



REPUBLIQUE DE CÔTE D'IVOIRE
Union-Discipline-Travail

Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique



Laboratoire de Biotechnologies,
Agriculture et Valorisation
des Ressources Biologiques

Année Universitaire
2022-2023

Numéro d'ordre
1882/2023

MÉMOIRE

Présenté pour l'obtention du Diplôme de Master de
Biotechnologie - Biosécurité - Bioressources de
l'Université Félix HOUPHOUET-BOIGNY

Spécialité : Biotechnologie Agroalimentaire

M. DIOMANDÉ SIDIKI

**PROSPECTION ET SÉLECTION DE SOURCES
BIOLOGIQUES DE L'AGRORESSOURCES DE CÔTE
D'IVOIRE RICHES EN BIOPEPTIDES INHIBITEURS DE
DEUX ENZYMES CLES DU MÉTABOLISME DU
DIABÈTE DE TYPE 2 : α -AMYLASE ET α -GLUCOSIDASE**

Composition du jury

| | | | |
|-------------------------------|-----------------------|------|-------------|
| M. ABO Kouakou Jean-Claude | Professeur Titulaire | UFHB | Président |
| M. BÉDIKOU Ehuié Micaël | Maître de Conférences | UFHB | Superviseur |
| M. KOUADIO Natia Joseph | Chargé de Recherche | UFHB | Directeur |
| M. KOFFI Toungbo Djary Michel | Maître de Conférences | UFHB | Examinateur |

Soutenu publiquement
Le 29/09/2023



DÉDICACES

Ce mémoire est dédié à :

- feu mon père, **DIOMANDE Moussa**, feu maman **CISSE Massandjé (Yayé)** et à ma mère chérie, **DIOMANDE Makemin**, pour leur amour inconditionnel, leurs prières, leurs encouragements et surtout leur joie de vivre à nos côtés.
- mes oncles maternelles et paternelles ; mes frères et sœurs aînés et cadets ainsi qu'à tous les membres de la grande famille **DIOMANDE** pour leur soutien, leur détermination et leur sens de partage. Grâce à vos prières et générosités, j'ai pu regagner le chemin de l'école. Merci pour votre confiance.
- la famille **DIARRASSOUBA**, particulièrement ma grande sœur **CAMARA Makoulako épouse DIARRASSOUBA**, pour son accueil et son soutien sans faille pendant mes années universitaires.
- la grande famille AEEMCI (Association des Élèves et Étudiants Musulmans de Côte d'Ivoire), pour son apport constructif et instructif dans ma vie.

AVANT-PROPOS

Ce travail de recherche a été réalisé à l'Unité de Pédagogie et de Recherche (UPR) en Biotechnologies du Laboratoire de Biotechnologie, Agriculture et Valorisation des Ressources Biologiques dirigé par monsieur **N'GUETTA Assanvo Pierre**, Professeur Titulaire de Génétique. Ce laboratoire est l'un des quatre que compte l'Unité de Formation et de Recherche (UFR) en Biosciences de l'Université Félix Houphouët-Boigny. L'UFR Biosciences est actuellement dirigée par le Docteur **CHERIF Mamadou**, Maître de Conférences.

Le Laboratoire de Biotechnologie, Agriculture et Valorisation des Ressources Biologiques mène des activités de recherche dans plusieurs domaines de sciences biologiques notamment en Agroalimentaire, en Nutrition, en Botanique et en Physiologie. La présente étude qui vise la recherche de molécules bioactives d'intérêt thérapeutiques dans la régulation des maladies métaboliques a été conduite sous la supervision scientifique du Docteur **BEDIKOU Ehuié Micaël**, Maître de Conférences en Biochimie-Enzymologie, et sous la direction scientifique de Docteur **KOUADIO Natia Joseph**, Chargé de Recherche. Le thème abordé est libellé comme suit :

Prospection et sélection de sources biologiques de l'agroressources de Côte d'Ivoire riches en biopeptides inhibiteurs de deux enzymes clés du métabolisme du diabète de type 2 : α -amylase et α -glucosidase.

Au-delà de son caractère diplômant, l'objectif de ces travaux de recherches est de faire acquérir à l'étudiants un ensemble de capacités intellectuelles et techniques lui permettant de cerner une problématique scientifique donnée et de reproduire de façon autonome, à travers un stage, des méthodes d'analyse de laboratoire.

Le présent mémoire qui devra être soutenu devant un jury en vue de l'obtention du diplôme de Master de Biotechnologie, Biosécurité et Bioressources, dans la spécialité Biotechnologie Agroalimentaire, est issu d'une revue de littérature sur la thématique abordée et des résultats obtenus au cours des manipulations au laboratoire.

REMERCIEMENTS

Le présent travail est le produit des efforts conjugués et de la mise en œuvre de compétences et d'expériences de plusieurs personnes que je tiens à remercier vivement.

Je remercie tout d'abord **M. BALLO Zié**, Professeur Titulaire, Président de l'Université Félix Houphouët-Boigny. Merci Monsieur le Président, pour le travail formidable que vous faites à la tête de notre institution.

Je remercie **M. CHERIF Mamadou**, Maître de Conférences, Directeur de l'UFR Biosciences pour m'avoir accepté dans son Unité de Formation et de Recherche.

Je remercie également **M. N'GUETTA Assanvo Simon-pierre**, Professeur Titulaire, Directeur du Laboratoire de Biotechnologies Agriculture et Valorisation des Ressources Biologiques.

Je remercie **M. KRA Kouassi Aboutou Séverin**, Professeur Titulaire, Responsable de l'UPR de Biotechnologies.

Mes remerciements vont également à l'endroit de **M. AHONZO-NIAMKE Lamine Sébastien**, Professeur Titulaire, Directeur de l'école Doctorale Biologie-Environnement-Santé pour ses conseils avisés et sa rigueur dans le travail.

Mes remerciements vont à l'endroit des membres du jury, notamment **M. ABO Kouakou Jean-Claude**, Professeur Titulaire à l'Université Félix Houphouët-Boigny, par ailleurs Président de ce jury. Merci Professeur pour votre disponibilité et vos contributions pour l'amélioration de ce travail.

J'associe à ces remerciements mon superviseur scientifique, **M. BEDIKOU Ehuie Micaël**, Maître de Conférences à l'UFR Biosciences qui a proposé ce thème d'étude et qui a suivi assidument sa réalisation en ne ménageant aucun effort pour me recevoir en toutes circonstances.

Je remercie **M. KOFFI Toungbo Djary Michel**, Maître de Conférences à l'UFR Biosciences de l'Université Félix Houphouët-Boigny pour avoir accepté d'examiner ce travail. Merci pour votre contribution pour l'amélioration de ce travail.

J'adresse mes sincères remerciements et toute ma reconnaissance au Docteur **KOUADIO Natia Joseph**, Chargé de Recherche à l'UFR Biosciences et Directeur scientifique du présent mémoire. Merci Docteur de m'avoir fait confiance et encouragé. Vous avez été disponible durant ces mois de stage. Je vous remercie également pour le partage de votre expérience et vos connaissances scientifiques.

Je remercie Madame **EHON Charlotte épouse DAKOURI**, Maître-Assistante et Monsieur **SAMAGASSI Lamine**, Chargé de Recherche, tous deux à l'UPR de biotechnologies l'Université Félix Houphouët-Boigny pour leurs conseils.

Mes remerciements vont à l'endroit de tous les Enseignants-Chercheurs et Chercheurs de l'UPR de Biotechnologies ainsi qu'à Monsieur **DOUA André**, Technicien de ladite UPR.

Je suis redevable au Doctorant **DJOMAN Ahouman Elisée Silas** pour ses conseils, ses encouragements, sa disponibilité et surtout sa générosité pour le bon déroulement de mes travaux de recherche. Merci cher aîné de m'avoir aidé et soutenu.

Je voudrais exprimer ma profonde gratitude aux doctorants **Ahoussi Jean-Marie, AINYAKOU Aïza Monique épouse SANGA, ETTIEN Koffi Jean-Jaurès Yannick, KADET Obou Victoria, KIPPRE Christ Romuald, Kossonou Sylver, N'dri Eric Donald et Yao jean Noel**, pour leurs aides et soutiens techniques apportés à la paillasse tout au long de ce travail.

Egalement un grand merci à **NOUHOU Boubacar, KOFFI Reine Esther, Kamara Yacouba** et à tous les étudiants de Master II de Biotechnologie Agroalimentaire de la promotion **2022-2023**. Gardons toujours notre sens de solidarité.

Je remercie mes frères, mes sœurs pour leur amour et leur confiance accordés durant toutes ces années et les membres de l'AEEMCI sous-comité Félix Houphouët-Boigny, particulièrement l'AEEMCI section CAMPUS pour l'entraide, la solidarité fraternelle et le partage collectif.

A tous mes amis, à toutes mes connaissances et à tous ceux qui m'ont aidé à réussir dans ce travail,
Je vous dis MERCI !!!

TABLE DES MATIÈRES

| | |
|--|-------------|
| DÉDICACES..... | I |
| AVANT-PROPOS DÉDICACES..... | I |
| AVANT-PROPOS | III |
| REMERCIEMENTS AVANT-PROPOS | III |
| REMERCIEMENTS | V |
| TABLE DES MATIÈRES REMERCIEMENTS | V |
| TABLE DES MATIÈRES | VIII |
| LISTE DES ABRÉVIATIONS TABLE DES MATIÈRES | VIII |
| LISTE DES ABRÉVIATIONS | XII |
| LISTE DES FIGURES LISTE DES ABRÉVIATIONS..... | XII |
| LISTE DES FIGURES..... | XIV |
| LISTE DES TABLEAUX LISTE DES FIGURES | XIV |
| LISTE DES TABLEAUX | XVI |
| INTRODUCTION | 1 |
| I- REVUE BIBLIOGRAPHIQUE | 4 |
| I.1- GÉNÉRALITÉS SUR LE DIABÈTE | 5 |
| I.1.1- Historique | 5 |
| I.1.2- Définition | 5 |
| I.1.3- Epidémiologie et physiopathologie du diabète | 6 |
| I.1.4- Classification | 6 |
| I.1.4.1- Diabète de type 1 | 6 |
| I.1.4.2- Diabète de type 2 | 6 |
| I.1.4.3- Diabète gestationnel..... | 7 |
| I.1.4.4- Autres types spécifiques du diabète | 7 |
| I.1.5- Particularité du diabète de type 2 | 7 |
| I.1.5.1- Causes et facteurs de risques | 8 |
| I.1.5.2- Symptômes | 8 |
| I.1.5.3- Complication | 9 |
| I.2- GÉNÉRALITÉS SUR LES BIOPEPTIDES | 9 |
| I.2.1- Définition | 9 |
| I.2.2- Effet biologique des biopeptides | 9 |
| I.2.3- Production des biopeptides | 10 |
| I.2.3.1- Hydrolyse enzymatique | 10 |
| I.2.3.2- Fermentation microbienne..... | 11 |
| I.3- GÉNÉRALITÉS SUR L'AGRORESSOURCES..... | 11 |
| I.3.1- Définition | 11 |
| I.3.2- Quelques agroressources riches en protéine | 11 |

| | |
|--|-----------|
| I.3.2.1- Feuilles de marguerites..... | 11 |
| I.3.2.2- Feuille de pourpier..... | 12 |
| I.3.2.3- Courge..... | 12 |
| I.3.2.4- Papaye..... | 14 |
| I.3.2.5- Pastèque..... | 14 |
| I.3.2.6- Chenille de karité..... | 14 |
| I.4- GÉNÉRALITÉ SUR LES ENZYMES α-AMYALSE ET α-GLUCOSIDASE | 14 |
| I.4.1- α -amylase..... | 14 |
| I.4.2- α -glucosidase | 15 |
| II- MATÉRIEL ET MÉTHODES..... | 16 |
| II.1- Matériel | 17 |
| II.1.1- Matériel biologique | 17 |
| II.1.2. Réactifs et produits chimiques | 17 |
| II.1.3. Matériel technique..... | 17 |
| II.2- Méthodes | 19 |
| II.2.1- Traitement des ressources biologiques..... | 19 |
| II.2.1.1- Processus d'extraction des graines | 19 |
| II.2.1.2- Processus du traitement des feuilles | 19 |
| II.2.1.3- Processus du traitement de la Chenille de karité | 19 |
| II.2.1.4- Extraction du suc digestif de l'escargot..... | 19 |
| II.2.2- Extraction des protéines brutes | 20 |
| II.2.3- Précipitation des protéines par le sulfate d'ammonium | 20 |
| II.2.4- Hydrolyse thermique des extraits protéiques | 20 |
| II.2.5- Détermination de la teneur en protéines de différents extraits protéiques | 21 |
| II.2.5.1- Préparation du réactif de Bradford..... | 21 |
| II.2.5.2- Détermination de la teneur en protéines de différents extraits protéiques | 21 |
| II.2.6- Préparation du tampon acétate de sodium et autres réactifs | 21 |
| II.2.6.1- Préparation du tampon acétate de sodium | 21 |
| II.2.6.2- Préparation de l'empois d'amidon de manioc | 22 |
| II.2.6.3- Préparation du saccharose | 22 |
| II.2.6.4- Préparation du réactif DNS..... | 22 |
| II.2.6.5- Préparation de l' α -amylase | 22 |
| II.2.7- Fractionnement des différents extraits protéiques..... | 22 |
| II.2.7.1- Préparation du gel de migration sephadex G-200 et du dispositif chromatographique | 23 |
| II.2.7.2- Processus de fractionnement des différents extraits protéiques | 23 |
| II.2.8- Détermination de l'activité α -amylasique et α -glucosidasique en absence et en présence des différents extraits peptidiques | 23 |

| | |
|---|----|
| II.2.9- Traitement statistique..... | 24 |
| III- RÉSULTATS ET DISCUSSION..... | 25 |
| III.1- Résultats | 26 |
| III.1.1- Teneur et rendement en protéines des différents échantillons | 26 |
| III.1.2- Teneur en protéines des différentes fractions collectées | 28 |
| III.1.3- Activité enzymatique résiduelle de l'α-amylase et de l'α-glucosidase en absence et en présence des différentes fractions d'inhibiteurs issus des extraits peptidiques | 28 |
| III.1.4- Tests d'inhibition des différents extraits | 32 |
| III.2- Discussion | 35 |
| CONCLUSION ET PERSPECTIVES..... | 38 |
| RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES | 40 |
| ANNEXES | 47 |
| Annexe 1 : Etalon de glucose (1 g/L)..... | i |
| Annexe 2 : Etalon du sérum albumine bovine (1 mg/mL) | i |
| Annexe 3 : Centrifugeât (culots et surnageant) d'extrait protéiques précipités..... | i |
| RÉSUMÉ | |

LISTE DES ABRÉVIATIONS

| | |
|----------|--|
| Abs | : Absence ; |
| ADA | : American Diabetes Association ; |
| AER | : Activité Enzymatique Résiduelle ; |
| Anti-GAD | : Anticorps acide glutamique décarboxylase ; |
| Da | : Dalton ; |
| D.O | : Densité optique ; |
| DT2 | : Diabète de type 2 ; |
| Ecg | : Echantillon de courge ; |
| Eck | : Echantillon de chenille de karité ; |
| Ema | : Echantillon de marguerite ; |
| Epp | : Echantillon de pourpier ; |
| Ept | : Echantillon de pastèque ; |
| Epy | : Echantillon de papaye ; |
| FID | : Fédération International du Diabète ; |
| I | : Inhibiteur ; |
| IMC | : Indice de Masse Corporelle ; |
| kDa | : Kilodaltonne ; |
| OMS | : Organisation mondiale de la santé ; |
| SAB | : Sérum albumine bovine ; |
| T | : Tubes ; |
| trs | : Tours ; |
| T2DM | : Antécédents familiaux de diabète de type 2 ; |
| UFHB | : Université Félix Houphouët-Boigny ; |
| UFR | : Unité de Formation et de Recherche ; |
| UPR | : Unité Pédagogique et de Recherche. |

LISTE DES FIGURES

| | |
|--|----|
| Figure 1 : Photographie de quelques agroressources riches en protéines | 13 |
| Figure 2 : Sources enzymatiques | 18 |
| Figure 3 : Activité enzymatique de l' α -amylase et l' α -glucosidase en absence et en présence des différentes fractions peptidiques Ecg, Eck et Ema. | 30 |
| Figure 4 : Activité enzymatique de l' α -amylase et l' α -glucosidase en absence et en présence des différentes fractions peptidiques Epp, Ept et Epy | 31 |

LISTE DES TABLEAUX

| | |
|---|----|
| Tableau I : Composition chimique de quelques agroressources | 13 |
| Tableau II : Teneurs en protéines des échantillons pendant différentes phases de leur traitement..... | 27 |
| Tableau III : Rendement en protéines des différents échantillons précipités et hydrolysés | 27 |
| Tableau IV : Teneur en protéines des fractions collectées à l'issue de la chromatographie d'exclusion moléculaire | 29 |
| Tableau V : Taux d'inhibition de l' α -amylase et de l' α -glucosidase pour 25 μ L et 50 μ L de l'acarbose ou de fraction collectée à l'issue de la chromatographie d'exclusion moléculaire des différents extraits peptidiques..... | 33 |

INTRODUCTION

Le diabète est l'une des maladies les plus connues de l'humanité dont l'effet dévastateur augmente de jour en jour et atteint un niveau épidémique (**Farnsworth, 1986**). C'est une maladie chronique qui se déclare lorsque le pancréas ne produit pas suffisamment d'insuline, l'hormone qui régule la concentration de sucre dans le sang (glycémie), ou lorsque l'organisme n'est pas capable d'utiliser correctement l'insuline qu'il produit (**OMS, 2016**). Selon la classification du diabète fondée depuis 1997 par l'ADA (American Diabetes Association), il existe quatre types de diabètes : le diabète de type 1, le diabète de type 2, le diabète gestationnel et d'autres types spécifiques appelés "diabètes secondaires" (**Jouli, 2001; Guillausseau et al. 2003**). De ces différents types, le diabète de type 2 est le plus prépondérant avec une proportion de plus 85 % des cas. C'est la forme la plus courante de diabète. Il se caractérise principalement par des troubles de sécrétion et du mécanisme d'action de l'insuline (**Alberti et al., 1998**). Selon les estimations de la Fédération Internationale du Diabète, le diabète toucherait 15,9 millions de personnes en Afrique subsaharienne et aurait causé 312.000 décès en 2017 (**Stéphany, 2018**). La plupart des diabétiques, en Côte d'Ivoire comme dans les pays du Nord, souffrent d'un diabète de type 2 (**Stéphany, 2018**). Sa progression revêt actuellement une allure pandémique. Ainsi, selon les dernières estimations de la **Fédération Internationale du diabète (2019)**, 463 millions de personnes dans le monde souffrent de diabète, et cela pourrait atteindre 578 millions d'ici 2030.

Le diabète fait peser une lourde charge économique sur le système de soins de santé mondial et sur l'économie mondiale en général (**OMS, 2016**). Le coût annuel direct lié à la gestion du diabète est estimé à plus de 827 milliards de dollar US (**Seuring et al., 2015 ; NCD Risk Factor Collaboration, 2016**). L'un des éléments qui contribuent à cette augmentation est la hausse des dépenses liées aux spécialités pharmaceutiques utilisées pour traiter les diabétiques, notamment les nouveaux traitements oraux contre le diabète de type 2 et les analogues de l'insuline (**OMS, 2016**). L'une des approches thérapeutiques pour contrôler l'hyperglycémie postprandiale dans le DT2 consiste à inhiber la digestion des glucides alimentaires. L' α -amylase pancréatique (EC 3.2.1.1) est une enzyme clé qui décompose les glucides alimentaires tels que l'amidon en monosaccharides simples dans le système digestif. Ceux-ci sont ensuite dégradés par les α -glucosidases en glucose qui, une fois absorbé, pénètre dans la circulation sanguine. Par conséquent, l'inhibition des enzymes α -amylase et α glucosidase peut supprimer la digestion des glucides, retarder l'absorption du glucose et, par conséquent, réduire le taux de sucre dans le sang. (**Kajaria et al., 2013**). Dans le traitement du diabète de type 2 au moyen de médicament, plusieurs molécules chimiques de synthèse tels que l'acarbose, le biguanide, le sulfamide hypoglycémiant, le thiazolidinediones,... sont utilisées. Bien qu'elles soient utiles pour réguler le diabète, elles présentent des effets néfastes sur la santé à savoir : des maladies cardio-vasculaires, des insuffisances rénales, des troubles neurologiques, des maladies cardiaques qui sont toutes, dans le pire des cas, mortelles (**Spiller et Sawyer, 2006 ; Lee et al., 2017**;

Buysschaert, 2018)). Aussi, selon **Eric et al. (2017)**, les antidiabétiques synthétiques actuels peuvent entraîner des risques d'hypoglycémie, des prises de poids, et des effets secondaires gastro-intestinaux, tandis que certains patients peuvent même ne pas les tolérer.

Pour pallier ce problème, la recherche de nouvelles molécules biologiquement actives qui auraient peu ou pas d'effets secondaires sur la santé serait une bonne alternative. Ainsi, depuis plusieurs années, des di et tripeptides naturels sont utilisés comme agents thérapeutiques. En effet, ceux-ci ont l'avantage d'être facilement assimilables du fait de leurs faibles poids moléculaires (**Decaffmeyer et al., 2008**). De plus, ils présentent un risque réduit de toxicité car leur dégradation produit des acides aminés qui sont des molécules bénéfiques pour l'organisme et sont reconnues pour avoir une activité biologique capable de prévenir le diabète (**Loffet, 2002 ; Fournier, 2012**).

De tout ce qui précède, les questions suivantes attirent notre curiosité. L'agroressources ivoiriennes regorgent-elles de sources biologiques riches en protéines ? Ces sources protéiques renferment-elles de biopeptides d'intérêts thérapeutiques ? Ces biopeptides sont-ils capables de réguler les enzymes clés impliquées dans le métabolisme du diabète ?

C'est pour répondre aux différentes interrogations que la présente étude a été initiée. Elle a pour objectif général de répertorier dans l'agroressource de Côte d'Ivoire, des ressources riches en protéines, susceptibles de contenir des biopeptides d'intérêt thérapeutique, en vue de leur utilisation future pour la régulation du diabète de type 2. Il s'agira spécifiquement dans cette étude de :

- sélectionner dans l'agroressources ivoiriennes, les sources biologiques riches en protéines ;
- extraire la fraction protéique et produire des extraits peptidiques ;
- évaluer l'activité inhibitrice des extraits peptides obtenus sur deux enzymes régulatrices du métabolisme du diabète (α -amylase et α -glucosidase).

Outre l'introduction et la conclusion, ce mémoire est subdivisé en trois parties. La première présente des généralités sur le diabète, les biopeptides, l'agroressources et les enzymes α -amylase et α -glucosidases. La deuxième partie concerne le matériel et les méthodes d'analyse utilisés dans cette étude. Quant à la dernière partie, elle est consacrée à la présentation des résultats et leur discussion.

**I- REVUE
BIBLIOGRAPHIQUE**

I.1- GÉNÉRALITÉS SUR LE DIABÈTE

I.1.1- Historique

Le diabète est l'une des maladies les plus connues de l'humanité depuis l'antiquité dont l'effet dévastateur augmente de jour en jour et atteint un niveau épidémique (**Farnsworth, 1986**). Le papyrus Ebers fait mention de cette maladie à partir de l'an 1550 avant Jésus Christ. Le terme « diabète » vient du grec ancien et signifie passer au travers en référence à deux symptômes caractéristiques de la maladie, la soif (polydipsie) et le besoin fréquent d'uriner (polyurie). Le terme latin « mellitus » signifiant sucré comme le miel a été ajouté par le médecin anglais Thomas Willis après avoir noté le goût sucré des urines de patients diabétiques (**Willis, 1674**). Ainsi, il est utilisé par les médecins grecs dès le quatrième siècle avant Jésus-Christ pour désigner les diabétiques qui boivent beaucoup et urinent très fréquemment et abondamment, comme si l'eau ne fait que « traverser leur corps » (**Seyar, 2021**). En 1893, Lagesse développa l'hypothèse insulaire du diabète, et affirma que le diabète post-pancréatectomique était la conséquence directe de la disparition des îlots, auxquels il donna le nom de Langerhans (**Schlienger, 2018**).

I.1.2- Définition

Selon l'OMS (2022), le diabète est une maladie chronique grave qui se déclare lorsque le pancréas ne produit pas suffisamment d'insuline, ou lorsque l'organisme n'est pas capable d'utiliser efficacement l'insuline qu'il produit (**OMS, 2022**). Celle-ci est une hormone peptidique sécrétée par les cellules bêta des îlots de Langerhans du pancréas qui régule le taux de glucose sanguin (**Seyar, 2021**). À côté de cette première définition, d'autres auteurs définissent le diabète comme étant un trouble métabolique, d'étiologie multiple, caractérisé par une hyperglycémie chronique (élévation chronique de la concentration de glucose dans le sang) avec des perturbations du métabolisme des glucides, des graisses et des protéines résultant de défauts dans la sécrétion d'insuline, de l'action de l'insuline ou les deux (**ECDCDM, 1997 ; Alberti *et al.*, 1998 ; Jouli, 2001**). Cette hyperglycémie chronique est associée, à des degrés divers, à des complications à long terme, touchant en particulier les yeux, les reins, les nerfs, le cœur et les vaisseaux sanguins (**Bedou, 2019**). Le diabète sucré peut présenter des symptômes caractéristiques tels que la soif, la polyurie, les troubles de la vision et la perte de poids (**Alberti *et al.*, 1998**). Ainsi, est déclarée diabétique, toute personne ayant une glycémie plasmatique à jeun de 1,26 g/L ou > 2 g/L quel que soit l'heure du prélèvement en présence de symptômes cliniques (**Jouli, 2001**).

I.1.3- Epidémiologie et physiopathologie du diabète

Le diabète sucré est un problème de santé majeur présent partout dans le monde. Les études épidémiologiques ont montré qu'il touche indistinctement toutes les populations et toutes les tranches d'âge. À l'échelle mondiale, le nombre de patients diabétiques est en augmentation spectaculaire ces dernières années (**Bédou, 2019**). En effet, en 2019, le diabète était la cause directe de 1,5 million de décès et 48 % de l'ensemble de ces décès sont survenus avant l'âge de 70 ans. Aussi, l'organisation mondiale de la santé rapporte que 460 000 décès enregistrés l'année dernière du fait de maladies rénales ont été causés par le diabète (**OMS, 2022**). Le diabète est également la principale cause de cécité de l'adulte dans les pays développés. Après 15 ans d'évolution, presque 100 % des patients diabétiques de type 1 ont une rétinopathie. Dans le cas du diabète de type 2, au moment du diagnostic, environ 20 % des patients ont une rétinopathie qui aurait débuté au moins 6,5 ans avant (**Raccah, 2018**).

I.1.4- Classification

La classification des diabètes est fondée depuis 1997 sur la physiopathologie des différentes formes cliniques et génétiques de la maladie (**Guillausseau *et al.*, 2003**). Ainsi, il existe :

I.1.4.1- Diabète de type 1

Cette forme de diabète, précédemment désignée par les termes diabète insulino-dépendant ou diabète juvénile, résulte d'une destruction auto-immune à médiation cellulaire des cellules bêta du pancréas (**ECDCDM, 1997**). Il est généralement caractérisé par la présence d'anticorps anti-GAD, d'ilots cellulaires ou d'insuline qui identifient les processus auto-immuns conduisant à la destruction des cellules bêta. Le pic d'incidence de cette forme de diabète survient pendant l'enfance et l'adolescence, mais l'apparition peut survenir à tout âge, de l'enfance à la neuvième décennie de la vie (**Alberti *et al.*, 1998**).

En 2017, 9 millions de personnes étaient atteintes de diabète de type 1 ; la plupart d'entre elles vivent dans des pays à revenu élevé. La cause du diabète de type 1 n'est pas connue, et en l'état des connaissances actuelles, il n'est pas évitable (**OMS, 2022**).

I.1.4.2- Diabète de type 2

Cette forme de diabète, précédemment appelée diabète non insulino-dépendant ou diabète de l'adulte, est un terme utilisé pour les personnes qui présentent une résistance à l'insuline et généralement une carence relative (plutôt qu'absolue) en insuline (**ECDCDM, 1997**). C'est la forme la plus courante de diabète. Elle se caractérise par des troubles de l'action et/ou de la sécrétion

d'insuline, l'un ou l'autre pouvant être la caractéristique prédominante (**Alberti et al., 1998**). Plus de 95 % des personnes atteintes du diabète ont le diabète de type 2. Il est en grande partie le résultat d'une surcharge pondérale et du manque d'activité physique. Récemment, ce type de diabète qui était observé que chez les personnes adultes, survient aussi de plus en plus chez les enfants (**OMS, 2022**).

I.1.4.3- Diabète gestationnel

Le diabète gestationnel est une intolérance aux glucides se traduisant par une hyperglycémie de sévérité variable avec apparition ou première reconnaissance pendant la grossesse. Cette intolérance aux glucides apparaît entre la 24^{ème} et la 28^{ème} semaine de grossesse et disparaît après l'accouchement. La définition s'applique indépendamment du fait que l'insuline soit ou non utilisée pour le traitement ou que la condition persiste après la grossesse (**Jouli, 2001 ; Alberti et al., 1998**).

I.1.4.4- Autres types spécifiques du diabète

Les autres types spécifiques du diabète, encore appelés diabètes secondaires, sont dus aux défauts génétiques de la fonction des cellules bêta ; aux maladies du pancréas exocrine ; aux endocrinopathies ; aux prises de médicaments ou infections chimiques. Ce sont des formes rares de diabète à médiation immunitaire et autres syndromes génétiques parfois associés. Ils sont des causes moins courantes de diabète sucré dans lesquels le défaut ou le processus pathologique sous-jacent peut être identifié de manière relative et spécifique (**Alberti et al., 1998**).

I.1.5- Particularité du diabète de type 2

La progression du diabète de type 2 (DT2) revêt actuellement une allure pandémique. Le nombre de diabétiques dans le monde était de 463 millions en 2019 et en l'absence des mesures de prévention primaire indispensables, il atteindra 578 millions d'ici 2030 (**FID, 2019**).

L'hyperglycémie est due à une réduction du captage du glucose et à une production glucosée hépatique excessive, liée à une diminution de l'insulinosécrétion et de l'insulinosensibilité. L'augmentation des besoins en insuline qui résulte de l'insulinorésistance est compensée par une insulinosécrétion accrue. Cela permet de garder une glycémie normale chez des sujets sans prédisposition génétique à un diabète de type 2. Cependant, chez les sujets prédisposés à un diabète de type 2, l'incapacité de la cellule bêta à répondre à l'augmentation des besoins en insuline, conduit à une élévation progressive de la glycémie puis à un diabète. Ce mécanisme d'adaptation est appelé « phénomène de compensation de l'insulinorésistance par la cellule bêta », et c'est sa défaillance qui est à l'origine du diabète de type 2 (**Guillausseau et al., 2003**).

Selon la classification des diabètes fondée depuis 1997, il existe deux formes de diabète de type 2 (DT2) : La forme monogénique, liée à un déficit de l'insulinosécrétion, est minoritaire et représente 5 à 10 % des cas de DT2. Quant à la forme polygénique ou « commune », c'est la forme la plus prépondérante, représentant 90 à 95 % des cas de DT2. Elle est liée à un défaut d'identification de la ou des mutations responsables de la maladie du diabète de type 2. Il s'agit de maladies multifactorielles, où se conjuguent des facteurs liés à l'environnement (**Guillausseau et al., 2003**).

Ces formes associent selon la définition de l'OMS deux anomalies métaboliques dont l'importance relative est variable d'une forme à l'autre : un déficit de l'insulinosécrétion ou insulinopénie et une diminution de la sensibilité à l'insuline des tissus cibles, principalement le muscle, le foie et le tissu adipeux, encore appelée insulinorésistance (**Guillausseau et al., 2003**). La combinaison de ces deux anomalies conduit au DT2. Ce sont ces formes, dont la prévalence augmente actuellement, qui représentent un problème majeur de santé publique (**Guillausseau et al., 2003**).

I.1.5.1- Causes et facteurs de risques

Au cours des dernières décennies, la compréhension du développement et de la progression du DT2 a évolué rapidement. Sa cause principale est l'altération progressive dans la sécrétion d'insuline par les cellules β pancréatiques, généralement antécédent de résistance à l'insuline préexistante dans le muscle squelettique, le foie et le tissu adipeux (**Ralph et al., 2015**).

Le DT2 se regroupe dans les familles et est héréditaire. Le risque de développer un DT2 est plus élevé lorsque la mère est atteinte de la maladie que lorsque le père est atteint de la maladie. Ainsi, se déclinent comme suit, les facteurs de risque du diabète de type 2 : l'âge avancé ; l'ascendance non blanche ; les antécédents familiaux de diabète sucré de type 2 (T2DM) ; le surpoids ou obésité (indice de masse corporelle (IMC) $\geq 25\text{kg par m}^2$) ; l'obésité abdominale ou centrale (indépendante de l'IMC) ; le syndrome des ovaires polykystiques ; les facteurs alimentaires malsains (consommation régulière de boissons sucrées et de viandes rouges et faible consommation de grains entiers et d'autres aliments riches en fibres) ; le tabagisme ; le mode de vie sédentaire ; les antécédents de diabète gestationnel ou l'accouchement de nouveau-nés pesant plus de 4kg ; le sommeil court et long ; le travail posté en rotation ; les antécédents de maladie cardiovasculaire et les athéroscléroses (**Ralph et al., 2015**).

I.1.5.2- Symptômes

Le diabète de type 2 évolue souvent en silence (sans aucun symptôme) pendant plusieurs années, car la **glycémie** augmente très progressivement. Des symptômes existent parfois et sont susceptibles de vous alerter. Ils peuvent apparaître progressivement, après plusieurs années

d'évolution : l'augmentation du besoin d'uriner (polyurie) ; l'augmentation de la soif (polydipsie) ; la diminution du poids de manière inexpiquée alors que l'appétit augmente ; la fatigue ; les démangeaisons au niveau des organes génitaux ; la cicatrisation très lente d'une plaie ; la vision trouble ; les infections plus fréquentes.

I.1.5.3- Complication

Les complications du diabète de type 2 sont multiples. Ce sont entre autre : les complications vasculaires (l'hyperglycémie ; l'insulinorésistance ; l'artériosclérose accélérée) ; les complications cardiovasculaires (la cardiopathie ischémique ; l'insuffisance cardiaque ; l'artériopathies périphériques ; l'atteinte cérébrovasculaire) ; la rétinopathie ; l'insuffisance rénale ; la neuropathie diabétique (**Schlienger, 2013**).

I.2- GÉNÉRALITÉS SUR LES BIOPEPTIDES

I.2.1- Définition

Les biopeptides ou peptides bioactifs sont définis comme des peptides possédant des propriétés pharmacologiques bénéfiques (**Clare et Swaisgood, 2000**). Ce sont des fragments protéiques qui ont la propriété d'interagir avec certains systèmes biologiques et de provoquer un effet physiologique. Les interactions qui peuvent exister sont de trois grands types : inhibition d'enzymes, interaction avec des récepteurs et déstructuration de membranes biologiques (**Romain, 2012**).

I.2.2- Effet biologique des biopeptides

Les biopeptides ont une panoplie d'activités biologiques. Ce sont entre autres des activités antioxydantes, antithrombotiques, opioïdes et hypotensives, des propriétés antimicrobiennes, une capacité à réduire le cholestérol, des effets immunomodulateurs, toutes bénéfiques pour le bon fonctionnement de l'organisme (**Nasri, 2017**). Aussi, ses propriétés antimicrobiennes ont une très grande utilité en industries alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques. Ainsi, de nombreuses études ont montré que les biopeptides exercent une activité antibactérienne contre de nombreux micro-organismes responsables de la détérioration des aliments et/ou de la santé tels que : *Microcoque jaune A270*, *Listeria innocua*, *Escherichia coli*, et *Salmonelle enteritidis*, tous pathogènes (**Nasri, 2017**).

Il a déjà été rapporté dans la littérature que certains peptides bioactifs améliorent la sensibilité à l'insuline (**Mora et al., 2019**). En effet, les peptides cryptés dans les graines à canaris, traditionnellement consommées pour traiter le diabète et l'hypertension, ont montré une activité

inhibitrice contre la dipeptidyl peptidase IV (DPP IV) et l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE), qui sont des cibles pour les traitements du diabète et de l'hypertension (**Mora et al., 2019**). De plus, certains peptides bioactifs sont multifonctionnels et peuvent présenter plusieurs activités biologiques. Par exemple, la lactoferricine, dérivée de la protéine de lactosérum, s'est avérée présenter de nombreuses activités, notamment des activités antimicrobiennes, anticancéreuses, anti-inflammatoires et immunomodulatrices (**Vogel et al., 2002**). Les hydrolysats de protéines ont également été utilisés pour maintenir l'état nutritionnel d'individus ayant des besoins nutritionnels ou physiologiques non couverts par les aliments conventionnels (**Clément, 2000**). Ils sont aussi utilisés dans la nutrition sportive comme supplément à haute énergie pour maximiser l'anabolisme des protéines musculaires chez les athlètes en bonne santé (**Manninen, 2009**).

I.2.3- Production des biopeptides

Selon la littérature, il existe deux principales voies utilisées pour la production des biopeptides. Il s'agit de l'hydrolyse enzymatique des protéines et de la fermentation microbienne (**Eric et al., 2017**).

I.2.3.1- Hydrolyse enzymatique

Cette méthode consiste à soumettre à une hydrolyse enzymatique, la matière protéique, à une température et un pH donnés. Plus d'une seule enzyme protéolytique (qu'elle soit purifiée ou brute) peut être utilisée pour hydrolyser la protéine afin de produire l'hydrolysat contenant de courtes séquences peptidiques (**Eric et al., 2017**). A ce jour, aucune enzyme protéolytique spécifique n'est connue pour produire des peptides bioactifs spécifiques dans les aliments. Toutefois, l'hydrolyse de la subtilisine a tendance à produire des peptides de faible poids moléculaire dont certains sont bioactifs. Ainsi, **Zhang et al. (2012)** ont montré que les protéines du son de riz hydrolysées par la subtilisine généraient le plus grand nombre de peptides de faible poids moléculaire et présentaient une activité biologique plus élevée que les échantillons hydrolysés avec une cystéine endopeptidase, la papaïne et la pepsine. En fonction du type d'enzyme utilisé, les séquences peptidiques peuvent avoir des activités biologiques différentes. Les peptides de faible poids moléculaire (<10 kDa) se sont avérés être des antioxydants et des antihypertenseurs plus efficaces que les peptides de poids moléculaires élevés (**Eric et al., 2017**). Aussi, les facteurs tels que la température et le temps alloué pour l'hydrolyse affectent l'étendue de l'hydrolyse et peuvent affecter également le type de peptides générés dans les hydrolysats et leurs propriétés (**Eric et al., 2017**).

I.2.3.2- Fermentation microbienne

La fermentation microbienne implique la culture de certaines bactéries ou levures sur des substrats protéiques pour hydrolyser les protéines avec leurs enzymes au fur et à mesure de leur croissance. Les bactéries ou levures en croissance sécrètent leurs enzymes protéolytiques dans le matériau protéique pour libérer les peptides des protéines mères. Habituellement, la bactérie de choix est cultivée jusqu'à sa phase exponentielle dans un bouillon à une température adaptée à la croissance bactérienne. Les cellules sont ensuite récoltées, lavées et mises en suspension dans de l'eau distillée stérile (contenant généralement du glucose) et utilisées comme levain (stater) pour inoculer un substrat protéique stérilisé. L'ampleur de l'hydrolyse dépend de la souche utilisée, du type de protéine et du temps de fermentation (**Eric et al., 2017**). Ces mêmes auteurs ont observé que le lactosérum fermenté par *Lactobacillus brevis* avait une capacité inhibitrice de l'ECA (Enzyme de Conversion de l'Angiotensine) plus forte que ceux fermentés avec *Lb. acidophilus*, *Lb. bifermentane*, *Lb. casei*, *Lb. helveticus*, *Lb. lactis*, *Lb. paracasei*, *Lb. plantarum* et *Lb. reuteri*. Cela montre que la fonctionnalité des hydrolysats de protéines peut différer d'une culture à un autre puisque les micro-organismes ont des systèmes protéolytiques différents.

Les bactéries de la même espèce peuvent également différer dans leurs capacités protéolytiques, ce qui peut entraîner des bioactivités différentes. Par exemple, **Sanjukta et al. (2015)** ont observé que la fermentation de protéines de soja avec *Bacillus subtilis* MTCC5480 entraînait un degré d'hydrolyse d'acides aminés libres plus élevé que les échantillons fermentés avec *B. subtilis* MTCC1747. Après fermentation, le mélange est centrifugé et le surnageant récupéré. Le surnageant peut ensuite être soumis à une hydrolyse supplémentaire à l'aide d'enzymes protéolytiques pour obtenir des séquences peptidiques plus courtes.

I.3- GÉNÉRALITÉS SUR L'AGRORESSOURCES

I.3.1- Définition

Les agroressources sont les matières premières issues de l'agriculture quelle qu'en soit leur destinée d'usage. Ceci concerne donc exclusivement les matières d'origine vivante cultivées par l'Homme, en aucun cas celles prélevées directement dans l'environnement. De ce fait, elles sont considérées comme renouvelables.

I.3.2- Quelques agroressources riches en protéine

I.3.2.1- Feuilles de marguerites

La marguerite (**Figure 1A**) de nom scientifique *Tithonia diversifolia* (famille d'Asteraceae), est un arbuste retrouvé sur les limites des champs, les prairies et les terres perturbées

en Afrique de l'Est. Initialement introduites au Kenya depuis l'Amérique centrale comme plante ornementale, elle est retrouvée maintenant dans les provinces occidentales et centrales, dans les régions côtières et dans certaines parties de la vallée du Rift (**Kandungu et al., 2013**). Riche en protéines (**Tableau I**) et en minéraux (calcium et phosphore), *Tithonia diversifolia* est un très bon apport fourragé pour les ruminants. Il est préférable de le couper plusieurs fois par an et le donner aux animaux avant floraison, stade auquel elle est le plus riche en nutriments. Il est possible de faire sécher la marguerite et de l'incorporer à l'alimentation durant toute l'année (**Olivier, 2021**)

I.3.2.2- Feuille de pourpier

Le pourpier (**Figure 1B**), de son nom scientifique *Portulaca oleracea*, est une plante annuelle succulente herbacée de climat chaud avec une distribution cosmopolite. Il est largement consommé comme herbe potagère ou ajouté dans les soupes et les salades dans les pays méditerranéens et asiatiques tropicaux. Le pourpier est beaucoup utilisé comme médicament dans de nombreux pays (**Yan-Xi et al., 2015**). Cette plante est riche en vitamines, notamment en provitamine A, vitamines B et C, et en minéraux (principalement le calcium, le magnésium, le potassium et le fer). Elle a la particularité de contenir entre 100 à 500 mg d'acides gras (particulièrement des acides gras oméga 3) pour 100 g de plante fraîche. Ces acides gras connus pour être protecteurs du système cardio-vasculaire, interviennent dans la prévention de la dégénérescence maculaire, des dépressions et ont un effet anti-inflammatoire. Aussi, le pourpier est très riche en protéines avec une quantité de 44 g pour 100 g de matière sèche (**Anonymous 1, 2022**).

I.3.2.3- Courge

La courge (**Figure 1C**), de son nom scientifique *Cucurbita pepo L.* est apparue pour la première fois en 1256. Le mot « courge » vient du Latin « *cūcūrbīta* » désignant la « gourde » ou calebasse. Il s'agit d'une plante annuelle herbacée et rampante, caractérisée par des fleurs jaunes, de larges feuilles vertes et un gros fruit relié par un pédoncule parfois angulaire. C'est un fruit originaire d'Afrique consommé frais comme légume, ou utilisé sec pour fabriquer des objets (**Jardiner, 2022**). La courge est reconnue pour ses propriétés antioxydantes, sédatives, antiparasitaires intestinales et même aphrodisiaques, les graines de courge sont préconisées pour lutter contre le diabète, l'asthénie, la dyspepsie, les maladies parasitaires causées par les vers intestinaux comme le ténia du bœuf (**Jardiner, 2022**). Riche en protéines, en micronutriments et en vitamines, la graine de courge est également un super aliment à conseiller aux personnes victimes du phénomène de grignotage ou de fringale (**Norbert, 2021**).

Tableau I : Composition chimique de quelques agroressources

| Composants | ^a Feuille de maguerite | ^b Feuille de pourpier | ^c Graine de courge | ^d Graine de papaye | ^e Graine de pastèque | ^f Chenille de karité |
|-------------------|-----------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| Calcium (%) | 2,62 | 0,02 | 0,035 | - | - | 0,16 |
| Cendres (%) | - | 18,98 | 4,7 | 8,8 | - | - |
| Fibres (%) | 18,51 | - | - | 17 | - | - |
| Glucides (%) | - | 1,97 | 6,3 | 15,5 | - | 7 |
| Lipides (%) | - | - | 48,4 | 25,3 | 31,53 | 15 |
| Protéines (%) | 22,23 | 44,35 | 35,1 | 24,3 | 37,04 | 63 |
| Matière sèche (%) | 88,91 | - | - | - | 97,80 | - |
| Humidité (%) | - | - | 5,5 | - | 2,20 | - |
| Phosphore (%) | - | 5,6 | 0,92 | - | - | - |
| Potassium (%) | - | 0,02 | 0,59 | - | - | 2,25 |

Sources : ^aCarlos *et al.*, 2022 ; ^bMohamed et Hussein, 1994 ;^cOumar, 1981;^d Fabert, 2011 ; ^eEnzonga-Yoca *et al.*, 2011 ; ^fGnissien, 2016 ; Niang, 1987

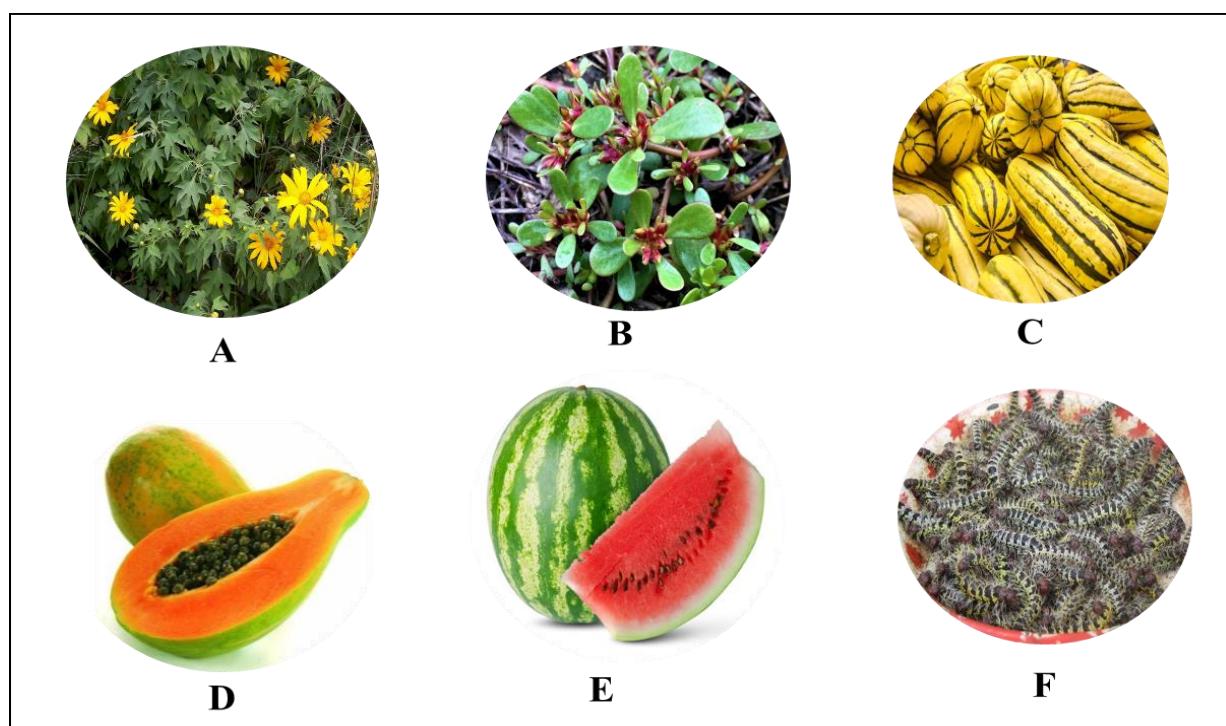


Figure 1 : Photographie de quelques agroressources riches en protéines

Source : Anonyme 2, (2023)

A : feuilles de marguerite (*Tithonia diversifolia*) ; **B** : feuilles de pourpier (*Portulaca oléracae*) ; **C** : courge (*Cucurbita pepo*) ; **D** : Papaye (*Carica papaya*) ; **E** : Pastèque (*Citrillus lanatus*) ; **F** : Chenille de karité (*Cirina butyrospermii*)

I.3.2.4- Papaye

La papaye (**Figure 1D**) est le fruit du papayer qui est un petit arbre de trois à dix mètres de hauteur, à port de palmier dont l'espèce la plus retrouvée est *Carica papaya* qui serait originaire du Mexique. Ses feuilles se présentent sous la forme d'un bouquet terminal à l'extrémité du tronc. Elles peuvent atteindre jusqu'à soixante centimètres de longueur (**Fabert, 2011**). La papaye (*Carica papaya*) est riche en vitamines, elle est longue de quinze à quarante centimètres pour un diamètre de sept à vingt-cinq centimètres. Elle possède une forme ovoïde ou arrondie, la cavité centrale renfermant des graines noires ou grisâtres de saveur piquante contenues dans un mucilage. Ces graines sont une source importante de protéines (**Tableau I**) et bien d'autres d'éléments nutritifs (**Fabert, 2011**). Aussi, elles possèdent de grandes propriétés digestives (**Fruits d'Outre-Mer, 1946**).

I.3.2.5- Pastèque

La pastèque (**Figure 1E**), **de son nom** scientifique *Citrullus lanatus*, est une plante herbacée annuelle de la famille des *Cucurbitacées*. Originaire d'Afrique, elle est aujourd'hui cultivée un peu partout dans le monde. La pastèque se caractérise par sa forte teneur en eau, qui constitue environ 90 % du fruit frais. C'est une importante source d'éléments nutritifs (**Tableau I**). Elle renferme des protéines, des glucides, des lipides, des fibres, des vitamines (A, B1, B2, B3, B5, B6, B9, C) et des minéraux notamment le potassium, le magnésium, l'iode, le sodium, le calcium, le manganèse, le phosphore et le zinc (**Lys et al., 2018**).

I.3.2.6- Chenille de karité

De son nom scientifique *Cirina butyrospermii* (**Figure 1F**), la chenille de karité a été décrite en **1960** par **Vuillet**. Plus connue sous l'appellation de « chitoumous en dafing, moré », la chenille de karité présente de grandes valeurs nutritionnelles si bien qu'elle peut faire l'objet « d'agrobusiness » et de « médico-business » (**Sanon, 2005**). Cette chenille défoliatrice du karité constitue une importante source de protéines (**Tableau I**) et contient également des glucides, des lipides et des sels minéraux (Calcium et Fer). Elle est fortement consommée par une bonne partie de la population Malienne et Burkinabé où le kilogramme est vendu jusqu'à 300 FCFA (**Niang, 1987**).

I.4- GÉNÉRALITÉ SUR LES ENZYMES α -AMYLASE ET α -GLUCOSIDASE

I.4.1- α -amylase

L'amylase a été décrite pour la première fois au début des années 1800 et est considérée comme l'une des premières enzymes de l'histoire à être étudiée scientifiquement (**Akinfemiwa et al., 2022**). C'est

une enzyme digestive principalement sécrétée par le pancréas et les glandes salivaires (**Pieper-Bigelow et al., 1990**). Il existe trois principales classes d'enzymes amylases : α -, β - et γ -amylase. Leur fonction principale est d'hydrolyser les liaisons glycosidiques dans les molécules d'amidon, convertissant les glucides complexes en sucres simples (**Zakowski et al., 1985**). Particulièrement, les enzymes α -amylases sont des glycosidases qui rompent les liaisons osidiques α -1,4 des polysaccharides (amidon et glycogène) de façon aléatoire en libérant des dextrines, du maltose et du maltotriose (**Bendali, 2005**). **Sudha et al. (2011)** ont rapporté que l'activité de l' α -amylase pancréatique humaine (HPA) dans l'intestin grêle est corrélée à une augmentation des taux de glucose postprandiaux, dont le contrôle constitue donc un aspect important dans le traitement du DT2.

I.4.2- α -glucosidase

Les α -glucosidases (EC 3.2.1.20) catalysent l'hydrolyse des résidus de glucose α -1,4 non réducteurs terminaux provenant des glucosides aryles (ou alkyles), des disaccharides ou des oligosaccharides. Elles sont fréquemment appelées maltases, bien que certaines d'entre elles puissent avoir une faible activité sur le maltose (**Terra et Ferreira, 2012**). Ce sont des exo-glycosidases catalysant majoritairement l'hydrolyse des liaisons α -1,4-glycosidiques du maltose et du maltotriose pour libérer un α -D-glucose (**Berriha et Boukhris, 2019**). Le rôle principal de ces enzymes qui sont présentes dans la bordure en brosse de l'intestin grêle est la digestion des oligosaccharides en monosaccharides (**Wu et al., 2016**). La dernière étape de l'hydrolyse des glucides pour produire un monosaccharide absorbable est médiée par les enzymes α -glucosidases présentes dans le tissu épithérial de l'intestin grêle (**Alqahtani et al., 2020**).

II- MATÉRIEL

ET

MÉTHODES

II.1- Matériel

II.1.1- Matériel biologique

Le matériel biologique utilisé dans le cadre de cette étude (**Figure 1**) était constitué de graines de papaye (*Carica papaya*), de graines de courge (*Cucurbita pepo*), de graines de pastèque (*Citrullus lanatus*), de chenilles de karité (*Cirina butyrospermii*) achetés au marché Gouro dans la commune d'Adjame (Abidjan, Côte d'Ivoire), de feuilles de pourpier (*Portulaca oleracea*) collectées à la gare lagunaire de Cocody-Blockoss (Abidjan, Côte d'Ivoire) et de feuilles de Marguerite (*Tithonia diversifolia*) collectées à Gonzague-ville, dans la commune de Port-Bouet, Abidjan, Côte d'Ivoire. Ces agroressources ont été acheminés à l'Unité de Pédagogie et de Recherches (UPR) en Biotechnologies de l'Université Félix Houphouët-Boigny de Cocody. L'ensemble du matériel a été choisi sur la base de sa richesse en protéines, de sa disponibilité, de son accessibilité et de son utilisation courante dans la pharmacopée.

En plus de ces ressources, l' α -amylase de *Aspergillus oryzae* (30 U/mg), produites par Sigma-Aldrich (Amérique) et le suc digestif de l'escargot, *Achatina achatina* (**Figure 2**), ont été utilisés pour évaluer l'activité inhibitrice des biopeptides issus de différents échantillons. Les escargots utilisés dans cette étude ont été achetés au marché Gouro, dans la commune d'Adjame (Abidjan, Côte d'Ivoire).

II.1.2. Réactifs et produits chimiques

Pour mener à bien cette étude, certains réactifs et produits chimiques ont été utilisés. Ils étaient tous de grade analytique. Ce sont entre autre : l'empois d'amidon de manioc, le saccharose, l'acide 3,5-dinitrosalicylique (DNS), l'acide acétique, l'acide ortophosphorique, l'alcool, l'acétate de sodium ; la soude (hydroxyde de sodium) ; le tartrate double de sodium et de potassium, l'acarbose (50 mg/comprimé), le sulfate d'ammonium, le gel sephadex G-200 (Pharmacia Fine Chemicals) etc.

II.1.3. Matériel technique

Le matériel technique concerne les appareils et matériels de laboratoire qui nous ont permis de réaliser cette étude. Ce sont entre-autre : une centrifugeuse (Laboao HR-16, Chine) ; un bain-marie (Julabo D-77960 Seelbach/Germany) ; une étuve (Fisher Bioblock Scientific, Allemagne) ; une plaque chauffante (Casino HP202-D2-2500, Chine) ; un mixeur (moulinex uno, France) ; un vortex (BIOBASE MX-S, Chine) ; un agitateur (BIOBASE, SK-0180-S, Chine) ; un réfrigérateur ; un spectrophotomètre (Pioway, Chine V5000), un pH-mètre (HANNA, France) ; un dispositif chromatographique (θ : 3,8 cm \times h : 8,3 cm) ; etc.

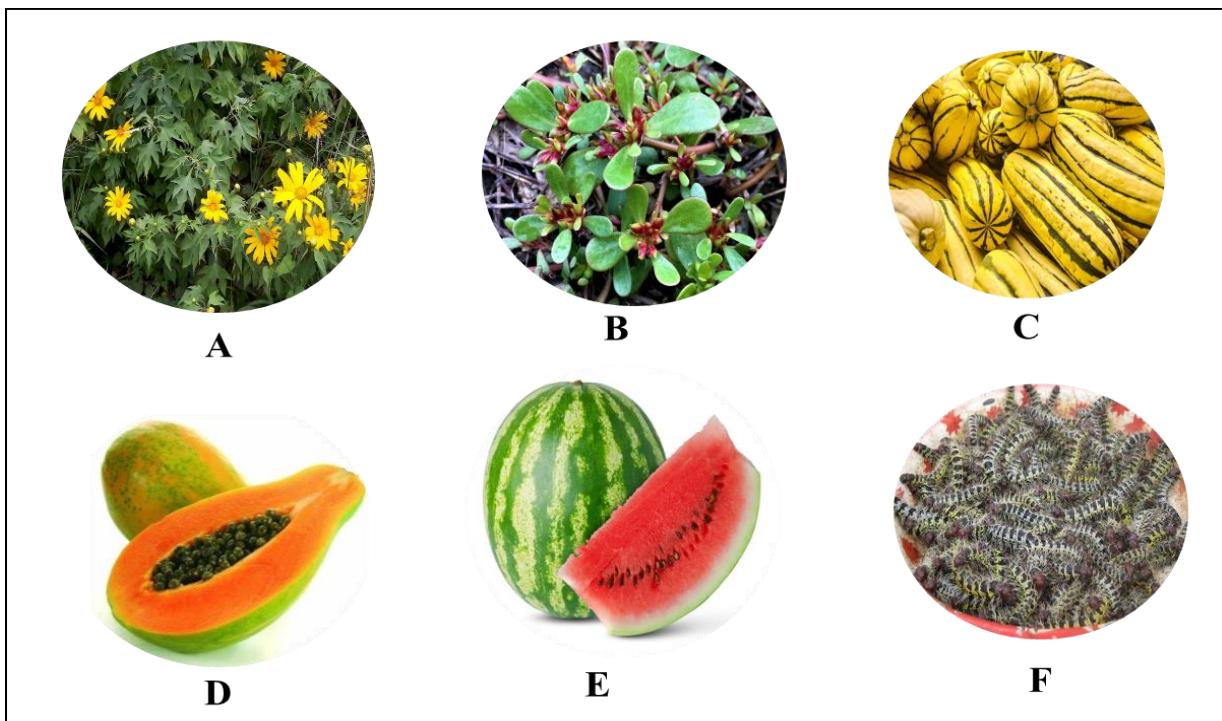


Figure 1 : Photographie de quelques agroressources riches en protéines

A : feuilles de marguerite (*Tithonia diversifolia*) ; **B** : feuilles de pourpier (*Portulaca oleracea*) ; **C** : courge (*Cucurbita pepo*) ; **D** : Papaye (*Carica papaya*) ; **E** : Pastèque (*Citrillus lanatus*) ; **F** : Chenille de karité (*Cirina butyrospermii*)



Figure 2 : Sources enzymatiques

A : escargot (*Achatina achatina*) ; **B** : α -amylase de *Aspergillus oryzae*

II.2- Méthodes

II.2.1- Traitement des ressources biologiques

II.2.1.1- Processus d'extraction des graines

Les fruits de papaye (*Carica papaya*), de courge (*Cucurbita pepo*), de Pastèque (*Citrullus lanatus*) ont été lavés soigneusement à l'eau de robinet puis tranchés à l'aide d'un couteau en acier inoxydable pour en extraire leurs graines. Ces derniers ont été séchées à l'étuve (Fisher Bioblock Scientific, Allemagne) à 50 °C pendant 48 h puis moulues à l'aide d'un mixeur (moulinex uno, France). Les poudres obtenues ont été conservées dans des bocaux propres puis disposés dans un endroit sec pour les analyses ultérieures.

II.2.1.2- Processus du traitement des feuilles

Les feuilles de pourpier (*Portulaca oleracea*) et de Marguerite (*Tithonia diversifolia*) ont été soigneusement lavées à l'eau de robinet puis séchées à l'étuve (Fisher Bioblock Scientific, Allemagne) à 50 °C pendant 48 h. Les feuilles séchées ont été moulues à l'aide d'un mixeur (moulinex uno, France) pour l'obtention de la poudre. Cette poudre a été conservée dans des bocaux propres puis disposée dans un endroit sec pour les travaux ultérieurs.

II.2.1.3- Processus du traitement de la Chenille de karité

Les chenilles de karité ont été séchées à l'étuve (Fisher Bioblock Scientific, Allemagne) à 50 °C pendant 24 h puis broyées à l'aide d'un mixeur (moulinex uno, France). La poudre obtenue a été conservée dans des bocaux propres puis disposée dans un endroit sec pour les usages ultérieurs.

II.2.1.4- Extraction du suc digestif de l'escargot

Le suc digestif de l'escargot géant d'Afrique (*Achatina achatina*) a été extrait selon la méthode décrite par (**Colas, 1977**). Ainsi, les escargots ont été maintenus à jeun pendant 3 jours. Ensuite, à l'aide d'une masse, leurs coquilles ont été brisées pour recueillir le contenu du tube digestif dans un tube d'essai plongé dans un bain de glace. Ce contenu du tube digestif a été centrifugé à 10.000 tr/min à 4 °C pendant 30 minutes à l'aide d'une centrifugeuse réfrigérante (Laboao HR-16, Chine). Le surnageant résultant a été stocké à 4 °C pour les travaux ultérieurs.

II.2.2- Extraction des protéines brutes

Les protéines des différents échantillons ont été extraits selon la méthode décrite par **Bédikou et al. (2020)** avec une légère modification au niveau du rapport la masse de l'échantillon utilisé/volume de la solution aqueuse (m/v).

Le principe d'extraction est basé sur la solubilité des protéines en solution aqueuse (NaCl à 0,9 %). Ainsi, 25 g de poudre de courge, de chenille de karité, de pastèque et de papaye ont été séparément introduits dans 150 mL de solution de NaCl préparé à 0,9 % (p/v) ; soit un rapport 1:6 (p/v). Pour les échantillons de feuilles de pourpier et de marguerite, les 25 g de poudre ont été dissous séparément dans 250 mL de NaCl 0,9 % ; soit un rapport 1:10 (p/v). Les solutions obtenues ont été filtrées à l'aide d'un filtre whatman pour éliminer les résidus. Chaque filtrat a été par la suite centrifugé à 10.000 tr/min pendant 10 minutes à l'aide d'une centrifugeuse (Laboao HR-16, Chine), puis le surnageant de chaque échantillon représentant l'extrait brut protéique a été récupéré, puis conservés à 4 °C.

II.2.3- Précipitation des protéines par le sulfate d'ammonium

La précipitation des protéines est basée sur la solubilité différentielle des protéines en présence des sels (sulfate d'ammonium). Ainsi, plus la force ionique des sels augmente, plus les protéines précipitent. Dans cette étude, les extraits protéiques de chaque échantillon ont été précipités avec du sulfate d'ammonium à un taux de saturation de 100 % (m/v).

Pour ce faire, 50 mL d'extrait protéique ont été introduits dans un erlenmeyer puis l'ensemble a été mis dans un bain glacé sous agitation (BIOBASE, SK-0180-S, Chine) à 140 tr/min pendant 15 min. Ensuite, 35 g de sel (sulfate d'ammonium) ont été ajoutés progressivement jusqu'à solubilisation totale. La solution obtenue a été laissée reposer pendant 90 min puis centrifugée à 10.000 tr/min pendant 30 min à l'aide d'une centrifugeuse (Laboao HR-16, Chine). Enfin, chaque culot a été récupéré puis resuspendu dans 50 mL d'eau distillée.

II.2.4- Hydrolyse thermique des extraits protéiques

Les différents extraits protéiques précipités ont été hydrolysés selon la méthode décrite par (**Bédikou et al., 2022a**). Selon cette méthode, une fraction de chaque extrait protéique a été incubée pendant 30 min dans un bain-marie réglé à 80 °C. Au terme de ce temps, chaque extrait a été récupéré puis conservé à 4 °C pour les éventuelles études.

II.2.5- Détermination de la teneur en protéines de différents extraits protéiques

II.2.5.1- Préparation du réactif de Bradford

Le réactif de Bradford est préparé en dissolvant 100 mg de bleu de Coomassie G-250 dans 50 mL d'éthanol à 95 %. La solution est ensuite mélangée avec 100 mL d'acide phosphorique à 85 % puis complétée à 1 L avec de l'eau distillée. Le réactif obtenu est filtré à travers du papier filtre Whatman puis stocké dans un flacon sombre couvert de papier aluminium à l'abri de la lumière.

II.2.5.2- Détermination de la teneur en protéines de différents extraits protéiques

La teneur en protéines des différents extraits a été effectuée selon la méthodes décrite par (**Bradford, 1976**). Le principe de cette méthode repose sur la liaison du bleu de Coomassie G-250 à la protéine. La forme cationique du colorant, qui prédomine dans la solution de réactif de dosage acide, a une absorbance maximale de 470 nm et sa forme anionique, qui se lie aux protéines, a une absorbance maximale de 595 nm. L'intensité de la coloration bleue est proportionnelle à la quantité de protéines présente dans l'échantillon.

Ainsi, les protéines contenues dans les différents extraits ont été quantifiées en ajoutant à 100 μ L de chaque échantillon à 5 mL du réactif de Bradford. Ensuite, le mélange a été mis à l'abri de la lumière pendant 5 minutes puis l'absorbance a été mesurée à 595 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (Pioway, Chine V5000). Le blanc a été réalisé dans les mêmes conditions en remplaçant les 100 μ L de l'échantillon par 100 μ L d'eau distillée. Le sérum de l'albumine bovine (SAB) de concentration 1 mg/mL a été utilisé comme protéine de référence pour réaliser la gamme d'étalonnage des protéines.

Les formules suivantes ont été utilisées pour le calcul des rendements en protéines des différents extraits précipités et hydrolysés :

$$\text{Rendements des extraits précipités (\%)} = \frac{\text{teneur en protéine d'extract précipité de l'échantillon}}{\text{teneur en protéine d'extract brut de l'échantillon}} \times 100$$

$$\text{Rendement des extraits hydrolysés (\%)} = \frac{\text{teneur en protéine d'extract hydrolysé de l'échantillon}}{\text{teneur en protéine d'extract précipité de l'échantillon}} \times 100$$

II.2.6- Préparation du tampon acétate de sodium et autres réactifs

II.2.6.1- Préparation du tampon acétate de sodium

Le tampon acétate de sodium a été préparé à une concentration de 100 mM. Pour ce faire, 13,6 g d'acétate de sodium ont été introduits dans 800 mL d'eau distillée puis le pH a été ajusté à 5 avec de l'acide acétique. Le pH de la solution a été contrôlé à l'aide d'un pH-mètre (HANNA, France) puis le volume a été complété à 1 L avec de l'eau distillée.

II.2.6.2- Préparation de l’empois d’amidon de manioc

L’empois d’amidon de manioc a été préparé à 1 %. Pour ce faire, 1 g de poudre d’amidon de manioc a été introduit dans 50 mL d’eau distillée puis mis sous agitation chauffante à l’aide d’une plaque chauffante (Casino HP202-D2-2500, Chine) jusqu’à ce qu’elle pétille pendant 1 min. Puis, le volume de l’empois obtenu a été complété à 100 mL avec de l’eau distillée.

II.2.6.3- Préparation du saccharose

La solution de saccharose a été préparé à la concentration de 1 %. Pour ce faire, 1 g de saccharose a été introduit dans 100 mL d’eau distillée puis homogénéisé.

II.2.6.4- Préparation du réactif DNS

Le réactif DNS a été préparé en dissolvant 2 g d’acide 3,5-dinitrosalicylique (DNS) dans 70 mL d’eau distillée puis chauffé à 150 °C (solution 1). Parallèlement, 3,2 g de la soude (NaOH) sont dissous dans 30 mL d’eau distillée (solution 2). Ensuite, ces deux solutions ont été mélangées puis mises sous agitation chauffante à 150 °C. Enfin, 60 g de tartrate double de sodium et de potassium ont été ajoutés progressivement puis le volume de la solution finale a été complété à 200 mL avec de l’eau distillée.

II.2.6.5- Préparation de l’ α -amylase

L’ α -amylase utilisé dans cette étude a été préparée à une concentration de 0,2 g/mL. 2 g d’ α -amylase de l’*Aspergillus oryzae* (30 U/mg) (Sigma-Aldrich, Amérique) ont été introduits dans 10 mL de tampon acétate de sodium (100 mM ; pH 5,0) puis distribuées dans les tubes eppendorfs et conservées dans un congélateur pour les usages ultérieurs.

II.2.7- Fractionnement des différents extraits protéiques

Les différents extraits protéiques ont été fractionnés en utilisant la chromatographie d’exclusion moléculaire. Cette méthode permet de séparer les molécules en fonction de leur volume hydrodynamique et leur poids moléculaire.

II.2.7.1- Préparation du gel de migration sephadex G-200 et du dispositif chromatographique

Le gel sephadex G-200 (Pharmacia Fine Chemicals) permet de fractionner les protéines globulaires qui ont une masse comprise entre 5 à 800 kDa. Le gel sephadex G-200 a été préparé en introduisant 3,13 g de Sephadex G-200 dans 94 mL de tampon acétate de sodium (100 mM ; pH 5,0) puis laissé reposer pendant 3 h de temps. Le gel ainsi constitué a été coulé dans la colonne chromatographique (θ:3,8 cm × h:8,3 cm) puis connectée à un bocal contenant l’éluant (tampon acétate de sodium).

II.2.7.2- Processus de fractionnement des différents extraits protéiques

Le fractionnement a été effectué en déposant minutieusement 2 mL d’extrait protéique au-dessus du gel préalablement coulé dans la colonne chromatographique. Ensuite, le débit de la colonne a été réglé à 0,5 mL/min de sorte à faciliter une bonne séparation des molécules protéiques et peptidiques. Le volume mort qui correspond au 1/3 du volume de la colonne a été collecté avant que 3 mL de fraction ne soient récupérés à intervalle de 6 min.

Pour confirmer la présence de peptides dans les différentes fractions, la teneur en protéines a été déterminée selon la méthode de **Bradford (1976)** précédemment décrite. Une évaluation de l’activité enzymatique résiduelle de l’α-amylase et de l’α-glucosidase en présence des différents échantillons collectées a permis de sélectionner les fractions actives qui présentaient une activité inhibitrice sur lesdites enzymes.

II.2.8- Détermination de l’activité α -amylasique et α -glucosidasique en absence et en présence des différents extraits peptidiques

La détermination de l’activité α -amylasique et α -glucosidasique a été effectuée selon la méthode décrite par (**Bédikou et al., 2022b**). Pendant cette étude, l’activité inhibitrice des différentes fractions collectées à partir de chaque échantillon a été évaluée comparativement à un inhibiteur de référence (l’acarbose) utilisé comme témoin positif d’inhibition.

L’activité α -amylasique et α -glucosidasique en absence d’extraits peptidiques des différents échantillons a été réalisée en constituant un milieu réactionnel composé de 200 μ L du tampon acétate de sodium (100 mM ; pH 5,0), 150 μ L du substrat (empois d’amidon de manioc (1 %, p/v)) et 50 μ L d’α-amylase (6 U/mg). Ce milieu réactionnel, excepté le substrat a été pré-incubé à 37 °C au bain-marie pendant 5 min. Ensuite, le substrat a été ajouté puis l’ensemble a été homogénéisé et incubé à 37 °C au bain-marie pendant 30 min. Au terme de ce temps, 100 μ L d’acide 3,5-dinitrosalicylique ont été ajoutés puis l’ensemble a été porté au bain-marie bouillant pendant 5 min. Après

refroidissement, 1 mL d'eau distillée a été ajoutée et enfin, l'absorbance a été mesurée à 540 nm au spectrophotomètre (Pioway, Chine V5000). Le témoin a été réalisé dans les mêmes conditions en remplaçant la quantité d'α-amylase par le tampon acétate de sodium.

L'évaluation de l'activité inhibitrice des différents extraits sur les deux enzymes clés du métabolisme du diabète (α-amylase et α-glucosidase) a été réalisée en substituant dans chaque milieu réactionnel 50 µL du volume de tampon par celui de l'effecteur. Le taux d'inhibition enzymatique est déterminé par la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition enzymatique} = \frac{\text{D.O en absence d'inhibiteur} - \text{D.O en présence d'inhibiteur}}{\text{D.O en absence d'inhibiteur}} \times 100$$

II.2.9- Traitement statistique

Tous les essais (dosage des protéines et les tests d'inhibition) dans la présente étude ont été réalisés en triples, puis les moyennes ont fait l'objet de comparaison en utilisant le test de Duncan à un niveau de confiance de 95 % pour exprimer les différences. Ces analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel IBM SPSS Statistics 20.

III- RÉSULTATS ET DISCUSSION

III.1- Résultats

III.1.1- Teneur et rendement en protéines des différents échantillons

Le **tableau II** présente la teneur en protéines des échantillons pendant les différentes étapes de leur traitement. L'analyse statistique entre les différentes étapes du traitement des échantillons indique qu'il n'y a pas de différence significative entre l'extrait brut, précipité et hydrolysé de papaye et pastèque, entre l'extrait brut et précipité de marguerite et de pourpier, entre l'extrait précipité et hydrolysé de courge. Quant à l'échantillon de chenille de karité, l'analyse statistique indique une différence entre l'extrait brut ($4,70 \pm 0,47$ mg/mL), l'extrait précipité ($5,27 \pm 0,45$ mg/mL) et l'extrait hydrolysé ($3,92 \pm 0,26$ mg/mL).

Le traitement statistique entre les échantillons révèle que les teneurs en protéines dans les extraits bruts sont plus élevées dans les échantillons de pastèque, de chenille de karité, de courge et de papaye par rapport aux échantillons de marguerite et de pourpier. La plus petite teneur en protéines est de $1,17 \pm 0,13$ mg/mL pour l'échantillon de pourpier et la plus forte est $4,89 \pm 0,31$ mg/mL pour l'échantillon de pastèque.

Concernant l'extrait précipité, l'analyse statistique révèle que les teneurs en protéines sont plus élevées dans les échantillons de chenille de karité, de pastèque et de papaye par rapport aux échantillons de courge, de marguerite et de pourpier. Les teneurs en protéines les plus faibles et les plus élevées ont été respectivement observées avec les échantillons de pourpier ($0,89 \pm 0,31$ mg/mL) et de papaye ($4,78 \pm 0,92$ mg/mL).

En ce qui concerne les extraits hydrolysés, l'analyse statistique révèle que les teneurs en protéines sont plus élevées dans l'échantillon de pastèque par rapport aux échantillons de courge, de chenille de karité, de marguerite, de papaye et de pourpier. Ces teneurs s'inscrivent dans l'intervalle de $2,02 \pm 0,51$ mg/mL pour l'échantillon de marguerite à $5,03 \pm 0,22$ mg/mL pour l'échantillon de pastèque.

En terme de rendement (**Tableau III**), les échantillons de chenille de karité et de papaye présentent les rendements en protéines les plus élevés par rapport aux échantillons de marguerite, de pourpier, de pastèque et de courge au niveau des extraits précipités. Ces rendements se situent dans la marge de 53,63 % pour l'échantillon de courge à 115,18 % pour l'échantillon de papaye. Quant aux extraits hydrolysés, les rendements les plus élevés ont été observés avec les échantillons de courges, de marguerite, de pastèque et de pourpier par rapport aux échantillons de chenille de karité et de papaye. La plus faible valeur était de 74,38 % pour la chenille de karité et la plus forte de 226,97 % pour le pourpier.

Tableau II : Teneurs en protéines des échantillons pendant différentes phases de leur traitement

| Echantillons | Extrait brut (mg/mL) | Extraits précipités (mg/mL) | Extraits hydrolysés (mg/mL) |
|---------------------------|----------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| Courge | 4,55 ± 0,85 ^{aA} | 2,43 ± 0,48 ^{bB} | 2,75 ± 0,21 ^{cB} |
| Chenille de karité | 4,70 ± 0,47 ^{aAB} | 5,27 ± 0,45 ^{aA} | 3,92 ± 0,26 ^{bB} |
| Marguerite | 1,41 ± 0,31 ^{bB} | 1,24 ± 0,26 ^{cB} | 2,26 ± 0,14 ^{cA} |
| Pourpier | 1,17 ± 0,13 ^{bB} | 0,89 ± 0,31 ^{cB} | 2,02 ± 0,51 ^{cA} |
| Pastèque | 4,89 ± 0,31 ^{aA} | 4,49 ± 0,44 ^{aA} | 5,03 ± 0,22 ^{aA} |
| Papaye | 4,15 ± 0,48 ^{aA} | 4,78 ± 0,92 ^{aA} | 3,74 ± 0,84 ^{bA} |

Chaque valeur représente la moyenne et l'écart type issus de l'analyse statistique des trois essais. Les différentes lettres (a, b et c) observées dans une même colonne ainsi que les lettres (A, AB et B) observées sur une même ligne indiquent une différence statistique au seuil de 5 % (p < 0,05).

Tableau III : Rendement en protéines des différents échantillons précipités et hydrolysés

| Echantillons | Extraits brut (%) | Extraits précipités (%) | Extraits hydrolysés (%) |
|---------------------------|----------------------|----------------------------|----------------------------|
| Courge | 100 | 53,63 | 113,16 |
| Chenille de karité | 100 | 112,13 | 74,38 |
| Marguerite | 100 | 87,94 | 182,26 |
| Pourpier | 100 | 76,07 | 226,97 |
| Pastèque | 100 | 91,82 | 112,03 |
| Papaye | 100 | 115,18 | 78,24 |

III.1.2- Teneur en protéines des différentes fractions collectées

Le **tableau IV** présente la teneur en protéines des différentes fractions collectées à l'issue de la chromatographie d'exclusion moléculaire. L'analyse statistique révèle que les teneurs en protéines des fractions I1, I2 et I3 dans l'échantillon de courge sont approximativement identiques. Ces teneurs sont de $0,26 \pm 0,04$ mg/mL ; $0,28 \pm 0,02$ mg/mL et de $0,30 \pm 0,03$ mg/mL respectivement pour les fractions I1, I3 et I2.

Dans l'échantillon de chenille de karité, l'étude statistique révèle que les fractions inhibitrices I2 et I3 présentent les teneurs en protéines les plus élevées par rapport aux fractions I1 et I4. Ces teneurs sont comprises entre $0,22 \pm 0,04$ mg/mL (la fraction I1) et $0,34 \pm 0,01$ mg/mL (fractions I3).

Au niveau de l'échantillon de marguerite, l'analyse statistique montre que les fractions I1, I2 et I3 présentent les mêmes teneurs en protéines. Ces teneurs sont de $0,25 \pm 0,01$ mg/mL pour la fraction I1, $0,28 \pm 0,05$ mg/mL pour la fraction I2 et $0,26 \pm 0,05$ mg/mL pour la fraction I3.

Concernant l'échantillon de pourpier, l'étude statistique révèle que les fractions I2, I3 et I4 présentent les teneurs en protéines les plus élevées par rapport aux fractions I1 et I5. Ces teneurs sont de $0,53 \pm 0,02$ mg/mL pour la fraction I1, $0,54 \pm 0,01$ mg/mL la fraction I5 et de $0,58 \pm 0,01$ mg/mL pour les fractions I2, I3 et I4.

L'analyse statistique au niveau de l'échantillon de pastèque indique que les fractions I3 et I4 présentent les teneurs en protéine les plus élevées par rapport aux fractions I1 et I2. Ces teneurs sont de $0,24 \pm 0,01$ mg/mL pour les fractions I1 et I2 puis de $0,27 \pm 0,01$ mg/mL pour la fraction I3 et $0,28 \pm 0,02$ mg/mL la fraction I4.

En ce qui concerne l'échantillon de papaye, les fractions I1 et I2 présentent les teneurs en protéine les plus élevées par rapport à la fraction I3. La plus faible teneur en protéines est de $0,07 \pm 0,01$ mg/mL pour la fraction I3 puis les plus fortes sont de $0,13 \pm 0,01$ mg/mL pour la fraction I2 et $0,15 \pm 0,03$ mg/mL la fraction I1.

III.1.3- Activité enzymatique résiduelle de l' α -amylase et de l' α -glucosidase en absence et en présence des différentes fractions d'inhibiteurs issus des extraits peptidiques

Les **figures 3 et 4** présentent les activités enzymatiques résiduelles de l' α -amylase et l' α -glucosidase en absence et en présence des différentes fractions peptidiques. Il faut noter que plus l'activité enzymatique résiduelle est faible, plus les fractions collectées inhibent les enzymes clés du métabolisme du diabète de type 2.

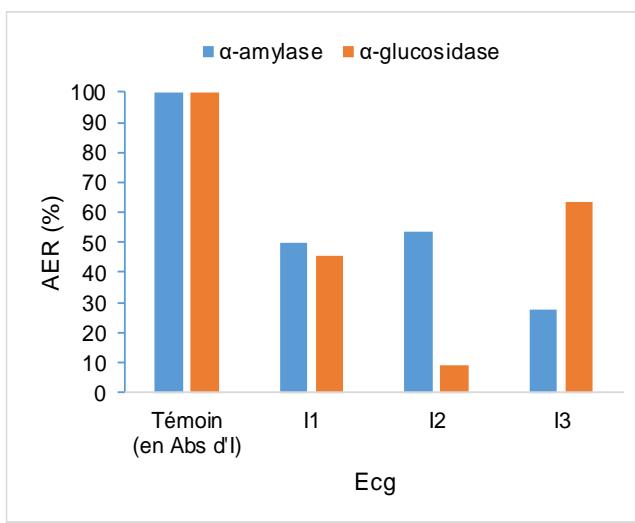
L'utilisation d'un volume de 50 μ L des fractions peptidiques I1, I2, I3 de courge, I2, I3, I4 de chenille de karité, I2, I3 de pastèque et I2 de papaye comme effecteurs, indiquent une absence d'activité α -glucosidasique et une faible activité α -amylasique.

Tableau IV : Teneur en protéines des fractions collectées à l'issue de la chromatographie d'exclusion moléculaire

| Échantillons | Fractions inhibitrices | | | | |
|--------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | I1 | I2 | I3 | I4 | I5 |
| Ecg | 0,26 ± 0,04 ^a | 0,30 ± 0,03 ^a | 0,28 ± 0,02 ^a | | |
| Eck | 0,22 ± 0,04 ^b | 0,30 ± 0,02 ^a | 0,34 ± 0,01 ^a | 0,24 ± 0,00 ^b | |
| Ema | 0,25 ± 0,01 ^b | 0,28 ± 0,05 ^b | 0,26 ± 0,05 ^b | | |
| Epp | 0,53 ± 0,02 ^b | 0,58 ± 0,01 ^a | 0,58 ± 0,02 ^a | 0,58 ± 0,00 ^a | 0,54 ± 0,01 ^b |
| Ept | 0,24 ± 0,02 ^b | 0,24 ± 0,01 ^b | 0,27 ± 0,01 ^a | 0,28 ± 0,02 ^a | |
| Epy | 0,15 ± 0,03 ^a | 0,13 ± 0,01 ^a | 0,07 ± 0,01 ^b | | |

Chaque valeur représente la moyenne et l'écart type issus de l'analyse statistique des trois essais. Les différentes lettres (a,b et c) observées sur une même ligne indiquent une différence statistique au seuil de 5 % ($p < 0,05$). **Ecg** : échantillon de courge ; **Eck** : échantillon de chenille de karité ; **Ema** : échantillon de marguerite ; **Epp** : échantillon de pourpier ; **Ept** : échantillon de pastèque, **Epy** : échantillon de papaye.

25 μ L d'Inhibiteur



50 μ L d'Inhibiteur

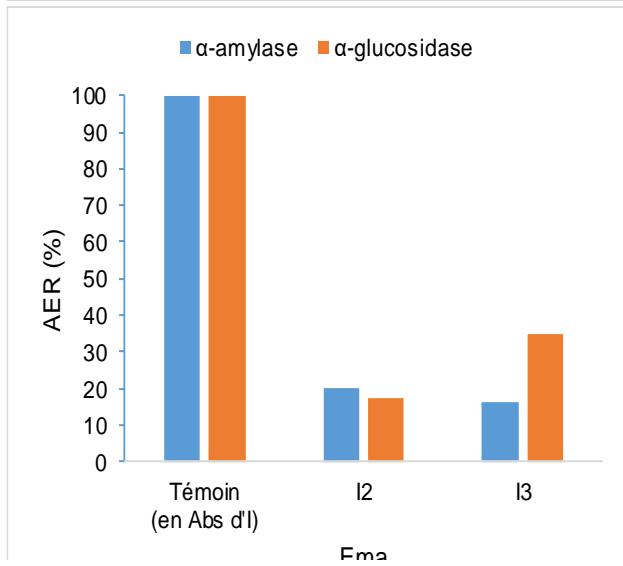
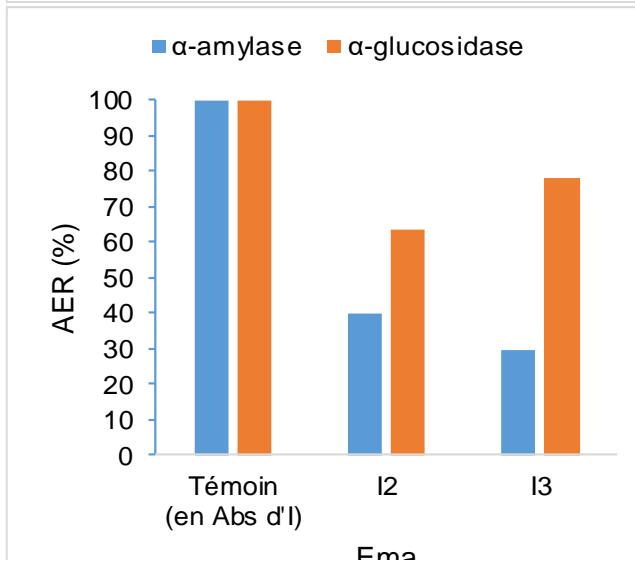
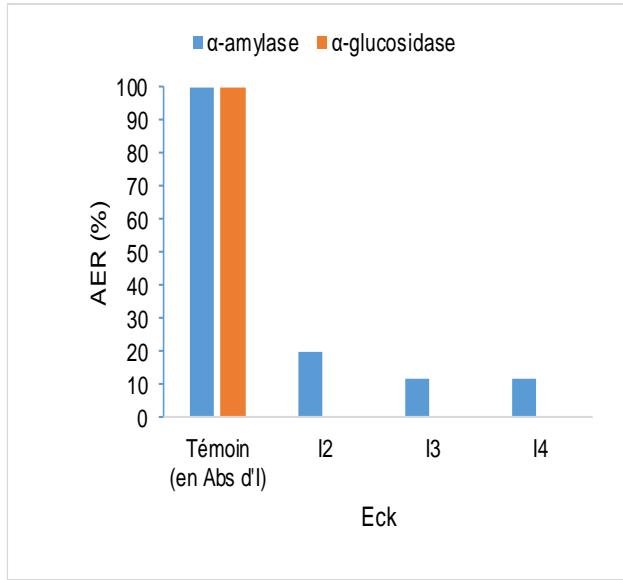
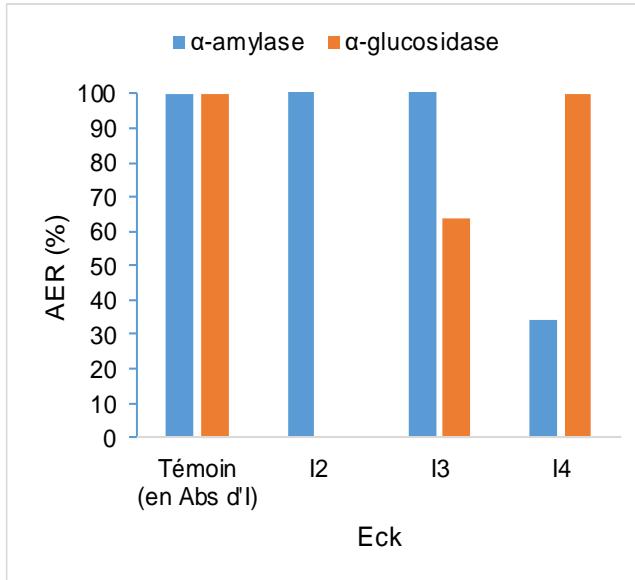
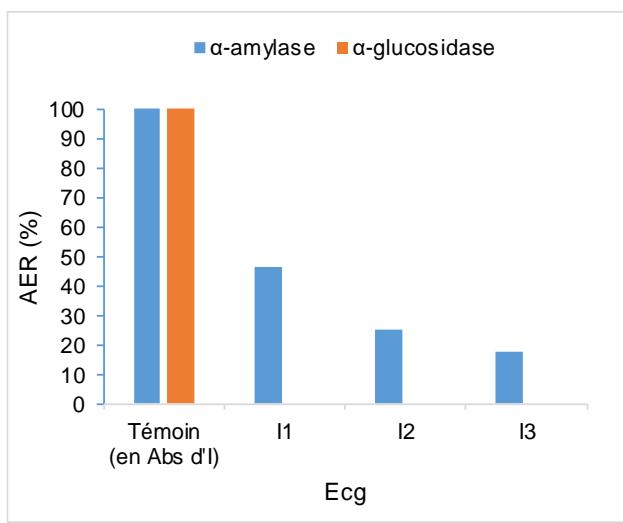


Figure 3 : Activité enzymatique de l' α -amylase et l' α -glucosidase en absence et en présence des différentes fractions peptidiques Ecg, Eck et Ema.

AER : Activité enzymatique résiduelle ; **Abs** : absence ; **Ecg** : échantillon de courge ; **Eck** : échantillon de chenille de karité ; **Ema** : échantillon de marguerite ; **I** : inhibiteur.

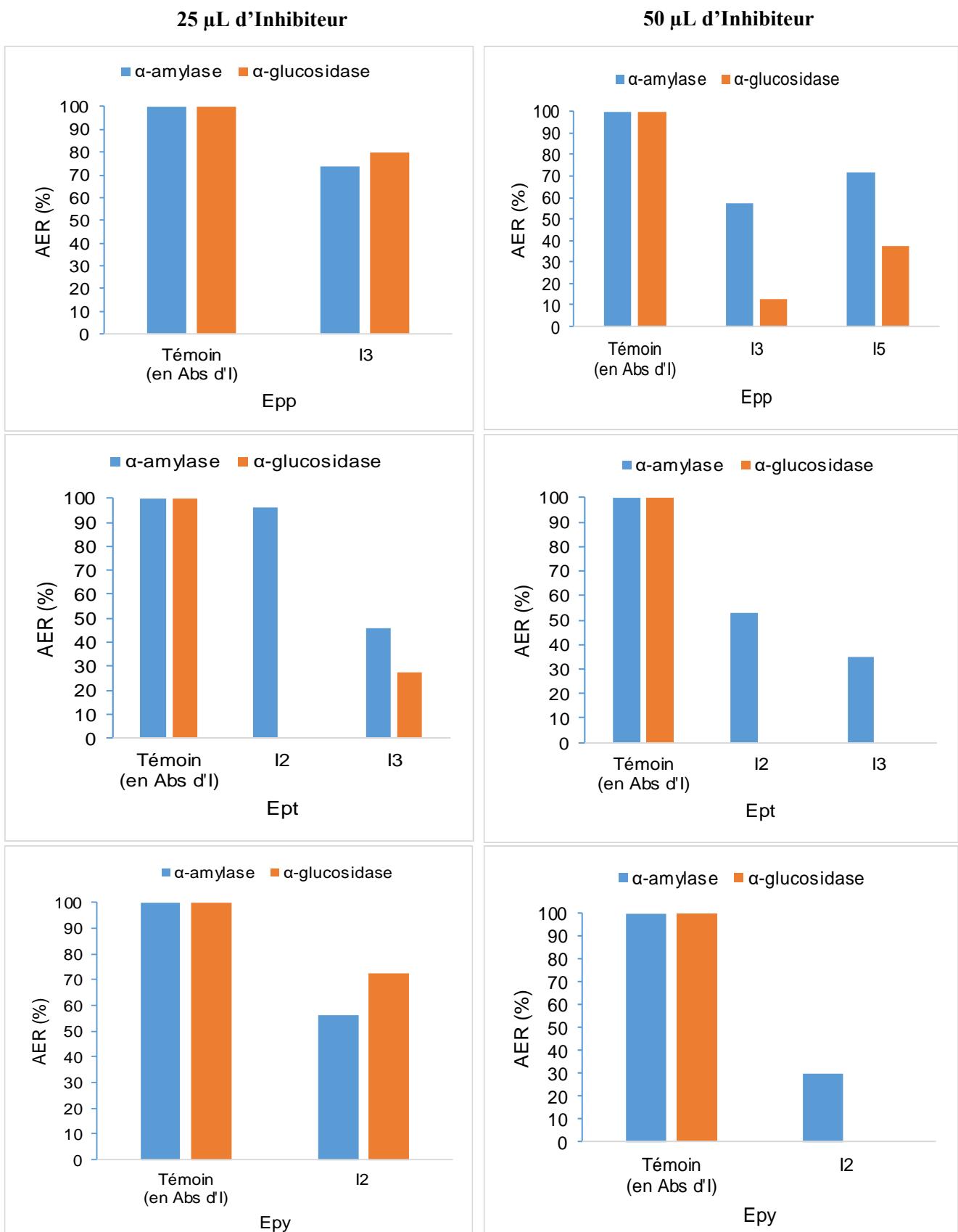


Figure 4 : Activité enzymatique de l' α -amylase et l' α -glucosidase en absence et en présence des différentes fractions peptidiques Epp, Ept et Epy

AER : Activité enzymatique résiduelle ; **Abs :** absence ; **Epp :** échantillon de pourpier ; **Ept :** échantillon de pastèque, **Epy :** échantillon de papaye ; **I :** inhibiteur.

Cette activité α -amylasique varie de 12 % à 52,63 % respectivement pour I3/I4 de chenille de karité et I2 de pastèque par rapport aux témoins sans effecteurs (100 % d'activité α -amylasique et α -glucosidasique). Ces effecteurs présentent de très bons effets inhibiteurs sur ces enzymes clés du métabolisme du diabète de type 2.

Avec l'utilisation de 25 μ L d'effecteur, les fractions peptidiques I1, I2, I3 de courge, I2, I3, I4 de chenille de karité, I2, I3 de pastèque et I2 de papaye présentent une activité α -glucosidasique qui varie de 00 % à 100 % respectivement pour les fractions I2 de pastèque et I4 de chenille de karité puis une activité α -amylasique qui varie de 28 % pour la fraction I3 de courge à 100 % pour les fractions I2 et I3 de chenille de karité par rapport au témoin sans effecteur (100 % d'activité enzymatique résiduelle de l' α -amylase et de l' α -glucosidase). Ainsi, l'effet inhibiteur des fractions peptidiques n'est pas bien perçu avec ce volume de 25 μ L.

Concernant les fractions peptidiques I2, I3 de marguerite et I3, I5 de pourpier, l'utilisation d'un volume de 50 μ L comme effecteur, indique une faible activité α -glucosidasique et α -amylasique. En effet, l'activité α -glucosidasique la plus faible est de 12,50 % pour la fraction I3 du pourpier et la plus élevée est de 37,50 % pour la fraction I5 de pourpier. Quant à l'activité α -amylasique, la plus petite activité est de 16 % pour la fraction I3 de marguerite et la plus grande est de 71,43 % pour la fractions I5 de pourpier. Ces activités en présence de fractions peptidiques ont été comparées au témoin sans fraction peptidique (100 % d'activité enzymatique résiduelle de l' α -amylase et de l' α -glucosidase). Il en ressort que ces différentes fractions peptidiques expriment un effet inhibiteur sur les enzymes α -glucosidase et α -amylase impliquées dans la régulation du diabète de type 2.

Avec un volume de 25 μ L, les fractions peptidiques I2, I3 de marguerite et I3 de pourpier utilisées comme effecteurs, présentent de très bonnes activités α -glucosidasique et α -amylasique. L'activité α -glucosidasique est de 63,31 % pour la fraction I2 de marguerite et 80 % pour la fraction I3 de pourpier puis l'activité α -amylasique est 29,25 % pour la fraction I3 de marguerite et de 73,56 % I3 de pourpier. Les différentes fractions peptidiques exercent également un effet inhibiteur sur l' α -glucosidase et l' α -amylase.

III.1.4- Tests d'inhibition des différents extraits

Le **tableau V** présente le taux d'inhibition de l' α -amylase et de l' α -glucosidase pour 25 μ L et 50 μ L de l'acarbose ou de fraction collectée à l'issue de la chromatographie d'exclusion moléculaire des différents extraits peptidiques.

L'analyse statistique révèle que dans l'échantillon de courge, avec 25 μ L d'inhibiteur des différentes fractions I1, I2 et I3, le taux d'inhibition de l' α -glucosidase est de $36,29 \pm 0,26$ % pour la

Tableau V : Taux d'inhibition de l' α -amylase et de l' α -glucosidase pour 25 μ L et 50 μ L de l'acarbose ou de fraction collectée à l'issue de la chromatographie d'exclusion moléculaire des différents extraits peptidiques

| Echantillons | 25 μ L de fraction | | 50 μ L de fraction | |
|-----------------|---|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| | α -amylase (%) | α -glucosidase (%) | α -amylase (%) | α -glucosidase (%) |
| Acarbose | 26,98 \pm 0,05 ^a | 90,92 \pm 0,08 ^a | 100 \pm 0,00 ^a | 100 \pm 0,00 ^a |
| | I1 51,47 \pm 0,50 ^b | 54,78 \pm 0,22 ^b | 53,72 \pm 0,24 ^c | 100 \pm 0,00 ^a |
| Ecg | I2 46,53 \pm 0,50 ^c | 90,98 \pm 0,07 ^a | 75,30 \pm 0,27 ^b | 100 \pm 0,00 ^a |
| | I3 72,91 \pm 0,15 ^a | 36,29 \pm 0,26 ^c | 82,14 \pm 0,15 ^a | 100 \pm 0,00 ^a |
| | I2 0,00 \pm 0,00 ^b | 100 \pm 0,00 ^a | 80,33 \pm 0,58 ^b | 100 \pm 0,00 ^a |
| Eck | I3 0,00 \pm 0,00 ^b | 36,57 \pm 0,37 ^b | 88,14 \pm 0,12 ^a | 100 \pm 0,00 ^a |
| | I4 65,93 \pm 0,07 ^c | 0,00 \pm 0,00 ^c | 88,40 \pm 0,30 ^a | 100 \pm 0,00 ^a |
| Ema | I2 60,50 \pm 0,06 ^b | 36,87 \pm 0,16 ^a | 80,33 \pm 0,58 ^b | 82,70 \pm 0,26 ^a |
| | I3 70,93 \pm 0,16 ^a | 21,86 \pm 0,15 ^b | 84,33 \pm 0,58 ^a | 65,46 \pm 0,35 ^b |
| Epp | I3 26,91 \pm 0,44 ^a | 20,58 \pm 0,52 ^a | 42,95 \pm 0,08 ^a | 87,46 \pm 0,45 ^a |
| | I5 - | - | 28,63 \pm 0,08 ^b | 62,44 \pm 0,42 ^b |
| Ept | I2 4,07 \pm 0,21 ^b | 100 \pm 0,00 ^a | 47,44 \pm 0,06 ^b | 100 \pm 0,00 ^a |
| | I3 54,48 \pm 0,38 ^a | 72,50 \pm 0,43 ^b | 64,97 \pm 0,11 ^a | 100 \pm 0,00 ^a |
| Epy | I2 43,71 \pm 0,30 ^a | 27,41 \pm 0,17 ^a | 70,15 \pm 0,06 ^a | 100 \pm 0,00 ^a |

Chaque valeur représente la moyenne et l'écart type issus de l'analyse statistique des trois essais. Les différentes lettres (a,b et c) observées dans une même colonne pour un même échantillon, indiquent une différence statistique au seuil de 5 % ($p < 0,05$). **Ecg** : échantillon de courge ; **Eck** : échantillon de chenille de karité ; **Ema** : échantillon de marguerite ; **Epp** : échantillon de pourpier ; **Ept** : échantillon de pastèque, **Epy** : échantillon de papaye.

fraction I3, de $54,78 \pm 0,22$ % pour la fraction I1 et de $90,98 \pm 0,07$ % pour la fraction I2 puis le taux d'inhibition de l' α -amylase est de $46,53 \pm 0,50$ % pour la fraction I2, de $51,47 \pm 0,50$ % pour la fraction I1 et de $72,91 \pm 0,15$ % pour la fraction I3 comparativement à l'acarbose qui inhibe l' α -glucosidase à $90,92 \pm 0,08$ % et l' α -amylase à $26,98 \pm 0,05$ %. Avec 50 μL d'inhibiteur des différentes fractions de courge, le taux d'inhibition de l' α -glucosidase est de 100 % pour chacune des fractions I1, I2 et I3, puis l'inhibition de l' α -amylase est de $53,57 \pm 0,24$ % pour la fraction I1, de $75,30 \pm 0,27$ pour la fraction I2 et de $82,14 \pm 0,15$ pour la fraction I3 comparativement à l'acarbose qui inhibe totalement l' α -glucosidase et de l' α -amylase (100 % d'inhibition de l' α -glucosidase et de l' α -amylase).

Dans l'échantillon de chenille de karité, l'analyse statistique montre qu'avec 25 μL d'inhibiteur des fractions I2, I3 et I4, le taux d'inhibition de l' α -glucosidase est de 0 % pour la fraction I4, de $36,57 \pm 0,37$ pour la fraction I3 et de 100 % pour I2, puis le taux d'inhibition de l' α -amylase est de 0 % pour les fractions I2 et I3 et de $65,93 \pm 0,07$ % pour la fraction I4 comparativement à l'acarbose qui inhibe l' α -glucosidase à $90,92 \pm 0,08$ % et l' α -amylase à $26,98 \pm 0,05$ %. Avec 50 μL d'inhibiteur des différentes fractions de chenille de karité, le taux d'inhibition de l' α -glucosidase est de 100 % pour chacune des fractions I2, I3 et I4 puis le taux d'inhibition de l' α -amylase est de $80,33 \pm 0,58$ % pour la fraction I2, de $88,14 \pm 0,12$ % pour la fraction I3 et $88,40 \pm 0,30$ % pour la fraction I4 de chenille de karité, comparativement à l'acarbose qui inhibe totalement l' α -glucosidase et de l' α -amylase (100 % d'inhibition de l' α -glucosidase et de l' α -amylase).

Pour l'échantillon de marguerite, l'analyse statistique révèle qu'avec 25 μL d'inhibiteur des fractions I2 et I3, le taux d'inhibition de l' α -glucosidase est de $21,86 \pm 0,15$ % pour la fraction I3 et de $36,87 \pm 0,16$ % pour la fraction I2, puis le taux d'inhibition de l' α -amylase est de $60,50 \pm 0,06$ % pour la fraction I2 et de $70,93 \pm 0,16$ % pour la fraction I3 comparativement à l'acarbose qui inhibe l' α -glucosidase à $90,92 \pm 0,08$ % et l' α -amylase à $26,98 \pm 0,05$ %. Avec 50 μL d'inhibiteur des différentes fractions, le taux d'inhibition de l' α -glucosidase est de $65,46 \pm 0,35$ pour la fraction I3 et de $82,70 \pm 0,26$ % pour la fraction I2 puis l'inhibition de l' α -amylase est de $80,33 \pm 0,58$ pour la fraction I2 et de $84,33 \pm 0,58$ % pour la fraction I3 comparativement à l'acarbose qui inhibe totalement l' α -glucosidase et de l' α -amylase (100 % d'inhibition de l' α -glucosidase et de l' α -amylase).

Concernant l'échantillon du pourpier, l'analyse statistique montre qu'avec 25 μL d'inhibiteur de la fraction I3, le taux d'inhibition de l' α -glucosidase est de $20,58 \pm 0,52$ % puis le taux d'inhibition de l' α -amylase est de $26,91 \pm 0,44$ % comparativement à l'acarbose qui fait $90,92 \pm 0,08$ % d'inhibition de l' α -glucosidase et $26,98 \pm 0,05$ % d'inhibition de l' α -amylase. Avec 50 μL d'inhibiteur des différentes fractions I3 et I5, le taux d'inhibition de l' α -glucosidase est $62,44 \pm 0,42$ pour la fraction I5 et de $87,46 \pm 0,45$ % pour la fraction I3 puis l'inhibition de l' α -amylase est de

$28,63 \pm 0,08$ % pour la fraction I5 et de $42,95 \pm 0,08$ % pour la fraction I3 comparativement à l’acarbose qui inhibe totalement l’ α -glucosidase et de l’ α -amylase (100 % d’inhibition de l’ α -glucosidase et de l’ α -amylase).

L’analyse statistique au niveau de l’échantillon de pastèque, indique qu’avec 25 μL d’inhibiteur des différentes fractions I2 et I3, le taux d’inhibition de l’ α -glucosidase est de $72,50 \pm 0,43$ % pour la fraction I3 et de $100 \pm 0,00$ % pour la fraction I2 puis le taux d’inhibition de l’ α -amylase est de $4,07 \pm 0,21$ % pour la fraction I2 et de $54,48 \pm 0,38$ pour la fraction I3 comparativement à l’acarbose qui inhibe l’ α -glucosidase à $90,92 \pm 0,08$ % et l’ α -amylase à $26,98 \pm 0,05$ %. Avec 50 μL d’inhibiteur des différentes fractions de pastèque, le taux d’inhibition de l’ α -glucosidase est de 100 % pour chacun des fractions I2 et I3 puis l’inhibition de l’ α -amylase varie de $47,44 \pm 0,06$ % à $64,97 \pm 0,11$ % respectivement pour les fractions I2 et I3 comparativement à l’acarbose qui inhibe totalement l’ α -glucosidase et de l’ α -amylase (100 % d’inhibition de l’ α -glucosidase et de l’ α -amylase).

En ce qui concerne l’échantillon de papaye, l’analyse statistique révèle qu’avec 25 μL d’inhibiteur de la fraction I2, le taux d’inhibition de l’ α -glucosidase est de $27,41 \pm 0,17$ % puis le taux d’inhibition de l’ α -amylase est de $43,71 \pm 0,30$ % comparativement à l’acarbose qui inhibe l’ α -glucosidase à $90,92 \pm 0,08$ % et l’ α -amylase à $26,98 \pm 0,05$ %. Avec 50 μL d’inhibiteur de la fraction I2, le taux d’inhibition de l’ α -glucosidase est de $100 \pm 0,00$ % et celui de l’ α -amylase est de $70,15 \pm 0,06$ % pour la fraction I2 comparativement à l’acarbose qui inhibe totalement l’ α -glucosidase et de l’ α -amylase (100 % d’inhibition de l’ α -glucosidase et de l’ α -amylase).

III.2- Discussion

Dans la présente étude, les résultats obtenus avec les extraits bruts indiquent que les teneurs en protéines pour la chenille de karité sont de $4,70 \pm 0,47$; pour les graines de courge, de $4,55 \pm 0,85$; pour les graines de papaye, de $4,15 \pm 0,48$; pour les graines de pastèque, de $4,89 \pm 0,31$; pour les feuilles de marguerite, de $1,41 \pm 0,31$ et pour les feuilles de pourpier, de $1,17 \pm 0,13$. Ces teneurs sont respectivement inférieures à celles obtenues par **Gnissien (2016)**, **Oumar (1981)**, **Fabert (2011)**, **Enzonga-Yaca et al. (2011)**, **Carlos et al. (2022)** et par **Mohamed et Hussein (1994)**. Ces faibles teneurs en protéines pourraient s’expliquer par la différence de méthodes de dosage utilisée, mais aussi par les conditions climatiques et environnementales des zones d’études. Toutefois, ces agroressources restent une source protéique dont l’exploitation pourraient générer des biopeptides d’intérêts thérapeutiques.

Le traitement au sulfate d’ammonium des différents extraits bruts a permis de booster les rendements en protéines des échantillons de chenilles karité et de graines de papaye par rapport aux

échantillons de graines de courge, de graines de pastèque, des feuilles des feuilles de marguerite et de pourpier. En effet, la saturation au sulfate d'ammonium des différents extraits protéiques augmente leur force ionique en sel. La hausse de cette force ionique permettrait à la totalité des protéines de se condenser et de précipiter, d'où l'augmentation des rendements en protéines des différents extraits (Admin, 2021). Les échantillons de graines de courge, de graines de pastèque, des feuilles marguerite et de pourpier ayant des rendements en protéines inférieurs à leurs extraits bruts pourraient être dûs à une précipitation incomplète ou à la complexation des protéines à d'autres molécules empêchant leur quantification.

L'hydrolyse thermique des différents extraits précipités a permis d'augmenter les teneurs en protéines des échantillons de graine de courge, graines de pastèque, des feuilles de marguerite et de pourpier par rapport aux échantillons de graines de papaye et de chenille de karité. Les protéines, sous leurs formes natives adoptent une structure tridimensionnelle ou quaternaire. Sous l'effet de la chaleur, la structure tridimensionnelle se désorganise du fait de la rupture de liaisons covalentes et de basse énergie notamment les liaisons hydrogène, hydrophobe, de Van Der Waals,... (Bédikou et al., 2022a). La rupture des liaisons covalentes augmenterait le nombre de sites cationiques auxquels se lie la forme anionique du bleu de coomassie d'où l'augmentation des rendements en protéines des échantillons de graines de pastèque, des feuilles de marguerite et de pourpier (Bradford, 1976). Les rendements en protéines des échantillons de graines de papaye et de chenille de karité en dessous de leurs extraits précipités pourraient être relative au nombre de sites cationiques générés et l'incapacité du traitement calorifique (80 °C) à désorganiser la structure tridimensionnelle native des protéines.

La chromatographie d'exclusion moléculaire a permis d'éliminer les sels et les chlorophylles dans les différents extraits protéiques puis les a catégorisés en différents lots d'inhibiteurs. Pour les tests d'inhibition, deux volumes d'inhibiteurs ont été utilisés: 25 µL et 50 µL. Les meilleurs taux d'inhibition simultanée de l' α -amylase et de l' α -glucosidase ont été obtenus avec le volume d'inhibition de 50 µL. Ainsi, les inhibiteurs issus des fractions de graines de courges, de papaye, de pastèque et de chenille de karité inhibent totalement l'activité de l' α -glucosidase à 100 %. Cependant, ces extraits inhibent partiellement l'activité α -amylasique à hauteur de $47,44 \pm 0,06\%$ à $88,40 \pm 0,30\%$ respectivement pour les fractions I2 de pastèque et I4 de chenille de karité.

Les taux d'inhibition de l'activité α -amylasique et α -glucosidasique, observés avec les fractions peptidiques des feuilles de marguerites et de pourpier sont tous partielles. Comparativement à l'acarbose (inhibiteur de référence), l'inhibition simultané de l'activité α -amylasique et α -glucosidasique est effective à 100 %.

Les résultats obtenus ont indiqué que la fraction I2 de l'échantillon de courge est le meilleur inhibiteur car l'utilisation de 25 µL de cet extrait permet d'inhiber simultanément l' α -amylase à hauteur de $46,53 \pm 0,50\%$ et l' α -glucosidase à $90,98 \pm 0,07\%$ comparativement à l'acarbose qui

inhibe l’ α -amylase à $26,98 \pm 0,05$ % et l’ α -glucosidase à $90,92 \pm 0,08$ %. Les taux d’inhibition de la fraction I2 de l’échantillon de courge sont supérieurs à celui de Doué et al. (2021) obtenus sur les dialysats de protéines de graines de soja germés (83,44 % pour l’ α -amylase, puis < 20% pour l’ α -glucosidase) et de haricot voandzou germés (79,31 % pour l’ α -glucosidase, puis < 40 % pour l’ α -amylase). Ces taux d’ inhibitions sont comparable à celui de Kadjo (2020), obtenu sur le traitement thermique des extraits protéiques de levure *Saccharomyces cerevisiae* et du mollusque *Achatina achatina* à 80 °C qui inhibent totalement l’ α -amylase et l’ α -glucosidase.

Selon Auvray et al. (2012), les biopeptides à effet hypoglycémiant utilisés dans le traitement du diabète sont de petits peptides. Ainsi, les différentes fractions des extraits peptidiques ayant des effets d’inhibition plus ou moins prononcés sur l’ α -amylase et l’ α -glucosidase pourraient être des peptides de faible poids moléculaires, voire inférieures à 10 kDa (Doué et al 2021). Ces biopeptides pourraient être utilisés dans les industries agroalimentaires pour la production des nutraceutique, puis dans la pharmacopée pour la production des médicaments antidiabétiques à moindre coût.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

La présente étude avait pour objectif de répertorier dans l'agroressources ivoiriennes, des ressources riches en protéines, susceptibles de contenir des biopeptides d'intérêt thérapeutique, en vue de leur utilisation future pour la régulation du diabète de type 2. Les travaux ont porté sur 6 ressources à savoir les graines de courge, de papaye et de pastèque, la chenille de karité, les feuilles de marguerite et de pourpier. Ces agroressources contiennent des protéines dont les teneurs varient d'un échantillon à l'autre et à chaque étape de leur traitement.

Le traitement des différents échantillons a abouti à l'obtention d'extraits peptidiques inhibiteurs des principales enzymes (l' α -amylase et l' α -glucosidase) impliquées dans le métabolisme du diabète de type 2. Au total, treize (13) extraits inhibiteurs ont été mis en évidence dont trois (I2, I3 et I4) issus des chenilles de karité et un (I2) issu des graines de courges ont présenté des taux d'inhibition de l' α -amylase et de l' α -glucosidase supérieurs ou égaux à celui observé avec l'acarbose, un antidiabétique de référence.

Les 13 inhibiteurs issus de l'agroressources de Côte d'Ivoire ayant des effets prononcés dans l'inactivation de l' α -amylase et de l' α -glucosidase pourraient servir dans la pharmacopée pour le traitement du diabète de type 2.

En perspective, des études plus approfondies permettront :

- la purification des biopeptides impliqués dans l'inhibition de l' α -amylase et de l' α -glucosidase ;
- la caractérisation physicochimique et moléculaire de ces biopeptides ;
- l'utilisation des extraits purifiés dans des essais de régulation *in vivo* de la glycémie sur des rats diabétiques.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Admin, 2021. Précipitation des protéines au sulfate d'ammonium / la clé du salage. Rectech. Article disponible en ligne sur : <https://rtt-translations.com/fr/pr%C3%A9cipitation-des-prot%C3%A9ines-au-sulfate-d'ammonium-la-cl%C3%A9-du-salage/>

Akinfemiwa O., Zubair M. & Muniraj T. 2022. Amylase. *StatPearls*. [En ligne], consulté le 10/10/2023. Disponible sur : [Ammase - StatPearls - NCBI Bookshelf \(nih.gov\)](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK550622/)

Alberti KGMM & Zimmet PZ, 1998. For the WHO consultation. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. *Diabet Med*; **15** :539–53.

Alqahtani A. S., Hidayathulla S., Rehman M. T., ElGamal A. A., Al-Massarani S., Razmovski-Naumovski V., Mohammed S. Alqahtani M. S., El Dib R. A. & AlAjmi M. F., 2020. Alpha-Amylase and Alpha-Glucosidase Enzyme Inhibition and Antioxidant Potential of 3-Oxolupenal and Katononic Acid Isolated from *Nuxia oppositifolia*. *Biomolecules*, **10**(61) : 2-19.

Anonymous 1., 2022. Graines de courge : utilisations et bienfaits nutrionnels. [En ligne], consulté le 15/01/2023. Disponible sur : <https://www.compagnie-des-sens.fr/graines-de-courge/>,

Anonymous 2, 2023. Photographie de *Tithonia diversifolia*. [En ligne], disponible sur : [tithonia diversifolia - Bing images](https://www.bing.com/images/search?q=tithonia+diversifolia) , consulté le 01/09/2023.

Auvray P., Duval E., Baron A., Chauvin C., Hesry V. & Jouquan D., 2012. Bosseboeuf Peptides isolés et purifiés à partir de testicules de roussettes. Demande Internationale Publiée en Vertu du Traité de Coopération en Matière de Brevets. 48 p

Bédikou E. M., Rajan L., Niamké S. L. & Palaniswamy D., 2020. A Rapid Technique for Plant Peptides Isolation Based on their Polarity by Using BIOTAGE Isolera One Flash Chromatography. *Journal of Chromatography & Separation Techniques*, **11**(427) Iss.2 : 1-5.

Bédikou M., Charlotte E., Jennifer T., Jean-Claude D. & Sébastien N., 2022a. Protein hydrolysates of a probiotic strain of *Lactobacillus plantarum* as new promising sources of inhibitors for diabetes regulatory enzymes. *Research Journal of Biotechnology*, **17**(11) : 1-7.

Bédikou M., Ehon C., Tchuéré J., Dossa J. & Niamké S., 2022b. Introducing New Peptide Extracts from *Saccharomyces cerevisiae* and *Achatina achatina* Fluids with Strong Inhibitory Activities on Human α -Amylase. *Scientific Research Publishing*, **10** : 226-239.

Bédou K. D., 2019. Evaluation de l'activité inhibitrice des fruits de *bauhinia thonningii* (fabaceae) sur deux glycosidases et essai de traitement du diabète chez le rat *wistar*. Thèse de doctorat, à l'Université Félix Houphouet Boigny. 168 p.

- Berriha A. & Boukhris A. 2019.** Effet des extraits de polysaccharides sur l'inhibition de l' α glucosidase et de l' α -amylase. Mémoire de master académique, université Kasdi Merbah, Ouargla faculté des sciences de la nature et de la vie département des sciences biologiques, Ouargla, Algérie, 55 p.
- Bendali A., 2005.** Production de sirop de glucose par hydrolyse acide et enzymatique de l'amidon de maïs et obtention du sorbitol par hydrogénéation catalytique. Mémoire de Master de génie des procédés, faculté des sciences de l'ingénieur, Université Saad Dahlab, Blida, Algérie, 105 p.
- Bradford M. M., 1976.** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dey Binding. *Analytical, Biochemistry* **72** : 248-254.
- Buysschaert M. 2018.** Les sulfamidés hypoglycémiants en 2018 : Généralités et spécificités. *Louvain medical*, **137**: 1-6.
- Carlos O, Danis M. V, Luis G. H. M, Alcibiades O. R, Jorge L. R. R. & Yordan M. A 2022.** Chemical composition of the foliage mealof Tithonia diversifolia. *Enfoque UTE* **13**(4) : 1-10.
- Clare, D. A., & Swaisgood, H. E. 2000.** Bioactive milk peptides: A prospectus. *Journal of Dairy Science*, **83** : 1187–1195.
- Decaffmeyer M., Thomas A. & Brasseur R. 2008.** Les médicaments peptidiques : mythe ou réalité ? *Biotechnology, Agronomy, Society and Environnement*, **12** : 81-88.
- Doué G. G., Mégnanou R. M. & Zoué T. L., 2021.** Multifunctional Bioactive Peptides from Germinated Soy (Glycin max) and Voandzou (Vigna subterranea) Beans: In-vitro Anti-Diabetic Potential through α amylase α -glucosidase Inhibition, and Antioxidant Ability by DPPH Reducing. *Euopean Jurnal of Nutrition & Food safety*, **13**(11) : 20-21.
- ECDCDM, 1997.** Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* ; **20** : 1183-97.
- Eric B. M. D., Deog H. O. & Byong H.L (2017).** Bioactive peptides. *Food Proteins and Bioactive Peptides*, **6**(5) : 1-21.
- Fabert C. M., 2011.** Le papayer, *Carica papaya* L., de la medecine traditionnelle a la medecine actuelle : études botanique et pharmacognosique. Thèse de doctorat. Université de LIMOGES, 115 p.
- Farnsworth N. R., Akerele O., Bingel A. S., Soejarto D. D. et Guo Z. 1986.** Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. *Bulletin de l'organisation mondiale de la santé.*, **64**(2) : 159-164.

FID (Fédération Internationale du diabète), 2019. L'atlas du diabète de la FID. 9ième édition : 176p. PDF disponible sur : [*20200302_133352_2406-IDF-ATLAS-FRENCH-BOOK.pdf \(diabetesatlas.org\)](http://*20200302_133352_2406-IDF-ATLAS-FRENCH-BOOK.pdf (diabetesatlas.org))

Fournier V. 2012. Intérêts des hydrolysats protéiques et des biopeptides alimentaires en santé humaine et animale, Peptides issus des procédés d'hydrolyses filières industrielles, 2-3 octobre 2012, paris-Romainville, France, p 22.

Fruits d'Outre-Mer, 1946. La papaye. *CIRAD Journal*, 1(11) : 340-344

Guillausseau P. J, Laloi-Michelin M. 2003. Physiopathologie du diabète de type 2. *La revue de médecine interne*. 24 : 730-737.

Gnisié M., 2016. Effets des déjections de chenilles de karité (*Cirina butyrospermii* Vuillet, 1960) sur la fertilité du sol et la production du maïs dans l'Ouest du Burkina. Mémoire de fin du cycle du diplôme d'ingénieur option agronomie. Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso. Burkina Faso. 53 p.

Jardiner M., 2022. Graine de courge : utilisation et bienfaits. [En ligne], consulté le 15/01/2023. Disponible sur : [Graines de courge : bienfaits et vertus pour la santé \(jardiner-malin.fr\)](http://Graines de courge : bienfaits et vertus pour la santé (jardiner-malin.fr)).

Jouli L. R., 2001. Médecine Nucléaire –Imagerie fonctionnelle et métabolique. *Academia*, 25(2) : 91-93.

Kadjo B. A. M., 2020. Production de peptides inhibiteurs de l'activité amylolytique à partir d'hydrolysats protéiques de la levure *Saccharomyces cerevisiae* et du mollusque *achatina achatina* pour la régulation du diabète de type 2. Mémoire de Master, Université Felix Houphouët-Boigny, RCI.

Kajaria D., Tiwari S., Tripathi J. & Tripathi Y. 2013. Ranjana In-vitro amylase and glycosidase inhibitory effect of ethanolic extract of antiasthmatic drug-Shirishadi. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research.*, 4 : 206–209.

Kandungu J., Anjarwalla P., Mwaura L., DA Ofori, Jamnadass R., Stevenson PC & Smith P. 2013. Pesticidal plant leaflet : *Tithonia diversifolia* (Hemsley) A. Gray. *Royal Botanic Gardens*. ISBN 978-92-9059-347-8. 2 p

Lee Y. C., Chang C. H., Dong Y. H., Lin J. W., Wu L. C., Hwang J. S. & Chuang L. M. 2017. Comparing the risks of hospitalized heart failure associated with glinide, sulfonylurea, and acarbose use in type 2 diabetes: A nationwide study. *International Journal of Cardiology*, 228 : 1007-1014.

Loffet A. 2002. Peptides as drugs: is there a market? *Journal of peptide science*, 8 : 1-7.

Lys A. Aglinglo, Christel F. Azon, Eric C. Lègba, Djido Ulrich, Chaldia O. Agossou, Rachidi Francisco, Nicodème V. Fassinou Hotègni, Enoch G. & Achigan-Dako, 2018. Fiche

- technique synthétique pour la production de la pastèque (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. et Nakai.). *Laboratory of Genetics Horticulture and Seed Science (GBioS)* : 5p.
- Mohamed A. I. & Hussein A. S., 1994.** Chemical composition of purslane (*Portulaca oleracea*). *Plant Foods for Human Nutrition* **45** : 1-9.
- Mora L., Aristoy M-C & Toldra F. (2019).** Bioactive Peptides. *Elsevier* : 1-9
- Nasri (2017).** Protein Hydrolysates and Biopeptides: Production, Biological Activities, and Applications in Foods and Health Benefits. A Review. *Advances in Food and Nutrition Research* : 1-50.
- NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC), 2016.** Worldwide trends in diabetes since 1980 : a pooled analysis of 751 population-based studies with 4,4 million participants. *Lancet*, **387** : 1513-1530.
- Niang. A. I., 1987.** Note Préliminaire sur deux espèces à usage multiple (*Acacia albida* del. et *Butyrospermum parkii* G. don (karité)). Bibliothèque UA/SAFGRAD, Ouagadougou. 50 p.
- Norbert H. F. 2021.** Graine de courge : bienfaits, calorie, danger, prostate. Le journal des Femmes Santé. [En ligne] : <https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-nutrition/2752807-graine-de-courge-bienfaits-calories-danger-valeur-nutritionnelle-huile-prostate/>, consulté le 14/01/2023 à 23H10.
- Pieper-Bigelow C., Strocchi A. & Levitt M. D., 1990.** Where does serum amylase come from and where does it go? *Gastroenterology Clinics of North American*. **19**(4) : 793-810.
- Olivier L., 2021.** Utilisation de *Tithonia diversifolia* (Tournesol mexicain) en Afrique de l'Ouest. Agricultures. [En ligne] : [Utilisation de *Tithonia diversifolia* \(Tournesol mexicain\) en Afrique de l'Ouest | DEFI-Écologique : le blog \(defi-ecologique.com\)](https://defi-ecologique.com/2021/01/06/utilisation-de-tithonia-diversifolia-tournesol-mexicain-en-afrique-de-l-ouest/), consulté le 06/01/2023 à 11h45.
- OMS., 2016.** Rapport mondial sur le diabète. ISBN 978 92 4 256525 6. 88 p.
- OMS., 2022** : Site internet [en ligne], consulté le 29 septembre 2022 : Diabète (who.int).
- Oumar M. S., 1981.** Etude de la composition chimique et de la valeur nutritionnelle de quelques du Sénégal. Rapport de stage. *ORSTOM – NUTRION*, 37 p.
- Raccah D., 2004.** Epidémiologie et physiopathologie des complications dégénératives du diabète sucré. *EMC-Endocrinologie*. **1**(1) : 29-42.
- Ralph A. DeFronzo, Ele Ferrannini, Leif G., Robert R. H, William H. H, Jens J. H, Frank B. Hu, C. Ronald K., Itamar Raz, Gerald I. Shulman, Donald C. S., Marcia A. T. & Ram W., 2015.** Diabète de type 2. *Macmillan Publisher limited*. **1** : 1-22.

- Romain K., 2012.** Génération d'hydrolysats protéiques et enrichissement en peptides bioactifs : vers une production intégrative ciblée. Peptides issus des procédés d'hydrolyses filières industrielles, colloque Adebiotech-SFGP. 13 p.
- Sanjukta, S.; Rai, A.K.; Muhammed, A.; Jeyaram, K.; Talukdar, N.C 2015.** Enhancement of antioxidant properties of two soybean varieties of sikkim himalayan region by proteolytic *Bacillus subtilis* fermentation. *Journal of Functional Foods*, **14** : 650-658.
- Sanon S. L., (2005).** Valeurs nutritionnelles des « chitoumous ». Communication présentée à la conférence du 11 Août, Bobo-Dioulasso, 5 p.
- Schlienger J. L., (2013).** Les complications du diabète de type 2. Presse med ; **42** : 839-848.
- Schlienger J. L. (2018).** 1889-1899 : dix années déterminantes de l'histoire du diabète. *Médecine des maladies métaboliques*. **12**(2) : 107-111.
- Seuring T, Archangelidi O, & Suhrcke M., 2015.** The economic costs of type 2 diabetes : A global systematic review. *Pharmaco Economics*; **33**(8) : 811-31.
- Seyar R., 2021.** Caractérisations pharmacologiques des aubergines et effets sur quelques paramètres biochimiques chez les diabétiques. Mémoire de Master ; Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf Mila. 72 p.
- Spiller H. A. & Sawyer T. S., Pharm D. 2006.** Toxicology of oral antidiabetic medications. AJHP: American Journal of Health-System Pharmacy, **63** : 929-938.
- Stéphanie G., 2018.** En Côte d'Ivoire, le diabète est un tueur silencieux. [En ligne] : <https://www.lefigaro.fr/international/2018/09/26/01003-20180926ARTFIG00324-en-cote-d-ivoire-le-diabete-un-tueur-silencieux.php>, consulté le 20/01/2023.
- Sudha, P., Zinjarde S. S., Bhargava S. Y. & Kumar A. R., 2011.** Potent-amylase inhibitory activity of Indian Ayurvedic medicinal plants. *BMC Complement. Altern. Med*, **11**, 5.
- Terra W. R. & Ferreira C., 2012.** Biochemistry and Molecular Biology of Digestion. *Insect Molecular Biology and Biochemistry* : 365-418
- Vogel, H. J., Schibli, D. J., Jing, W., Lohmeier-Vogel, E. M., Epand, R. F., & Epand, R. M. 2002.** Towards a structure-function analysis of bovine lactoferricin and related tryptophan- and arginin-containing peptides. *Biochemistry and Cell Biology*, **80** : 49-63.
- Willis T., 1674.** - *Pharmaceutice rationalis, sive, Diatriba de medicamentorum operationibus in humano corpore*. [Oxford] : E. Theatro Sheldoniano, Prostant apud Robertum Scott Biblioplam Londinensem, M. DC. LXXIV [1674]. pp. [1]-[6] at end. Available from <https://lib.ugent.be/catalog/rug01:001562974>.
- Wu Z., Zhang M., Xie M., Dai M., Wang X., Hu B., Ye H., & Zeng X. 2016.** Extraction, characterization and antioxidant activity of mycelia polysaccharides from. *Paecilomyces hepiali HN1, Carbohydrate Polymers*, **137** : 541-548.

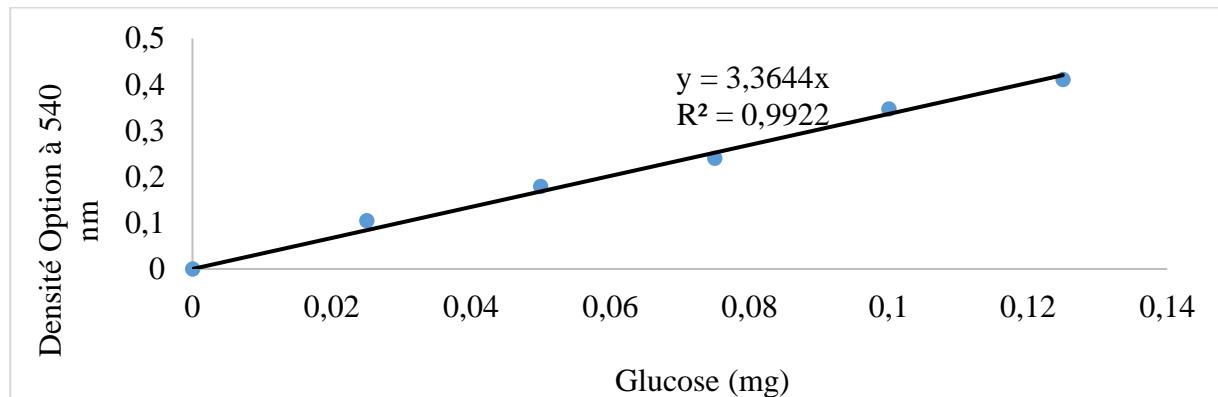
Yan-Xi Z., Hai-Liang X., Khalid R., Su-Juan W., Cheng P. & Hong Z. 2015. Portulaca oleracea L.: A review of phytochemistry and pharmacological effects. *Biomed Research International*, 11 p.

Zakowski JJ & Bruns D. E., 1985. Biochemistry of human alpha amylase isoenzymes. *Crit Rev Clin Lab Sci*, **21**(4) : 283-322.

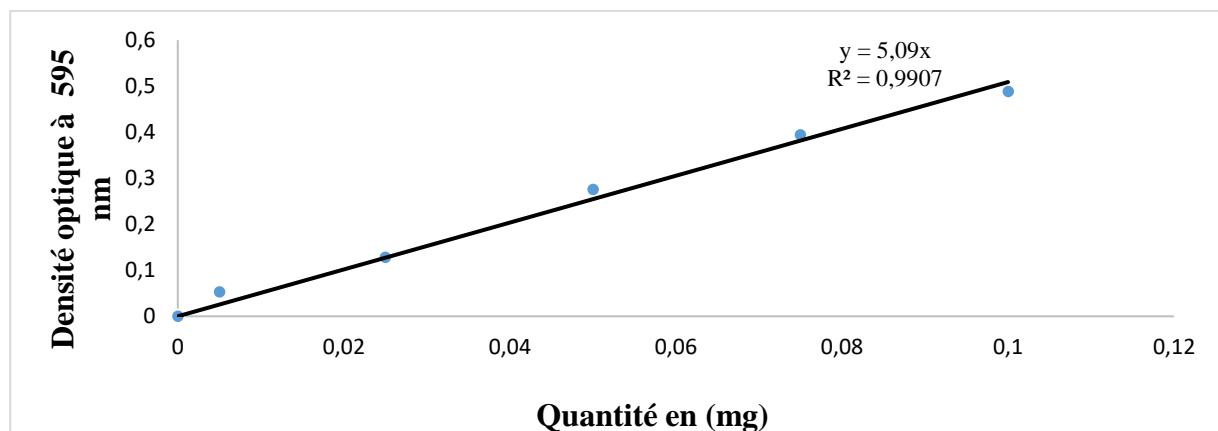
Zhang, H.; Yokoyama, W.H.; Zhang, H. 2012. Concentration-dependent displacement of cholesterol in micelles by hydrophobic rice bran protein hydrolysates. *Journal of Science of Food and Agriculture*, **92** : 1395-1401.

ANNEXES

Annexe 1 : Etalon de glucose (1 g/L)



Annexe 2 : Etalon du sérum albumine bovine (1 mg/mL)



Annexe 3 : Centrifugeât (culots et surnageant) d'extrait protéiques précipités



RÉSUMÉ

La progression du diabète de type 2 (DT2) revêt actuellement une allure pandémique. L' α -amylase et α -glucosidase sont les enzymes clés impliquées dans le métabolisme de cette maladie. La présente étude a pour but de répertorier dans l'agroressources de Côte d'Ivoire, des ressources riches en protéines susceptible de contenir des biopeptides inhibiteurs de ces enzymes pour la régulation du diabète de type 2. Ainsi, des protéines extraient des graines de courge, de papaye, de pastèque, de chenille de karité, de feuilles de marguerite et de pourpier sont précipitées au sulfate d'ammonium à 100 %, hydrolysées par la chaleur à 80 °C, puis séparées par la chromatographie d'exclusion moléculaire. Les hydrolysats obtenus sont utilisés comme effecteurs pour évaluer *in vitro* leur effet inhibiteur sur l' α -amylase et l' α -glucosidase. Tous les échantillons présentent un effet inhibiteur plus ou moins prononcé sur ces enzymes. Particulièrement, les graines de courge, de papaye, de pastèque et de la chenille de karité inhibent totalement l' α -glucosidase (100 % d'inhibition) et l' α -amylase à hauteur de $47,44 \pm 0,06$ à $88,40 \pm 0,30$ respectivement pour les graines de pastèque et de la chenille de karité. Ces résultats sont comparés à celui de l'acarbose, inhibiteur de référence qui est un excellent inhibiteur de l' α -amylase et de l' α -glucosidase. Il ressort de cette étude que les différents hydrolysats issus des graines de courge, de papaye, de pastèque, de la chenille de karité, des feuilles de marguerite et de pourpier pourraient être une alternative idéale à l'acarbose pour le traitement du diabète de type 2.

Mots clés : Agroressources de Côte d'Ivoire, biopeptides, diabète de type 2, α -amylase, α -glucosidase

ABSTRACT

The progression of type 2 diabetes (T2DM) is currently taking on a pandemic nature. α -Amylase and α -glucosidase are the key enzymes involved in the metabolism of this disease. The aim of this study is to list, in the agroresources of Côte d'Ivoire, resources rich in proteins made up of biopeptides that inhibit these enzymes for the regulation of type 2 diabetes. Thus, proteins are extracted from pumpkin seeds, papaya, watermelon, shea caterpillar, daisy leaves and purslane are precipitated with 100% ammonium sulfate, hydrolyzed by heat at 80 °C, then separated by molecular exclusion chromatography. The hydrolysates obtained are used as effectors to evaluate their inhibitory effect on α -amylase and α -glucosidase *in vitro*. All samples show a more or less pronounced inhibitory effect on these enzymes. Particularly, the seeds of pumpkin, papaya, watermelon and the shea caterpillar completely inhibit α -glucosidase (100% inhibition) and α -amylase to the extent of 47.44 ± 0.06 at 88.40 ± 0.30 respectively for watermelon and shea caterpillar seeds. These results are compared to that of acarbose, a reference inhibitor which is an excellent inhibitor of α -amylase and α -glucosidase. It emerges from this study that the different hydrolysates from the seeds of pumpkin, papaya, watermelon, shea caterpillar, daisy leaves and purslane could be an ideal alternative to acarbose for the treatment of type diabetes 2.

Keywords : Ivory Coast agriressources, biopeptides, type 2 diabetes, α -amylase, α -glucosidase.