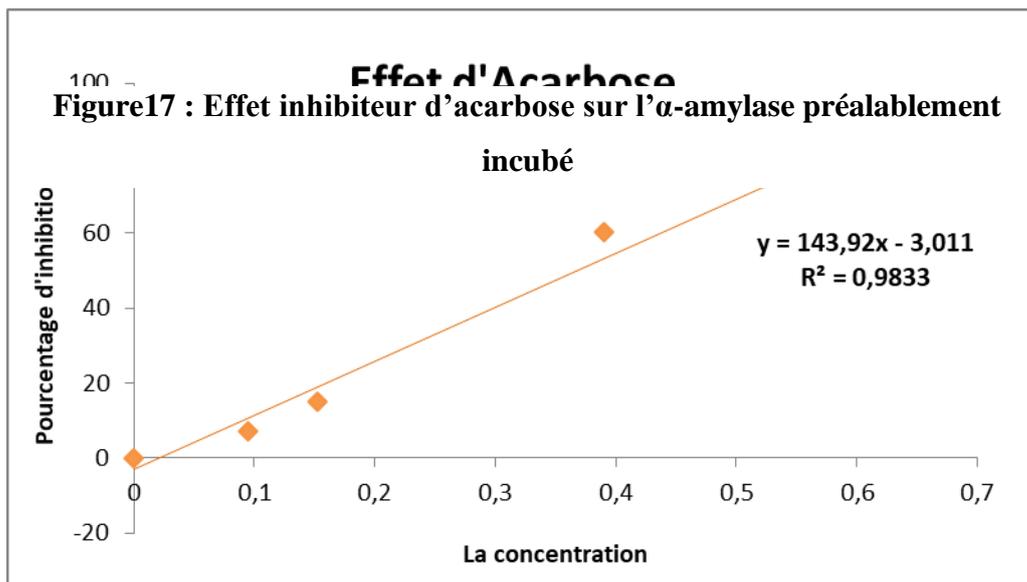


Figure16 : Effet inhibiteur de Novoformine sur l' α -amylase.

2 Inhibition de l' α -amylase par la méthode pré incubation

- Inhibition par l'acarbose

D'après les résultats résumés sur la figure 18, nous pouvons remarquer une augmentation relativement importante des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations croissantes d'acarbose. Nous remarquons qu'à la concentration de 0,1 mg/ml Irys provoque une inhibition de l'ordre de 11,3 %.



○ **Inhibition par Irys**

La figure 19 montre une augmentation considérable des pourcentages d'inhibition est avec l'augmentation des concentrations d'Irys. Nous remarquons une inhibition d'environ 65,5 % est induite par Irys à une concentration de 0,1 mg/ml.

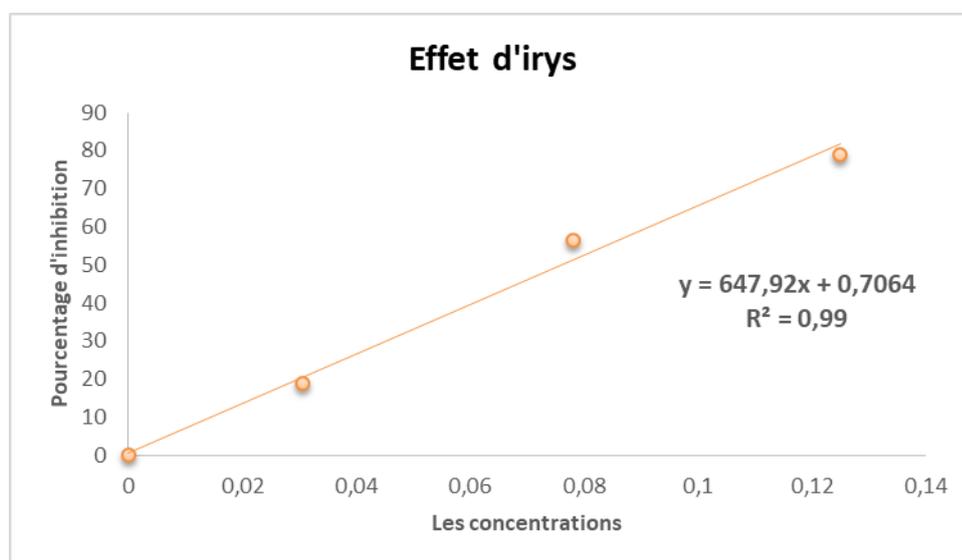


Figure 18 : Effet inhibiteur d'Irys sur l' α -amylase préalablement incubé

○ **Inhibition par Gliclazide**

Sur la base des résultats présentés dans la figure 20, il est clair qu'il existe une augmentation modérée des niveaux d'inhibition correspondant à des concentrations croissantes de gliclazides ; l'inhibition est d'environ 14,9 % pour une concentration de 0,1 mg/ml.

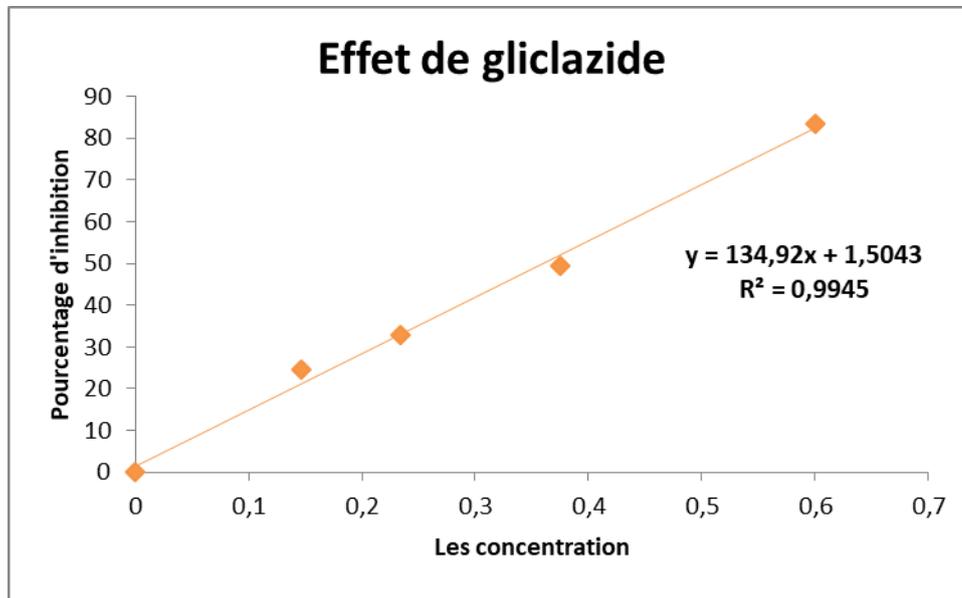


Figure19 : Effet inhibiteur de Gliclazide sur l' α -amylase préalablement incubé

○ **Inhibition par Novoformine**

Selon les résultats présentés dans la figure 21, une lente augmentation des taux d'inhibition peut être observée avec l'augmentation des concentrations de Novoformine. Il a été observé qu'il produisait une inhibition d'environ 13,1 % à une concentration de 2 mg/mL.

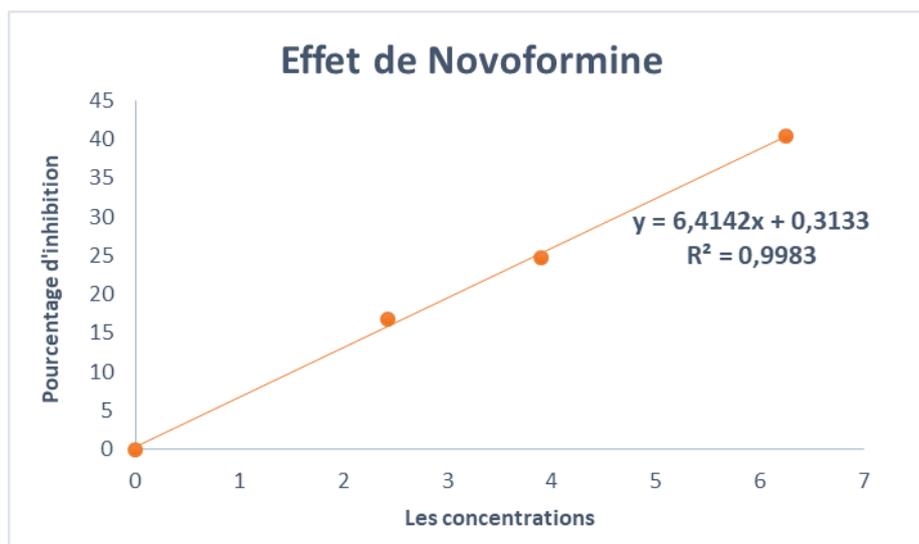


Figure20 : Effet inhibiteur de Novoformine sur l' α -amylase préalablement incubé

Notre étude a examiné l'effet de trois ADO connus par d'autres mécanismes d'actions sur l' α -amylase en utilisant deux méthodes différentes. Dans un premier temps nous avons vérifié l'effet recherché sans donner un temps d'interaction enzyme-inhibiteur où les réactifs sont mélangés au même moment. Cependant, pour la deuxième technique nous visions à évaluer si une préalable interaction (5 min) entre l'enzyme et l'inhibiteur pourrait modifier l'efficacité de la molécule dite inhibitrice. Les tableaux 5 et 6 résument les valeurs d'IC₅₀ obtenus ; en rappelant que plus elle petite plus l'inhibition est importante.

Tableau 5: valeurs d'IC₅₀ des médicaments sur l' α -amylase sans préincubation

Médicament	Larimel (Acarbose)	Irys	Gliclazide	Novoformine
IC ₅₀ (mg/ml)	0,176± 0,0159	0,077±0,0174	0,515±0,004	7,746±1,08

Le tableau 5 montre que l'Irys est plus puissant que Larimel, médicament de référence (Acarbose). Cette différence est statistiquement significative avec $p=0,003$. En comparant Irys avec les autres médicaments (Gliclazide et Novoformine), nous trouvons une variation hautement significative ($p=0,0003$; $p= 0,008$).

Cela laisse conclure que ce médicament de la famille des insulinosécrétagogue est un puissant inhibiteur de l' α -amylase porcine.

Tableau 6: valeurs d'IC₅₀ des médicaments sur l'α-amylase avec incubation préalable

Médicament	Larimel (Acarbose)	Irys	Gliclazide	Novoformine
IC ₅₀ (mg/ml)	0,368±0,0195	0,076±0,002	0,35±0,004	7,74± 0,862

Le tableau 6 englobe les résultats d'inhibition après une préincubation des médicaments avec l'enzyme. En observant ces valeurs, nous pouvons conclure que l'Irys reste toujours le médicament le plus efficace comme inhibiteur. Toutes les différences sont significative à l'exception celle entre l'Acarbose et le Gliclazide.

Dans ce qui suit, nous comparons entre les deux techniques, où il est remarquable que la deuxième méthode améliore significativement l'effet du Gliclazide ($p=0,000002$) et réduit significativement l'efficacité de l'acarbose ($p=0,0002$).

Bien que le mécanisme antidiabétique d'Irys soit différent car il stimule la sécrétion d'insuline, nous pouvons observer une augmentation notable de l'ampleur des taux d'inhibition d'Irys.

Le mécanisme d'action de la novoformine diffère en ce qu'il améliore la réactivité des tissus périphériques à l'insuline. Une amélioration notable de l'efficacité inhibitrice de la novoformine est évidente.

Lorsque nous examinons nos résultats par rapport à ceux d'autres études de recherche, nos résultats sont plus efficaces particulièrement de l'Irys que ceux de **Tedjani et al., (2023)** qui ont étudié l'effet inhibiteur des mucilages d'*Astragalus gyzensis* sur l'activité de l'α-amylase avec une IC₅₀ de $0,8 \pm 0,005$ mg/ml pour, par rapport à l'acarbose avec une IC₅₀ de $0,295 \pm 0,006$ mg/ml.

Aussi, les résultats obtenus restent intéressants comparés aux résultats de **Khan et al., (2023)** dans leur étude, où ils ont identifié une valeur IC₅₀ d'environ 0,85 mg/ml lors de l'évaluation du mucilage brut du d'okra *Abelmoschus esculentus* par rapport à l'acarbose, qui présentait une inhibition complète dans les conditions spécifiques de leur expérience.

De même, les résultats de l'expérience Irys démontrent une valeur de IC₅₀ de 0,077 mg/ml, soit un niveau d'efficacité comparable à celui de l'étude menée par **Shirosaki et al., (2008)**. Leur recherches ont révélé que l'extrait obtenu à partir d'*Actinidia* présentait une activité inhibitrice de l'α-amylase dépendante de la concentration, en particulier dans l'extrait au

méthanol, avec une valeur d'IC₅₀ de 0,0429 mg/ml. Cette valeur montre une efficacité plus importante que celle de l'Irys qui est le médicament le plus puissant dans notre étude.

Examinons un autre aspect en comparant nos résultats avec ceux de molécules pures. Plusieurs auteurs ont étudié l'effet inhibiteur du resvératrol (Composé phénolique) et de ses dérivés de synthèse sur l' α -amylase comme effet antidiabétiques. Les résultats sont très intéressants (**Taslimi et Gulçin, 2017 ; Catinella et al., 2019; Mattio et al., 2019**). Le viniférine est un polyphénol de la famille des stilbènes exerce un effet de la même grandeur que l'acarbose.

Okechukwu et al., (2020) ont étudié l'effet du Glimépiride, Metformine et Acarbose sur l' α -amylase. Les résultats obtenus montrent une efficacité très remarquable du Metformine. Ce dernier est significativement plus puissant que l'acarbose et le Glimépiride qui a un effet important mais faible par rapport à celui de l'acarbose. Ce résultat ne concorde pas avec le nôtre ou le Glimépiride est le plus efficace.

Une étude *in vivo* réalisée sur des diabétiques de type 2 montre que le Gliclazide corrige l'hyperglycémie post-prandiale et stimule la sécrétion d'insuline (**Salman et al., 2000**).

Cependant, la metformine est connu par son effet potentialisateur d'insuline dont les mécanismes restent très diversifiés et en continuelle investigation (**Arbouche, 2022**). De plus, il peut inhiber l'absorption du glucose au niveau du tube digestif (**Ikeda et al., 2000**). Ce mécanisme est à l'échelle de la cellule intestinale où il réduit du coté apical l'expression des transporteurs au glucose (**Zubiaga et al., 2023**). Récemment, **Kelly et al. (2023)** ont montré que la metformine inhibe les protéases chez la souris.

Il reste difficile de confirmer et/ou d'expliquer ces résultats qui montrent un second mécanisme d'action de quelques ADO engendrant un effet qui peut être qualifié comme toxique ou bénéfique. Pour cela, d'autres études sont nécessaires pour la bonne lecture des résultats obtenus

Conclusion générale

Conclusion générale

Certains médicaments comme l'Irys (glimépéride), le diamicon (gliclazide) et la novoformine (metformine) sont reconnus pour leurs propriétés antidiabétiques en raison de leurs mécanismes d'action distincts de l'acarbose, qui agit en inhibant l' α -amylase.

Le but de cette recherche était donc d'évaluer l'efficacité de ces médicaments pour inhiber l'activité de l' α -amylase, dans le but de découvrir un nouveau mécanisme d'action potentiel pour ces médicaments.

Les résultats ont révélé un effet inhibiteur plus puissant des médicaments sans préincubation (IC_{50} pour Irys = 0,077 mg/ml ; IC_{50} pour l'acarbose = 0,176 mg/ml ; IC_{50} pour le gliclazide = 0,515 mg/ml et IC_{50} pour la novoformine = 7,746 mg/ml) par rapport à la technique de préincubation dont les IC_{50} sont : 0,07mg/ml, 0,35 mg/ml, 0,368mg/ml et 7,74 mg/ml pour l'Irys, le gliclazide, l'acarbose et Novoformine, respectivement.

Bien qu'il soit recommandé d'utiliser les médicaments en association avec d'autres traitements, les résultats de cette recherche indiquent que le glimépéride peut être utilisé comme option thérapeutique autonome pour les patients en raison de son double mécanisme d'action. Cependant, il est important de noter que cette étude *in vitro* a révélé une probabilité accrue d'effets secondaires.

En résumé, nos résultats ouvrent des perspectives pour :

- Le développement de nouvelles stratégies de thérapie antidiabétique basées sur l'inhibition de l' α -amylase.
- Des expériences sur des animaux suivies par d'autres essais cliniques sont nécessaires pour évaluer l'efficacité et la sécurité de ces médicaments antidiabétique oraux lorsqu'ils sont pris seuls ou en association par des diabétiques.
- Analyser les stratégies pour gérer les hypoglycémies, comme l'adaptation des doses des médicaments et la surveillance des patients.
- La réalisation d'étude *in silico* afin de se rapprocher du mécanisme par lequel agit le médicament sur l' α -amylase et l' α -glucosidase.

Références bibliographique

- **AFERO. (2018).** Congrès AFERO 2019 (35e journées scientifiques): Jeudi 31 janvier et vendredi 1er février 2019, Marseille. *Obésité*, 13(4), 233-251.
- **Alam, F., Shafique, Z., Amjad, S. T., & Bin Asad, M. H. H. (2019).** Enzymes inhibitors from natural sources with antidiabetic activity: A review. *Phytotherapy Research*, 33(1), 41-54.
- **American Diabetes Association. (2011).** Standards of medical care in diabetes—2011. *Diabetes care*, 34(Supplement_1), S11-S61.
- **Arbouche, N. (2022).** *Aspects analytiques, cliniques et médico-judiciaires liés à l'identification de molécules à pouvoir hypoglycémiant dans les intoxications par antidiabétiques* (Doctoral dissertation, Université de Strasbourg).
- **Baud, G., Caiazzo, R., Verkindt, H., Nessler, P., Torres, F., Raverdy, V., & Pattou, F. (2018).** Influence des interactions entre l'absorption intestinale du sodium et du glucose sur le métabolisme glucidique. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 53(2), 106-113.
- **Beltrand, J., Polak, M. (2016).** Traitement du diabète de type 1 de l'enfant et de l'adolescent. *EMC - Traité de Médecine Akos*, 19(2), 1-9.
- **Benberkane, I., & Sahnoune, Z. (2013).** Contrôle glycémique des patients diabétiques de type 2 sous traitement de metformine. Mémoire de Master. Université Abderrahmane Mira – Bejaia.
- **Bhat, M., Zinjarde, S. S., Bhargava, S. Y., Kumar, A. R., & Joshi, B. N. (2011).** Antidiabetic Indian plants: a good source of potent amylase inhibitors. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011.
- **Bischoff, H. (1991).** Effect of Acarbose on Diabetic Late Complications and Risk Factors – New Animal Experimental Results. *Akt Endokr Stoffw* 12, 25-32.
- **Bohra, A. T. R. O. U. Z., & BAOUTA, T. O. (2023).** Identification de nouveaux inhibiteurs de l' α glucosidase en tant qu'une stratégie thérapeutique pour traiter le diabète de type 2 (Doctoral dissertation, university center of abdalhafid boussouf-MILA).
- **Catinella, G., Mattio, L., Marengo, M., Eberini, I., Parravicini, C., Dallavalle, S., ... & Pinto, A. (2019).** Synthesis and alpha-amylase inhibition of some resveratrol derivatives. In *IUBMB Advanced School in Protein Structure Solution, Prediction and Validation Abstract Book* (pp. 6-6). DeFENS. Chemical constituents of Pu-erh Tea and its inhibition effect on α -amylase.
- **Ćorković, I., Gašo-Sokač, D., Pichler, A., Šimunović, J., & Kopjar, M. (2022).** Dietary polyphenols as natural inhibitors of α -amylase and α -glucosidase. *Life*, 12(11), 1692.

Références bibliographiques

- **Coulibaly, Tiecoro. (2023).** Evaluation de l'utilisation des antidiabétiques oraux dans le centre de lutte contre le diabète de mars 2021 à février 2022(Thèse de doctorat inédite).Université de Mali
- **Davet P. (1996).** Vie microbienne du sol et production végétale. INRA. Paris. P. 52-57.
- **Foretz, M., & Viollet, B. (2014).** Les nouvelles promesses de la metformine. *Med Sci (Paris)*, 30, 82-92.
- **Gandhi, G. R., Vasconcelos, A. B. S., Wu, D.-T., Li, H.-B., Antony, P. J., Li, H., ... Gan, R.-Y. (2020).** Citrus flavonoids as promising phytochemicals targeting diabetes and related complications: A systematic review of in vitro and in vivo studies.
- **Gariani, K., & Hagon-Traub, I. (2009).** Diabète de type ou autre? *Rev Med Suisse*, 5, 1248-53.
- **Goldenberg, R., & Punthakee, Z. (2013).** Définition, classification et diagnostic du diabète, du prédiabète et du syndrome métabolique. *Canadian Journal of Diabetes*, 37,
- **Halimi, S. (2021).** Les sulfamides hypoglycémians gardent toujours une place dans le traitement du diabète de type 2 en 2021. Les points forts du dossier des sulfamides hypoglycémians. *Médecine des Maladies Métaboliques*, 15(1), 53-61.
- **Harper, W., Clement, M., Goldenberg, R., Hanna, A., Main, A., Retnakaran, R., ... & Yale, J. F. (2013).** Pharmacothérapie du diabète de type 2. *Canadian Journal of Diabetes*, 37, S428-S436.
- **Hashim, A., Khan, M. S., Khan, M. S., Baig, M. H., & Ahmad, S. (2013).** Antioxidant and α -amylase inhibitory property of *Phyllanthus virgatus* L.: an in vitro and molecular interaction study. *BioMed Research International*, 2013(1), 729393.
- **Holaly, G. E., Efui Holaly, G., Kodjovi, A., Simplicie Damintoti, K., Kokou, A., Yao, A., Gérard, T., Blaise, A., Jacques, S., & Messanvi, G. (2017).** Composés bioactifs isolés des plantes à propriété anti-diabétique: Revue de littérature [Isolated bioactive plant compounds with anti-diabetic property: Review]. *Int. J. Innov. Appl. Stud*, 19, 839-849.
- **IDF Diabetes Atlas Edition 2017**
- **Ikeda, T., Iwata, K., & Murakami, H. (2000).** Inhibitory effect of metformin on intestinal glucose absorption in the perfused rat intestine. *Biochemical pharmacology*, 59(7), 887-890.
- **Jhong, C. H., Riyaphan, J., Lin, S. H., Chia, Y. C., & Weng, C. F. (2015).** Screening α -glucosidase and α -amylase inhibitors from natural compounds by molecular docking in silico. *Biofactors*, 41(4), 242-251.

- **Kaur R, Kaur N, Gupta AK. (2014)** Structural features, substrate specificity, kinetic properties of insect α -amylase and specificity of plant α -amylase inhibitors. *Pest Biochem Phys* 116:83–93
- **Keating L., Kelly C., Forgartry W. (1998).** Mechanism of action and the substrate dependent pH maximum shift of the α -amylase of *Bacillus coagulans*. *Carbohydrate Research* .vol. (53) :309-318.p
- **Kelly, C. J., Verdegaal, A. A., Anderson, B. W., Shaw, W. L., Bencivenga-Barry, N. A., Folta-Stogniew, E., & Goodman, A. L. (2023).** Metformin inhibits digestive proteases and impairs protein digestion in mice. *Journal of Biological Chemistry*, 299(12).
- **Khacheba I.** Effets des extraits de quelques plantes médicinales locales sur l' α – amylase. Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme d'Ingénieur d'Etat en Biologie. Université Amar Telidji – Laghouat. 2008.
- **KHADRAOUI, K. (2021).** Etude des propriétés structurales et électronique des molécules médicamenteuses
- **Khan, S., Gul, H., Ahmed, A., & Shireen, F.** Anti-diabetic potential of water-soluble polysaccharide from okra pods mucilage diabetes.
- **Kim, J. S., Kwon, C. S., & Son, K. H. (2000).** Inhibition of α -glucosidase and amylase by luteolin, a flavonoid. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 64(11), 2458-2461.
- **Kobayashi, K., Baba, E., Fushiya, S., Takano, F., Batkhuu, J., Dash, T., ... & Yoshizaki, F. (2003).** Screening of Mongolian plants for influence on amylase activity in mouse plasma and gastrointestinal tube. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 26(7), 1045-1048.
- **Lalau, J. D., Arnouts, P., Sharif, A., & De Broe, M. E. (2015).** Metformin and other antidiabetic agents in renal failure patients. *Kidney international*, 87(2), 308-322.
- **Lee CY, deMan JM .(2018).** *Enzymes Principles of food chemistry* .Springer, New york, pp 397–433
- **Li, X., Bai, Y., Jin, Z., & Svensson, B. (2022).** Food-derived non-phenolic α -amylase and α -glucosidase inhibitors for controlling starch digestion rate and guiding diabetes-friendly recipes. *Lwt*, 153, 112455.
- **Mattio, L.M.; Marengo, M.; Parravicini, C.; Eberini, I.; Dallavalle, S.; Bonomi, F.; Iametti, S.; Pinto, A.** Inhibition of Pancreatic α -amylase by Resveratrol Derivatives: Biological Activity and Molecular Modelling Evidence for Cooperativity between Viniferin Enantiomers. *Molecules* **2019**, *24*, 3225.

- **Mehenni, O., Smail, N., & Djoudi, F. Z. (2022).** Le diabète sucré dans la commune de Bab El Oued: prévalence et facteurs de risque.
- **Monnier. (2018).** Le diabète sucré : généralités et un peu d'histoire. Manuel de nutrition pour le patient diabétique (p. 3-9). Elsevier Masson SAS.
- **Moumou, F., & Braik, N. (2018).** Mise au point et validation d'une méthode de dosage simultané de deux antidiabétiques oraux: Metformine et Sitagliptine par HPLC. Application du protocole SFSTP 2006 (Doctoral dissertation, UMMTO).
- **Nair, S. S., Kavrekar, V., & Mishra, A. (2013).** In vitro studies on α amylase and α glucosidase inhibitory activities of selected plant extracts. *European journal of experimental biology*, 3(1), 128-132.
- **Navjot, K., Vanktesh, K., Surendra, K., Pankaj, W., Paranjit, K., & Sanjeev, K. S. (2021).** α -amylase as molecular target for treatment of diabetes mellitus: A comprehensive review. *Chemical Biology & Drug Design*, 98, 539 – 560.
- **Nielson J-E., Borchert T-V et Vriend G. (2001).** The determinant of α -amylase pH-activity profiles. *Protein Engineering*. Oxford University Press. 14(7), p: 505-512.
- **Okechukwu, P., Sharma, M., Tan, W. H., Chan, H. K., Chirara, K., Gaurav, A., & Al-Nema, M. (2020).** In-vitro anti-diabetic activity and in-silico studies of binding energies of palmatine with α -amylase, α -glucosidase and DPP-IV enzymes. *Pharmacia*, 67(4), 363-371.
- **Okechukwu, P., Sharma, M., Tan, W. H., Chan, H. K., Chirara, K., Gaurav, A., & Al-Nema, M. (2020).** In-vitro anti-diabetic activity and in-silico studies of binding energies of palmatine with alpha-amylase, alpha-glucosidase and DPP-IV enzymes. *Pharmacia*, 67(4), 363-371.
- **Orban, J. C., & Ichai, C. (2011).** Complications métaboliques aiguës du diabète. In *Désordres métaboliques et réanimation* (pp. 347-360). Springer, Paris.
- **Payan F (2004)** Structural basis for the inhibition of mammalian and insect α -amylases by plant protein inhibitors. *Biochim Biophys Acta Proteins Proteom* 1696(2):171–180.
- **Ponnusamy, S., Ravindran, R., Zinjarde, S., Bhargava, S., & Kumar, A. R. (2011).** Evaluation of traditional Indian antidiabetic medicinal plants for human pancreatic amylase inhibitory effect in vitro. *Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM*, 2011.
- **Ponnusamy, S., Ravindran, R., Zinjarde, S., Bhargava, S., & Ravi Kumar, A. (2010).** Evaluation of traditional Indian antidiabetic medicinal plants for human pancreatic

amylase inhibitory effect in vitro. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2011.

- **Rosak, C., & Mertes, G. (2012).** Critical evaluation of the role of acarbose in the treatment of diabetes: patient considerations. *Diabetes, metabolic syndrome and obesity: targets and therapy*, 357-367.
- **Rosin O (2008)** The economic causes of obesity: a survey. *J Econ Surv* 22(4):617–647 S369-S372.
- Salman, S., Salman, F., Satman, I., Sengül, A., Demirel, H. Ö., Karsıdag, K., Yılmaz, T. (2000). Comparison of Acarbose and Gliclazide as First-line Agents in Patients with Type 2 Diabetes. *Current Medical Research and Opinion*, 16(4), 296–306.
- **Shamki AW, Ali A, Abdulaziz RS (2012)** Purification and characterization of amylase inhibitor extracted from white kidney bean (*Phaseolus vulgaris*). *J Cell Plant Sci* 3(1):17–21
- **Shirosaki, M., Koyama, T., & Yazawa, K. (2008).** Anti-hyperglycemic activity of kiwifruit leaf (*Actinidia deliciosa*) in mice. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 72(4), 1099-1102.
- Southwest China J. Agric. Sci. 22, 52–54 (2009).
- **Sundarram A, Pandurangappa T, Murthy K (2014)** α -Amylase production and applications: a review. *J Appl Environ Microbiol* 2:166–175
- **Taslimi, P., & Gulçin, İ. (2017).** Antidiabetic potential: In vitro inhibition effects of some natural phenolic compounds on α -glycosidase and α -amylase enzymes. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 31(10), e21956.
- **Tedjani, A., Boual, Z., El Hadj, M. D. O., Lanez, T., Belkhalifa, H., El Alaoui- Talibi, Z., El Modafar, C., Abdelkafi, S., Fendri, I., & Le Cerf, D. (2023).** Antidiabetic potential of mucilage fraction extracted from *Astragalus gyzensis* seeds. *European Journal of Biological Research*, 13(1), 18-30.
- **ULC, M. P. (2019).** Monographie de produit.
- **Viollet, B., Foretz, M., & Andreelli, F. (2012).** Metformine: le point sur les mécanismes d'action. *Correspondances en Métabolismes, Hormones, Diabète et Nutrition*, 16(3), 67-72.
- **Vionnet, A. C., & Jornayvaz, F. R. (2015).** Classification du diabète: vers une hétérogénéité croissante. *Rev Med Suisse*, 11, 1234-7.
- **Yardley, J.E., & Colberg, S.R. (2017).** Update on management of type 1 diabetes and type 2 diabetes in athletes. *Current Sports Medicine Reports*. 16: 38– 44.

Références bibliographiques

- **Youcef, B. (2024).** *Etude de l'influence de quelque facteur sur l'apparition du diabète type 1 chez les enfants* (Doctoral dissertation, University of Tlemcen).
- **Zhang, D. Y., Shao, W. F., Liu, Z. H., Huang, Y. W. & Shi, Z. P.** Research on the
- **Zubiaga, L., Briand, O., Auger, F., Touche, V., Hubert, T., Thevenet, J., ... & Pattou, F. (2023).** Oral metformin transiently lowers post-prandial glucose response by reducing the apical expression of sodium-glucose co-transporter 1 in enterocytes. *Iscience*, 26(4).