

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
جامعة عمار ثليج
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم البيولوجيا
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie des produits naturels

THEME

**Contribution à l'étude de l'activité antioxydante et
l'effet inhibiteur sur l' -amylase de l'espèce
*Globularia alypum L***

Présenté par : M^{elle} Chelghoum Manel

Devant le jury :

Présidente : M^{me} Khacheba Ihen M.C.A

Rapporteur: M^{me} Kraza Lamia M.A.A

Examinatrice : M^{me} Boussoussa Hadjer M.C.B

Soutenu publiquement le :16/05/2017.

Résumé

Ce travail s'intéresse à l'étude de deux activités biologiques de l'espèce *Globularia alypum L* récoltés de la région d'Oued Morra Wilaya de Laghouat. Cette plante est très utilisée dans la médecine traditionnelle en Algérie dans le traitement de diabète, connue sous le nom de Tasselgha.

La quantification des phénols totaux et flavonoïdes des extraits ont montré des teneurs de 8.172 mg/g et 3.45mg/g en équivalent d'acide gallique pour l'extrait aqueux et organique respectivement, alors que la teneur en flavonoïdes a enregistré des valeurs de 2.94 mg /g et 1.12mg/g exprimées en équivalent de quercétine pour l'extrait aqueux et organique respectivement.

L'évaluation de l'activité antioxydant testée au DPPH, montre que les deux extraits présentent un pouvoir antioxydant important avec des valeurs d'EC₅₀ égale à 264 µg/ml pour l'extrait aqueux et 0.345 µg/ml pour l'extrait organique et.

De plus les deux extraits ont montré une activité inhibitrice vis-à-vis l' -amylase. Les constantes IC₅₀ ont été déterminées avec des valeurs de 1.35 mg/ml et 0.20 mg/ml pour l'extrait aqueux et organique respectivement.

Mots Clés : *Globularia alypum.L*, Composés phénoliques, Activité antioxydante, -amylase, Effet inhibiteur.

Summary

This work is interested in the study of two biological activities of the species *Globularia alypum L* collected from the area of Wed Morra wilaya de Laghouat. This plant is very much used in traditional medicine in Algeria in the treatment of diabetes, known under the name of Tasselgha.

The quantification of total phenols and flavonoïdes of the extracts showed contents of 8,172 mg/g and 3.45 mg/g, expressed as gallic acid equivalent for the aqueous and organic extract respectively, where as the content of flavonoïdes recorded values of 2.94 mg /g and 1.12 mg/g expressed as quercetin equivalent for the aqueous and organic extract respectively.

The evaluation of the antioxydant activity tested with the DPPH, shows that the two extracts present an important antioxydant power with values of EC₅₀ equal to 264 µg/ml for the aqueous extract and 0,345 µg/ml for the organic extract .

Moreover the two extracts showed an inhibitory enzymatic activity of -amylase. The constant IC₅₀ were given with values of 1.35 mg/ml and 0.20 mg/ml for the aqueous and organic extract respectively.

Key words : *Globularia alypum L*, phenolic compounds, antioxydant Activity, -amylase, Inhibitory effect.

يهتم هذا العمل نشاطين بيولوجيين *Globularia alypum L* جمعها من بولاية الاغواط تستخدم هذه النبتة على نطاق واسع في الطب التقليدي بالجزائر و ذلك لخصائصها العلاجية ضد مرض السكري و المعروفة

اظهر قياس مركبات الفينولية جمالية والفلافونويدات للمستخلصات محتويات / 3.45 / 8.172 حمض الغاليك للمستخلص المائي والعضوي على التوالي، في حين محتوى الفلافونويدات سجل قيم 2.94 / 1.12 مكافئ الكرسيتين للمستخلص المائي والعضوي على التوالي.

بينت تجربة تقييم النشاط المضاد للأكسدة باستخدام تجربة محاصرة الجذور الحرة DPPH ان كلا من المستخلصان يحمل قدرة

جيدة مع قيم EC₅₀ 264 ميكروغرام / مل للمستخلص المائي 0.345 ميكروغرام / مل للمستخلص

زيادة على ذلك اظهر كلا من المستخلصين نشاط تثبيطي لانزيم الالفا اميلاز بتسجيل قيم IC₅₀ تتراوح بين 1.35 / 0.20

الكلمات المفتاحية: *Globularia alypum L*، المركبات الفينولية، النشاط المضاد للأكسدة، الالفا اميلاز، النشاط التثبيطي .

Dédicace

*C'est avec un très grand honneur que Je dédie ce modeste travail à :
Mes chers parents que Dieu les protège pour leur patience, leur amour
leur soutien et leur encouragements,*

*A mon frère Abderrahmane ainsi qu'à toute ma
Famille, à tous mes amies sans exception et mes collègues de la
promotion 2016/2017 pour les moments passés ensemble.*

*A tous ceux que j'aime et qui m'aiment : Qu'ils trouvent ici l'expression
de mes sentiments les plus dévoués et mes vœux les plus sincères.*

Manel

Remerciement

Je tiens en premier lieu à remercier Dieu tout puissant pour la volonté la santé et le courage qu'il m'a donné pour suivre mes études

Mes sincères remerciements et mon profonde gratitude à Mme Kriza Lamia Maitre assistante à l'université de Laghouat pour son encadrement, ses conseils, sa patience et de m'avoir guidée dans mon travail

Mille merci à M^r. Ben ramdane Taieb pour leur précieux aide et leur disponibilité au niveau de laboratoire d'ENS (école normale supérieure, Laghouat)

Je remercie également Mme Boussoussa Hadjer et Mme Benarous Khadedja pour leurs aides, soutiens et leurs gentillesse, merci infiniment.

Aux membres du jury qui ont bien voulu accepter d'examiner ce travail et être les décideurs impartiaux de son aboutissement. Qu'ils trouvent ici l'assurance de notre considération la plus respectueuse

J'adresse encore mes remerciements à tous les enseignants de département de Biologie qui ont contribués à ma formation et qui ont toujours été à la hauteur de leur noble mission d'enseignants assidus, ponctuels, attentifs et généreux : M. Ouinten. M. Boubrima. Y, , M. Gouzi. H

A tous ceux qui m'ont soutenu d'une manière ou d'une autre le long de ces 5 ans je vous dis merci, et merci du fond du mon coeur.

Merci

Liste des abréviations

| | |
|---------------------------------|--|
| ADN | : Adénosine Disoxynucléaire |
| AlCl ₃ | : Trichlorure d'aluminium |
| BHA | : Butylhydroxyanisol |
| BHT | : Butylhydroxytoluène |
| Diab | : Diabétiques |
| DNS | : Acide 3,5-Di-NitroSalicylique |
| EAG | : En Equivalent d'Acide Gallique |
| EC 3.2.1.1 | : (3) Hydrolase-(2) Glycosylase-(1) Glucosidase-(1) <i>α</i> -amylase |
| EC ₅₀ | : Concentration équivalente (µg/ml) requise pour réduire 50 % des radicaux libres DPPH, initialement présents en solution. |
| EQ | : En Equivalent de Quercétine |
| ERO | : Espèces réactives de l'oxygène |
| FeCl ₃ | : Tri chlorure de fer. |
| FID | : Fédération Internationale du diabète |
| H ₂ O ₂ | : Le peroxyde d'hydrogène |
| IC ₅₀ | : La concentration nécessaire de l'inhibiteur (mg/ml) pour inhiber 50 % de l'activité enzymatique. |
| MS | : Matière sèche. |
| Na ₂ CO ₃ | : Carbonate de Sodium |
| O ₂ | : L'oxygène singulier |
| O ⁻² | : Radical superoxyde |
| OH | : Le radical hydroxyle |
| OMS | : Organisation Mondiale de la Santé |
| ONOOH | : Peroxynitrite |
| STZ | : Streptozotocine |
| V/V | : Volume / Volume |

| Liste des figures | |
|---|----|
| Figure 01 : Classification de l'espèce <i>Globularia alypum</i> .L (photo originale 2016)..... | 18 |
| Figure 02: Différentes étapes d'extraction hydro-alcoolique de la plante <i>Globularia alypum</i> L..... | 21 |
| Figure 03: Différentes étapes d'extraction aqueuse de la plante <i>Globularia alypum</i> L..... | 22 |
| Figure 04: Réaction de test DPPH (2,2 Diphenyl 1 picryl hydrazyl)..... | 24 |
| Figure 05 : Photo illustrant les extraits obtenus à partir de l'extraction aqueuse et hydro-alcoolique | 29 |
| Figure 06 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique..... | 31 |
| Figure 07 : Courbe d'étalonnage de la quercétine | 32 |
| Figure 08 : Graphes représentant la variation du pourcentage d'inhibition (PI) % en fonction des concentrations en composés phénoliques pour les deux extraits: hydro-alcoolique, aqueux et en fonction de concentration de la vitamine C..... | 34 |
| Figure 09 : Histogramme représentant les EC ₅₀ du pouvoir antioxydant de quelques plantes médicinales..... | 36 |
| Figure 10 : courbes représentant la variation du pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations des deux extraits aqueux et d'acétate d'éthyle..... | 37 |
| Figure 11 : Histogramme représentant le pourcentage d'inhibition amylasique de quelques plantes médicinales..... | 38 |

Liste des Tableaux

| | |
|--|----|
| Tableau 1 : Classification du diabète | 6 |
| Tableau 2 : Résultats de quelques études ethnobotaniques et ethnopharmacologiques sur les plantes antidiabétiques dans différentes régions du monde | 9 |
| Tableau 03 : Liste de quelques plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du diabète | 10 |
| Tableau 04 : Les flavonoïdes à effet antidiabétique | 11 |
| Tableau 05 : Les Glycosides à effet antidiabétique..... | 12 |
| Tableau 06 : Les alcaloïdes à effet antidiabétique | 13 |
| Tableau 07 : Les saponosides à effet antidiabétique | 13 |
| Tableau 08 : Résultats des tests phytochimiques de la plante <i>Globularia alypum L</i> | 28 |
| Tableau 09 : Rendements, aspects et couleurs des extraits organiques et aqueux | 29 |
| Tableau 10 : Teneurs en phénol totaux des extraits obtenus de la plante <i>Globularia alypum L</i> | 31 |
| Tableau 11 : Teneurs en flavonoïdes des extraits obtenus de la plante <i>Globularia alypum L</i> | 33 |
| Tableau 12 : Les valeurs d'EC ₅₀ (µg/ml) des deux extraits de la plante <i>Ga</i> et l'antioxydant standard | 35 |
| Tableau 13 : Valeurs d'IC ₅₀ en (mg/ml) des deux extraits de la plante <i>Globularia alypum L</i> | 37 |

Table de matières

| | |
|--|----|
| Introduction générale | 1 |
| Chapitre I : Synthèse bibliographique | |
| I-Généralité sur le diabète | 5 |
| I-1-Définition | 5 |
| I-2 Classification de diabète sucré | 5 |
| I-2-1-Le diabète de type 1 | 5 |
| I-2-2-Le diabète de type 2 | 5 |
| I-2-3-Le diabète gestationnel | 5 |
| I-2-4-Autres types de diabète | 6 |
| I-3-Épidémiologie | 6 |
| I-4-Complication du diabète | 6 |
| I-5-Traitements | 7 |
| I-5-1-Les traitements non médicamenteux | 7 |
| I-5-2-Les traitements médicamenteux | 7 |
| I-5-2-1-L'insulinothérapie | 7 |
| I-5-2-2-Hypoglycémiantes oraux | 8 |
| I-6-Nouvelle alternative de traitement | 8 |
| I-7-Les plantes antidiabétiques | 8 |
| I-7-1-Dans le monde | 8 |
| I-7-2-En Algérie | 10 |
| I-7-3-Modes d'action des plantes antidiabétiques | 10 |
| I-7-4-Principes actifs des plantes antidiabétiques | 11 |
| I-7-4-1-Les flavonoïdes | 11 |
| I-7-4-2-Les glycosides (Hétérosides)..... | 12 |
| I-7-4-3-Les alcaloïdes | 12 |
| I-7-4-3-Les saponosides | 13 |
| I-8-Stress oxydant et diabète | 14 |
| I-8-1-Stress oxydant et radicaux libres | 14 |
| I-8-2-Les antioxydants | 14 |
| I-8-2-1-Définition d'un antioxydant | 14 |
| I-8-2-2-Les antioxydants de synthèses | 14 |
| I-8-2-3- Les antioxydants naturels | 15 |
| I-8-3-Radicaux libres et diabète | 15 |
| I-9-Inhibition d' -amylase | 15 |
| Chapitre II : Matériels et méthodes | |
| II-Matériel végétal | 17 |
| II-1-Présentation de la plante : <i>Globularia alypum L.</i> | 18 |
| II-1-1-Description botanique | 18 |
| II-1-2-Classification | 18 |
| II-1-3-Nom vernaculaires | 18 |
| II-1-4-Répartition géographique | 18 |
| II-1-5-Principes actifs | 18 |

| | |
|--|----|
| II-1-6-Utilisation médicinale | 19 |
| II-2-Collecte et conservation | 19 |
| II-3-Screening Phytochimiques | 19 |
| II-3-1-Tanins | 19 |
| II-3-2-Flavonoïdes | 19 |
| II-3-3-Saponines | 19 |
| II-3-4-Stérols et triterpènes | 19 |
| II-3-5-Alcaloïdes | 20 |
| II-4-Préparation des extraits Polyphénoliques | 20 |
| II-4-1-Extraction hydro-alcoolique | 20 |
| II-4-2-Extraction aqueuse | 22 |
| II-4-3-Rendement de l'extraction | 22 |
| II-5-Dosage des composés phénoliques | 23 |
| II-5-1-Dosage des polyphénols totaux | 23 |
| II-5-1-1-Principe | 23 |
| II-5-1-2-Procédure expérimentale | 23 |
| II-5-2-Dosage des flavonoïdes | 23 |
| II-5-2-1- Principe | 23 |
| II-5-2-2- Procédure expérimentale | 24 |
| II-6-Evaluation de l'activité antioxydante | 24 |
| II-6-1-Test de DPPH | 24 |
| II-6-1-1-Principe de la méthode | 24 |
| II-6-1-2-Procédure expérimentale | 25 |
| II-7-Evaluation de l'activité inhibitrice sur l' -amylase | 25 |
| II-7-1-Principe de la méthode | 25 |
| II-7-2-Procédure expérimentale | 25 |
| Chapitre III : Résultats et discussions | |
| III-1-Screening Phytochimiques | 28 |
| III-2-Analyse des extraits | 29 |
| III-2-1-Teneur des extraits | 29 |
| III-2-2-Dosage des phénols totaux | 30 |
| III-2-3-Dosage des flavonoïdes | 32 |
| III-3-Evaluation de l'activité antioxydant <i>in vitro</i> | 33 |
| III-3-1-Résultats du pouvoir antioxydant du radical libre DPPH | 33 |
| III-4-Effet d'inhibition de la plante <i>Globularia alypum L</i> sur l' -amylase | 36 |
| III-4-1-Test d'inhibition | 36 |
| Conclusion | 39 |
| Références bibliographiques | 42 |

Introduction générale

Une des originalités majeures des végétaux réside dans la capacité à produire des substances naturelles très diversifiées (**Macheix *et al.*, 2005**). En effet, près d'un quart des remèdes qui existent actuellement sont à base de ces substances végétales ou de produits de synthèse botanique et ceci grâce à leur richesse en produits dits métabolites secondaires.

Les plantes sont une source inépuisable de substances biochimiques : tanins, glucosides, mucilages, flavonoïdes, saponines, résines, gommes etc., et qui procurent des propriétés curatives appréciables et qu'aucune chimie synthétique et combinatoire ne peut nous offrir. (**Eddouks *et al.*, 2007**).

Des nombreuses espèces ont été reconnues pour avoir des propriétés médicinales et de l'impact bénéfique sur la santé, par exemple, activité antioxydantes, anti-inflammatoires, antimicrobiens, hypoglycémiant, les effets et le potentiel anticancéreux antimutagènes (**Aabyet *al.*, 2004**).

Les composés phénoliques jouent un rôle très important comme antioxydants et inhibiteurs d'enzymes comme l' α -amylase, l' α -glucosidase, la pepsine la trypsine et les lipases (**Chethan *et al.*, 2008**).

La médecine traditionnelle basée sur l'utilisation des plantes médicinales pour le traitement de nombreuses maladies, dont le diabète sucré, continue à être utilisée, et au cours de ces dix dernières années sa popularité n'a fait qu'augmenter (**OMS, 2002 b**).

Le présent travail s'intéresse à l'étude d'une plante médicinale algérienne *Globularia alypum L.* L'intérêt de cette plante est due aux différents principes actifs qu'elles renferment elle est utilisée en médecine traditionnelle pour le traitement du diabète sucré et dont l'activité antidiabétique a été prouvée expérimentalement. (**Zerriouh. M, 2008**).

L'objectif de ce travail vise à démontrer la richesse de notre plantes en polyphénols et à Déterminer leur propriété biologique. Pour cela cette étude englobe deux aspects, dont le Premier est d'ordre phytochimique basé principalement sur l'extraction et la quantification des composés phénoliques. Le second aspect est consacré à l'évaluation de l'activité antioxydante et L'effet inhibiteur des extraits phénoliques sur l' α -amylase qui est responsable de la dégradation des hydrates de carbone au niveau de l'intestin grêle. Cette dégradation permet l'absorption du glucose et fait augmenter la glycémie. De ce fait, l'inhibition de cette enzyme permette une limitation de l'augmentation de la glycémie postprandiale (**Goetz .P, 2007**).

Ce mémoire a débuté par une synthèse bibliographique portant sur le diabète, les composés phénoliques à effet antidiabétique et la relation entre stress oxydant et diabète.

La deuxième partie est consacrée à l'étude expérimentale dans laquelle nous avons réalisé les expériences suivantes:

- Tests phytochimiques des principes actifs présents dans cette espèce.
- Extraction et dosage des phénols totaux et des flavonoïdes.
- L'évaluation de l'activité antioxydante et L'effet inhibiteur de nos extraits sur l' -
amylase .

La troisième partie est réservée à la discussion et l'interprétation des résultats obtenus. Finalement nous terminons par une conclusion générale et perspective de cette étude.

Synthèse bibliographique

- Généralité sur le diabète :

-1-Définition :

Le diabète est un groupe de maladies hétérogènes ayant comme caractéristiques commune une hyperglycémie chronique. La cause en est, soit un trouble de la sécrétion insulinaire, soit un trouble de l'effet insulinaire, ou une combinaison des deux (**Herold. G, 2012**). L'hyperglycémie chronique est associée à terme avec des complications organiques spécifiques touchant particulièrement les yeux, les reins, les nerfs, le cœur et les vaisseaux (**P. Drouin et al, 1999**).

Le diabète sucré se définit aussi par une hyperglycémie chronique, soit une glycémie à jeun supérieure à 1,26g/l (7mmol/l) ou une glycémie supérieure à 2g/l (11,1mmol/l) à n'importe quel moment ou lors d'une hyperglycémie provoquée par voie orale à deux reprises (**Sachon et al, 2004**).

-2- Classification de diabète sucré :

-2-1-Le diabète de type 1 :

Le diabète de type 1 est une affection auto-immune, caractérisée par la destruction des cellules β du pancréas. Le manque d'insuline qui en découle rend l'administration de cette hormone indispensable. Cette affection apparaît généralement pendant la jeunesse et le diagnostic est souvent posé suite à la présence de symptômes sévères (**Johan Wens et al., 2007**).

-2-2-Le diabète de type 2 :

Le diabète de type 2 est une maladie métabolique caractérisée par une hyperglycémie chronique dont les éléments physiopathologiques comprennent une résistance accrue des tissus périphériques (foie, muscles) à l'action de l'insuline, une insuffisance de sécrétion d'insuline par les cellules β du pancréas, une sécrétion de glucagon inappropriée, ainsi qu'une diminution de l'effet des incrétines, hormones intestinales stimulant la sécrétion post prandiale de l'insuline (**Slama-Chaudhry A. et al., 2013**).

-2-3-Le diabète gestationnel :

Tout trouble de l'équilibre glycémique mis en évidence pendant la grossesse disparaît dans la plupart des cas après l'accouchement ; il existe cependant un risque plus élevé de 50% permanente d'un diabète lors d'une grossesse ultérieure. (**Herold.G, 2012**)

-2-4-Autres types de diabète :

Les autres types particuliers comprennent une grande variété de troubles relativement peu courants, surtout des formes de diabète définies génétiquement ou associées à d'autres maladies ou à des médicaments (**Goldenberg et al., 2013**).

La classification du diabète comprend quatre classes cliniques récapitulées dans le Tableau 1 :

Tableau 1 : Classification du diabète (**Slama-Chaudhry et al., 2013**).

| Classification du diabète | Mécanisme physiopathologique |
|--|---|
| Diabète de type 1 (DMT1) | Destruction des cellules du pancréas, déficit insulinaire absolu. |
| Diabète de type 2 (DMT2) | Déficit de sécrétion de l'insuline, dans un contexte de résistance périphérique à l'insuline. |
| Diabète dû à des causes spécifiques | Médicaments, pancréatite chronique, hyperthyroïdie, syndrome de Cushing, hémochromatose, acromégalie, phéochromocytome, ... |
| Diabète gestationnel | Mis en évidence lors d'une grossesse |

-3-Épidémiologie :

A l'échelle mondiale, on estime à 422 millions le nombre des adultes qui vivaient avec le diabète en 2014, contre 108 millions en 1980. La prévalence mondiale du diabète (normalisée selon l'âge) a presque doublé depuis 1980, passant de 4,7 à 8,5 % de la population adulte. Le diabète a provoqué 1,5 million de morts en 2012. Une glycémie supérieure à la normale, qui accroît le risque de maladies cardiovasculaires et d'autres pathologies, a été cause de 2,2 millions de décès supplémentaires (**OMS, 2016**).

De même, en 2010, la fédération internationale du diabète (FID) a enregistré un million 632 milles diabétiques en Algérie. Ce chiffre peut atteindre jusqu'à 2 millions 850 milles en 2030, avec une augmentation de 61 milles nouveaux cas recensés par an.

La prévalence mondiale, déclarée par FID, était de 8,5% et la prévalence nationale était de 7,4 %. Elle peut augmenter à plus 9,3% en 2030 (**Whiting, 2011**).

-4-Complication du diabète :

Quel qu'en soit le type, le diabète peut entraîner des complications qui affectent plusieurs parties de l'organisme et accroître le risque général de décès prématuré. Au nombre

des complications possibles figurent l'infarctus du myocarde, l'accident vasculaire cérébral, l'insuffisance rénale, l'amputation des jambes, la perte de vision et des lésions nerveuses. Pendant la grossesse, un diabète mal maîtrisé accroît le risque de mortalité intra-utérine et d'autres complications (OMS, 2016).

-5-Traitements :

-5-1-Les traitements non médicamenteux :

La réduction pondérale et la pratique régulière de l'activité physique (adaptée et contrôlée) ont un effet favorable prouvé sur le contrôle de la glycémie, ce dernier ayant un effet favorable sur l'insulinorésistance.

Une alimentation équilibrée est conseillée, avec une augmentation des apports en glucides lents et une diminution des apports en graisses saturées, des sucres rapides et de l'alcool (ANAES, 2000).

Une activité physique adaptée aux possibilités de chaque patient est recommandée chez le diabétique de type 2 car elle contribue à une amélioration de la situation métabolique (insulinosensibilité, niveau glycémique, pression artérielle, profil lipidique, etc.) et pourrait être utile pour le contrôle du poids (ANAES, 2000).

-5-2-Les traitements médicamenteux :

-5-2-1- L'insulinothérapie :

L'insulinothérapie demeure la pierre angulaire de la maîtrise de la glycémie chez les personnes atteintes de diabète de type 1. Les préparations d'insuline sont surtout produites par la technique de l'ADN recombinant et leur structure est soit identique à celle de l'insuline humaine, soit modifiée par rapport à l'insuline humaine (analogues de l'insuline), ce qui en modifie la pharmacocinétique. L'insuline humaine et les analogues de l'insuline sont privilégiés et utilisés par la plupart des adultes atteints de diabète de type 1.

Les préparations d'insuline sont classées en fonction de leur durée d'action, de leur délai d'action et du moment de leur activité maximale.

L'insulinothérapie doit être individualisée selon les objectifs thérapeutiques, le mode de vie, l'alimentation, l'âge, l'état général de santé, la motivation, la capacité du sujet de reconnaître l'hypoglycémie et ses aptitudes en matière d'autogestion (Goldenberg *et al.*, 2013).

-5-2-2-Hypoglycémiantes orales :

Le traitement pharmacologique actuel de l'hyperglycémie du diabétique de type 2 repose sur :

- ✓ Une stimulation de la sécrétion d'insuline par **des sulfamides hypoglycémiantes (sulfonylurées)** ou des **glinides**.
- ✓ Une diminution de la production hépatique de glucose par les **Biguanides (Metformine)**.
- ✓ Une augmentation de l'action de l'insuline (diminution de l'insulinorésistance) par les **glitazones (ou thiazolidinediones) ou metformine**.
- ✓ Un ralentissement de l'absorption intestinale de glucides alimentaires par **l'acarbose**.

(Henquin, 2005 ; Tielmans *et al.*, 2007).

-6-Nouvelle alternative de traitement :

Plusieurs enquêtes ethnopharmacologiques ont été menées à travers le monde pour recenser les plantes antidiabétiques utilisées dans les différentes pharmacopées traditionnelles. Les informations ethnobotaniques recueillies dans plusieurs régions du monde estiment que plus de 1 200 espèces végétales, soit plus de 725 genres appartenant à 183 familles, sont utilisées pour leurs propriétés hypoglycémiantes et antihyperglycémiantes.

Les investigations ethnopharmacologiques sont actuellement centrées sur la validation expérimentale des propriétés curatives, traditionnellement attribuées à ces remèdes.

Dans 81 % des cas, les indications traditionnelles de plantes antidiabétiques ont été expérimentalement confirmées.

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

L'approche ethnopharmacologique est d'une grande importance dans ce domaine, elle pourrait conduire à la découverte de nouveaux médicaments pour le traitement pharmacologique du diabète (M. Eddouks *et al.*, 2007).

-7-Les plantes antidiabétiques :

-7-1-Dans le monde :

Au cours de ces dernières années, l'étude ethnobotanique des plantes utilisées comme antidiabétiques a suscité un grand intérêt. De nombreux travaux de synthèse ont été publiés

dans des revues spécialisées dans le domaine des plantes médicinales et diabète (Journal of Ethnopharmacology, Phytomedicine, Phytotherapy Research, Journal of natural products, Diabetes Care, Phytothérapie, Journal of Medicinal Plants Research, Phytomedicine, ...).

Ils montrent le grand intérêt qui porte l'utilisation traditionnelle des plantes antidiabétiques dans le monde (Eddouks *et al.*, 2007).

Tableau 2 : Résultats de quelques études ethnobotaniques et ethnopharmacologiques sur les plantes antidiabétiques dans différentes régions du monde (Azzi. R., 2013).

| Noms scientifiques | Familles | Partie utilisée | Modes d'action et références | Pays |
|----------------------------|----------------|------------------------|--|-------------|
| <i>Globularia alypum</i> L | Globulariacées | Feuilles | Stimulation de la sécrétion d'insuline, augmentation du métabolisme périphérique du glucose. (Skim <i>et al.</i> , 1999) | Maroc |
| <i>Punica granatum</i> L. | Lythracées | Fleurs | Inhibition -glucosidase (Li <i>et al.</i> , 2005) | Japan |
| <i>Aegle marmelos</i> | Rutacées | Feuilles Fruits | Stimule la captation du glucose par les cellules (Sharma <i>et al.</i> , 2007). Réduire la résistance à l'insuline (Sharma <i>et al.</i> , 2011). Effet protecteur sur les cellules β du pancréas (Kamalakkannan et Prince, 2005). | L'Inde |
| <i>Mangifera indica</i> L. | Anacardiées | Fruits, Feuilles | Stimulation de la glycogénèse hépatique (Bhowmik <i>et al.</i> , 2009). | Bangladesh. |
| <i>Anabasis articulata</i> | Chénopodiacées | Feuilles | Stimulation des cellules pancréatiques libératrices de l'insuline (Kambouche <i>et al.</i> , 2009) | L'Algérie |

-7-2-En Algérie :

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

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

Tableau 03 : Liste de quelque plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du diabète dans l'Algérie (Azzi. R *et al.*, 2012).

| Famille | (nom scientifique) | Nom vernaculaire | Nom en français | Parties utilisées | Préparation |
|------------|-------------------------------------|------------------|-----------------|-------------------|-------------------------------|
| Lauraceae | <i>Cinnamomum cassia</i> Lour. | El Korfa | Cannelle | Partie Ariane | Décoction |
| Lythraceae | <i>Punica granatum</i> L. | Rommane | Grenadier | Péricarpe | Décoction, Poudre |
| Oleaceae | <i>Olea europaea</i> L. | Zitoun, Zebouj | Olivier | feuilles, Fruits | Décoction, infusion, huile |
| Myrtaceae | <i>Eucalyptus globulus</i> Labill. | Kalitouss | Eucalyptus | feuilles, Fruits | Décoction |
| Fabaceae | <i>Trigonella foenum-graecum</i> L. | Halba | Fenugrec | graine | Décoction, macération, poudre |
| | <i>Retama raetam</i> (Forssk.) Webb | R'tum | Rétama | feuilles | Décoction |

-7-3-Modes d'actions des plantes antidiabétiques :

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

- Réduction de la résistance à l'insuline.
- Stimulation de la sécrétion d'insuline à partir des cellules ou/et inhibition du processus de dégradation de l'insuline.
- Apport de quelques éléments nécessaires comme le Calcium, le Zinc, le Magnésium, le Manganèse et le Cuivre pour les cellules .
- Régénération ou/et réparation des cellules pancréatiques lésées.
- Effet protecteur de la destruction des cellules .

- Augmentation le nombre de cellules dans les îlots de Langerhans.
- Inhibition de la réabsorption rénale du glucose.
- Inhibition de -galactosidase, -glucosidase et -amylase.
- Prévention du stress oxydatif, qui peut être impliqué dans le dysfonctionnement des cellules.
- Stimulation de la glycogénèse et de la glycolyse hépatique.
- Diminution des activités du cortisol.

-7-4-Principes actifs à effets antidiabétiques :

Il existe plus de 200 000 métabolites secondaires, dont plus de 200 présentent une activité hypoglycémiant (Lamba *et al.*, 2000). Ainsi un certains nombres de groupes, tels que des alcaloïdes, des saponines, des flavonoïdes des glycosides, des polysaccharides, des peptidoglycanes, acides aminés et d'autres obtenus à partir de diverses sources végétales, semblent avoir des effets, d'une importance particulière, dans le traitement du diabète (Mukherjee *et al.*, 2006).

-7-4-1-Les flavonoïdes :

Le terme flavonoïde rassemble une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Leur fonction principale semble être la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles (au-delà de la chlorophylle, des caroténoïdes et des bêtaïnes), assurant ainsi la protection des tissus contre les agressions des ultraviolets (Bruneton, 1999). Le tableau 04 résume l'effet antidiabétique des flavonoïdes.

Tableau 04 : Les flavonoïdes à effet antidiabétique (Azzi. R., 2013).

| Plante | Familles | Partie utilisée | Activité sur | Références |
|--|------------|-----------------|------------------|-------------------------------|
| <i>Eugenia jambolana</i> L. | Myrtacées | Graines | Souris diab. STZ | (Sharma <i>et al.</i> , 2008) |
| <i>Eriobotrya japonica</i> (Thunb.)Lindl., | Rosacées | Feuilles | Souris diab. STZ | (Lü <i>et al.</i> , 2009) |
| <i>Coreopsis tinctoria</i> Nutt. | Astéracées | Fleurs | Rats diab. STZ | (Dias <i>et al.</i> , 2010) |

Diab : diabétiques ; STZ : Streptozotocine

-7-4-2-Les glycosides (Hétérosides) :

Les glycosides sont des substances organiques complexes qui résultent de l'établissement d'une composante osidique et d'une composante non osidique (aglycone ou la génine) (Bruneton, 1993).

Il existe un très grand nombre d'hétérosides végétaux. Certains sont très répandus tandis que l'existence d'autres est limitée à quelques centaines d'espèces ou même à un seul genre ou à une seule espèce (Guignard *et al.*, 1985).

Le tableau 05 résume l'effet antidiabétique des Glycosides.

Tableau 05 : Les Glycosides à effet antidiabétique (Azzi. R, 2013).

| Plante | Familles | Partie utilisée et principe actif | Activité sur | Références |
|------------------------------|---------------|------------------------------------|----------------------|-----------------------------|
| <i>Citrullus colocynthis</i> | Cucurbitacées | Graines | Rats diab. STZ | (Azzi <i>et al.</i> , 2009) |
| <i>Polygonatum odoratum</i> | Asparagées | Bulbe (glycosides steroïdique) | Rats pancréatectomie | (Choi et Park, 2002) |
| <i>Polygala senega</i> L. | Polygalacées | Rhizome (glycosides triterpenoïde) | Souris normaux | (Kako <i>et al.</i> , 1997) |

Diab : diabétiques ; STZ : Streptozotocine

-7-4-3-Les alcaloïdes :

Les alcaloïdes forment une grande famille de molécules chimiquement hétérogènes ,leurs caractéristiques communes sont leurs solubilité dans l'eau, la présence d'au moins d'un atome d'azote et leur fortes activité biologique, l'atome d'azote accepte souvent un proton, ce qui leur confère un caractère légèrement basique en solution (d'où leur nom d' alcaloïde),dans leur grande majorité les alcaloïdes sont des hétérocyclique bien que quelques composés azotés aliphatiques (non cyclique). Les alcaloïdes provoquent chez l'homme, diverse réponse physiologiques et psychologiques parce qu'ils interfèrent avec les neurotransmetteurs, à forte dose la plupart des alcaloïdes sont toxiques (William G .Hopkins, 2003).

Le tableau 06 résume l'effet antidiabétique des alcaloïdes.

Tableau 06 : Les alcaloïdes à effet antidiabétique (Azzi. R, 2013).

| Plante | Familles | Partie et principe active | Activité sur | Références |
|--|---------------|----------------------------|---|----------------------------------|
| <i>Capparis decidua</i> (Forsk) Edgew. | Capparidacées | Fruits (alcaloïdes totaux) | Rats diab. STZ | (Sharma <i>et al</i> , 2010) |
| <i>Ervatamia microphylla</i> | Apocynacées | Feuilles (conophylline) | Cellule pancréatique porcine | (Kawakami <i>et al.</i> , 2010) |
| <i>Ziziphus oxyphylla</i> Edgw | Rhamnacées | Cyclopeptide | <i>In vitro</i> inhibiteur -glucosidase | (Choudhary <i>et al.</i> , 2011) |

-7-4-4-Les saponosides :

Le terme saponoside est dérivé de la saponaire (*Saponaria*) qui était jadis utilisées comme substitut de savon les saponosides sont des terpènes glycosylés, ils peuvent aussi se trouve sous forme d'aglycones Les saponosides ont un gout amer et acre et provoquent, une fois ingérer, d'importantes irritations gastriques (William G .Hopkins, 2003).

Le tableau 07 résume l'effet antidiabétique des saponosides.

Tableau 07 : Les saponosides à effet antidiabétique (Azzi. R., 2013).

| Plante | Familles | Partie Utilisée | Activité sur | Références |
|---|---------------|--|---------------------------------|---------------------------------|
| <i>Citrullus colocynthis</i> L. | Cucurbitacées | Graines | Rats diab. STZ | (Benmehdi <i>et al.</i> , 2011) |
| <i>Entada phaseoloides</i> L. Merr. | Légumineuse | Graines | Rats diab. STZ | (Zheng <i>et al.</i> , 2012) |
| <i>Panax notoginseng</i> (Burk) F.H. Chen | Araliacées | Racines (notoginsenoside et ginsenoside) | Souris KK-Ay et souris C57BL/6J | (Yang <i>et al.</i> , 2010) |

Diab : diabétiques ; STZ : Streptozotocine

-8-Stress oxydant et diabète :

-8-1-Stress oxydant et radicaux libres :

Le stress oxydant est communément défini comme un déséquilibre entre les systèmes oxydants et les capacités anti-oxydantes d'un organisme, d'une cellule ou d'un compartiment cellulaire (**Baronki, 2006**). Il semble que la vraie origine d'un stress oxydant ne soit pas la génération d'ERO elle-même, mais le déséquilibre spatiotemporel entre la production d'ERO et leur élimination (**Morel, 2007**).

En conditions physiologiques, les radicaux libres sont produits en permanence en faible quantité et de manière maîtrisée. Au niveau cellulaire, on distingue deux grandes classes de radicaux libres : les radicaux libres «primaires», dérivés directs de l'oxygène (radical superoxyde (O_2^-), le radical hydroxyle (OH.), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou encore l'oxygène singulet (O_2). Peroxynitrite ONOOH et l'oxyde nitrique. Les radicaux libres «secondaires» ou organiques, issus de l'interaction des radicaux libres primaires avec des composés biochimiques cellulaires (acides gras polyinsaturé, glucides, acides aminés ou protéines) (**Pournaras., 2008**).

-8-2-Les antioxydants :

-8-2-1-Définition d'un antioxydant :

Un antioxydant est une substance qui, retarde ou bien inhibe significativement le phénomène d'oxydation et ceci à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable (**Delattre, 2005**).

-8-2-2-Les antioxydants de synthèses :

Le butylhydroxyanisole (BHA) (E 320) et le butylhydroxytoluène (BHT) (E 321) sont les antioxydants synthétiques les plus utilisés dans l'industrie agroalimentaire. Ils sont stables dans les conditions opératoires de la plupart des procédés industriels.

Plus d'études ont montré que le BHT et le BHA sont toxiques et/ou cancérigènes à haute dose. Leur utilisation est donc en baisse (**Gordon, 1990**). Ces composés sont utilisés comme additifs pour combattre contre la détérioration alimentaire, mais il faut les utiliser avec prudence vu leurs risques sur la santé et leurs toxicité pour l'organisme (**Moure et al., 2001**). Et par conséquent, certaines restrictions sont placées sur leurs applications et il y'a une tendance à les remplacer par des antioxydants naturels. Ces dernières années, la recherche

d'antioxydants naturels en particulier à partir des plantes a augmenté et certaines plantes médicinales ont été largement étudiées pour des activités anti-oxydantes (**Shahin, 2008**).

-8-2-3-Les antioxydants naturels :

Les plantes constituent des sources très importantes d'antioxydants. Les antioxydants naturels dont l'efficacité est la plus reconnue aussi bien dans l'industrie agroalimentaire que pour la santé humaine sont : les tocophérols, les caroténoïdes et les polyphénols (**Bouhadjra, K, 2011**).

-8-3-Radicaux libres et diabète :

L'état d'hyperglycémie chronique du diabète sucré conduit à un stress oxydant, c'est-à-dire un déséquilibre entre pro-oxydants et antioxydants au profit des premiers (**Favier, 2006**).

L'hyperglycémie induit une production prolongée des espèces réactives de l'oxygène intracellulaire et ceux-ci prolongent le gradient électrochimique des protons générés dans la chaîne mitochondriale menant à une surproduction d'anion superoxyde, qui est l'une des espèces réactives de l'oxygène qui peut endommager les cellules dans de nombreuses voies à travers le stress oxydatif, en l'absence d'une compensation appropriée de la réponse des réseaux antioxydants endogènes des cellules, le système est débordé, entraînant un déséquilibre d'oxydo-réduction, ce qui aggrave encore la situation (**Korshunov et al., 1997**). Les espèces réactives de l'oxygène générées lors de l'hyperglycémie causent principalement des dommages de l'ADN, des protéines et des lipides. En plus il est évident que dans le diabète de type II, l'activation des voies de stress sensible par l'élévation du glucose et des acides gras conduit à deux niveaux de résistance à l'insuline ; une diminution de la sécrétion d'insuline et la dysfonction des cellules sécrétrices de l'insuline (**Evans et al., 2003**).

-9- Inhibition d' -amylase :

Les enzymes -amylases (EC 3.2.1.1) et les -glucosidases (EC 3.2.1.20) appartiennent à la superfamille des -amylases (**Yezdani et al., 2010**) oligo et/ou disaccharides en monosaccharides, unités simples qui peuvent être assimilées par l'organisme (**Kumar et al., 2011**).

Elles hydrolysent spécifiquement la liaison α -D-(1,4)-glucosidiques trouvées dans la composition du glycogène, l'amidon et autres oligosaccharides (hydrates de carbone relatifs) soit à partir de l'extrémité non réductrice (-amylase) ou l'extrémité réductrice (α -glucosidase) donnant naissance à n résidus de D-glucose assimilables (**Kumar et al., 2011**).

L'inhibition des α -amylases induit l'intolérance des carbohydrates, la satiété et la perte de poids, et prolonge le vide gastrique. ils ont ainsi un potentiel thérapeutique pour le traitement de l'obésité et du diabète non insulino-dépendant (**Gerrard *et al.*, 2000**).

Une approche thérapeutique pour réduire l'hyperglycémie est de retarder et réduire la digestion et l'absorption des hydrats de carbone ingérés par l'inhibition de l' α -amylase et l' α -glycosidase dans les organes digestifs. L'inhibition des enzymes impliquées dans la digestion des glucides peut diminuer de manière significative l'augmentation postprandiale du glucose dans le sang en retardant le processus d'hydrolyse et d'absorption des glucides (**Khacheba *et al.*, 2014**).

Matériels et méthodes

-Matériel végétal :

-1-Présentation de la plante : *Globularia alypum* L

-1-1-Description botanique :

Est un arbuste ou sous arbrisseau buissonnant et très rameaux, à tige érigée, les feuilles sont alternés ou fasciculées souvent entières, atténuées à la base en un court pétiole plus ou moins cunéiformes, spatulées, la fleur est petite et odorante son péricline à des écailles nombreuses (Aït Youssef, 2006).

-1-2-Classification : Selon (Polunin et Huxley, 1967)


| | |
|--|---|
| Embranchement : Spermaphyta |  |
| Sous embranchement : Angiospermae | |
| Division : Magnoliophyta | |
| Classe : Magnoliopsida | |
| Sous classe : Asteridae | |
| Ordre : Scrophulariales | |
| Famille : Globulariaceae | |
| Genre : Globularia | |
| Espèce : <i>Globularia alypum</i> L | |

Figure 01 : classification de l'espèce *Globularia alypum* L. (photo originale 2016).

-1-3- Nom vernaculaires :

Arabe : Tasselgha, Ain larnab

Français : Globulaire turbith, Séné de provence, Herbe terrible

-1-4- Répartition géographique :

On le trouve dans les régions sèches et chaudes, en Europe méridionale et en Afrique du Nord, il croît sur des terrains rocaillieux, garrigues et dans les forêts sèches des basses montagnes jusqu'à 2000 m, On le trouve également dans l'Atlas saharien et dans le Hoggar (Polunin et Huxley, 1971).

-1-5-Principe actifs :

Flavonoïdes, résines, tanins, principe amère (globularine), huile essentielle, acide cinnamique, choline, mannitol, mucilage, chlorophylle, sels minéraux... (Baba aissa, 2000).

-1-6-Utilisation médicinale :

La plante est connue par son utilisation dans la pharmacopée traditionnelle comme hypoglycémiant, laxatif doux, dépuratif, antidiabétiques, cholagogue, antimycosique et cicatrisant, elle est également employée dans le traitement des maladies cardiovasculaires et rénales (Es.safi, 2006).

-2- Collecte et conservation :

Le matériel végétal utilisé est la partie aérienne de la plante *Globularia alypum L*, qui a été récolté en mois de novembre 2016 dans la région d'Oued Morra Wilaya de Laghouat. Après séchage à une température ambiante et à l'abri de la lumière solaire, les feuilles de la plante ont été broyées finement en poudre et conservées dans des flacons en verre hermétiquement fermés jusqu'au jour d'extraction.

-3-Screening phytochimiques :

La partie aérienne de la plante (feuilles et fleurs) a subi des tests phytochimiques afin de connaître les différents principes actifs présents dans cette espèce.

-3-1-Tanins :

Une masse de 2.5g de la poudre de chaque partie de la plante (feuilles et fleurs), a été macérée dans un volume d'éthanol pendant 24 h à l'obscurité. Après filtration, quelques gouttes de FeCl_3 1% sont ajoutées au filtrat. L'apparition d'une couleur verte foncée indique la présence des tanins (Salchi *et al*, 1992).

-3-2-Flavonoïdes :

Une masse de 2.5g de la poudre de chaque partie de la plante (feuilles et fleurs) a été macérée dans le méthanol pendant 24 h, un volume d' AlCl_3 2% a été ajouté à un certain volume du filtrat. L'apparition d'une couleur jaune foncée indique la présence des flavonoïdes (Quettier, 2000).

-3-3-Saponines :

Une masse de 2.5g de la poudre de chaque partie de la plante (feuilles et fleurs) a été chauffée dans de l'eau distillée jusqu'à ébullition, après refroidissement, le mélange a été filtré et vigoureusement agité, l'apparition d'une mousse stable de hauteur supérieure à 1 cm après 15 min indique la présence des saponines (Mojab *et al*, 2003).

-3-4-Stérols et triterpènes :

- réaction de Liebermann Buchard :

10 ml de la solution à analyser précédemment préparée pour les tests des tanins et flavonoïdes a été évaporé à sec,

le résidu obtenu a été dissout dans 5 ml d'anhydride acétique puis 5 ml de chloroforme. A l'aide d'une pipette 1 ml de H₂SO₄ concentré a été ajouter au fond du tube sans agiter.

Après 30 minutes. La formation d'un anneau rouge brunâtre à la zone de contact des deux liquides et une coloration violette de la couche surnageant révèlent la présence de stérols et triterpènes. **Harborne (1998).**

-3-5-Alcaloïdes :

Le test est réalisé par la réaction de précipitation avec le réactif de Mayer. 1 ml de l'extrait à analyser a été introduit dans un tube à essai et 5 gouttes de réactif de Mayer, ont été ajouter l'apparition d'un précipité blanc, révèle la présence d'alcaloïdes.

Réactif de Mayer

- **Solution A** : 1.358g de chlorure de mercure HgCl₂ sont dissous dans 60 ml d'eau distillée
- **Solution B** : 5g d'iodure de potassium KI sont dissous dans 10ml d'eau distillée
- Les solutions A et B sont mélangées extemporanément et le volume final est ajusté à 100 ml avec d'eau distillée. **Harborne (1998).**

-4-Préparation des extraits Polyphénoliques :

Dans la présente étude, les deux méthodes d'extraction ont été réalisée selon le protocole adapté par **Khacheba et al., 2014** .

-4-1-Extraction hydro-alcoolique :

Le matériel végétal broyé (5g) est soumis à une extraction par macération dans le mélange méthanol / eau (80/20 : v/v) pendant 72 heures avec renouvellement de solvant chaque 24 heures et agitation de temps en temps. Ce qui nous a donc permit d'obtenir l'extrait hydro-alcoolique brut. Ce dernier est évaporé sous pression réduite à 45°C, puis la phase aqueuse restante est lavée une ou plusieurs fois avec un même volume d'hexane, jusqu'à l'épuisement des pigments et des lipides.

La phase aqueuse ainsi obtenue est ensuite lavée une ou plusieurs fois avec un même volume d'acétate d'éthyle. Ce qui nous a permis d'avoir des fractions à priorité contiennent les composés phénoliques polaires.

L'extrait organique ainsi obtenue est séché avec du sulfate sodium anhydre puis évaporé à sec à pression réduite à 45°C. L'extrait phénolique ainsi obtenue présente généralement un aspect poudreux, de couleur verte, jaune .Le résidu sec est repris dans 15 ml de méthanol pur donnant la fraction phénolique correctement purifiée et conservée au réfrigérateur jusqu'à leur analyse, La figure 02 illustre les étapes suivie dans cette extraction.

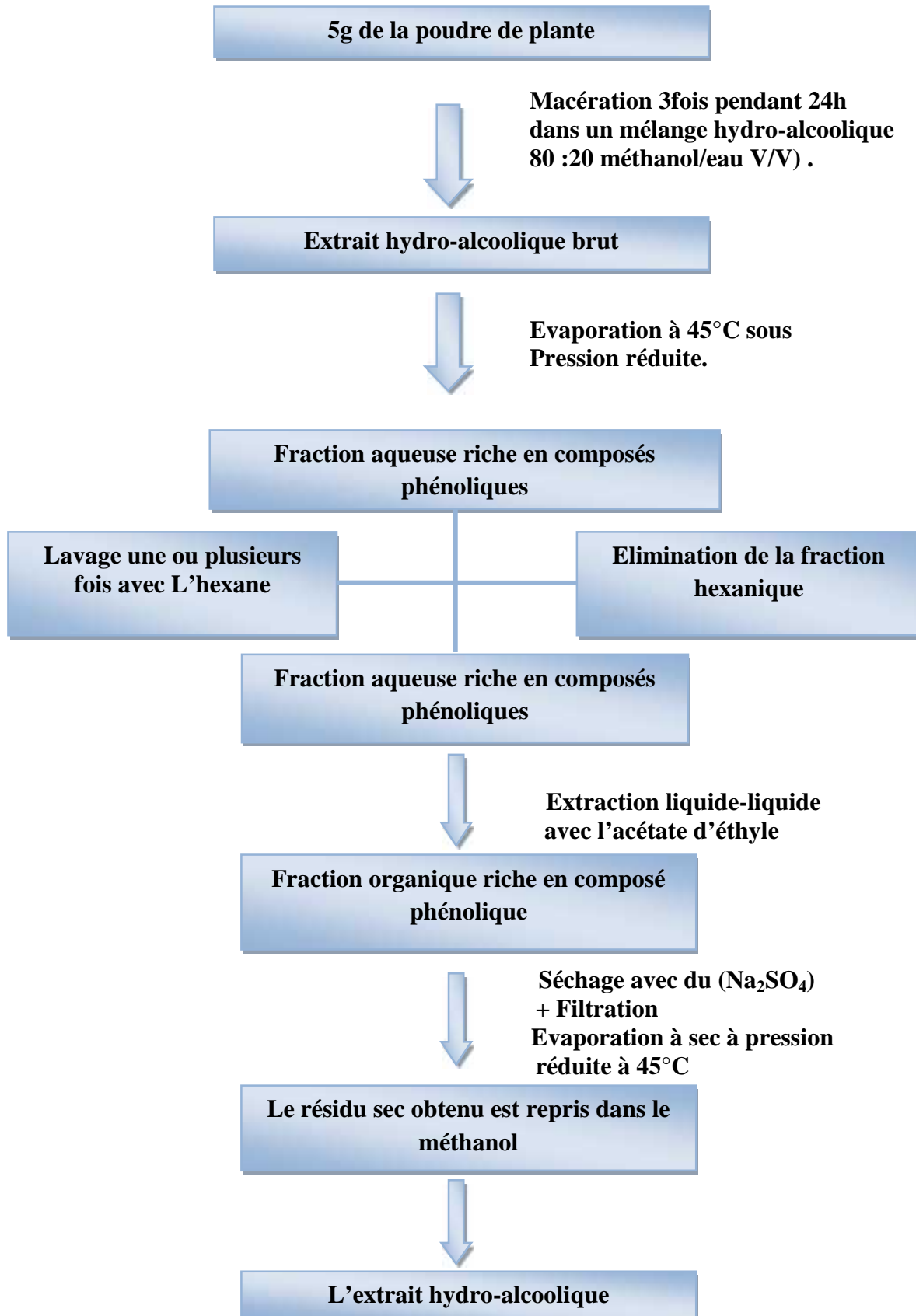


Figure 02: Différentes étapes d'extraction hydro-alcoolique de la plante *Globularia alypum* L.

-4-2-Extraction aqueuse :

Environ 5 g de poudre est macéré dans 100 ml d'eau distillée à 75°C pendant 20 minutes. Après filtration et évaporation de l'eau à pression réduite, les résidus sont pesés, solubilisés dans de l'eau distillée puis conservés sous une température de 4°C jusqu'à leur analyse. (Khacheba *et al.*, 2014). Les étapes de cette extraction sont résumées ci-dessous (figures03) :

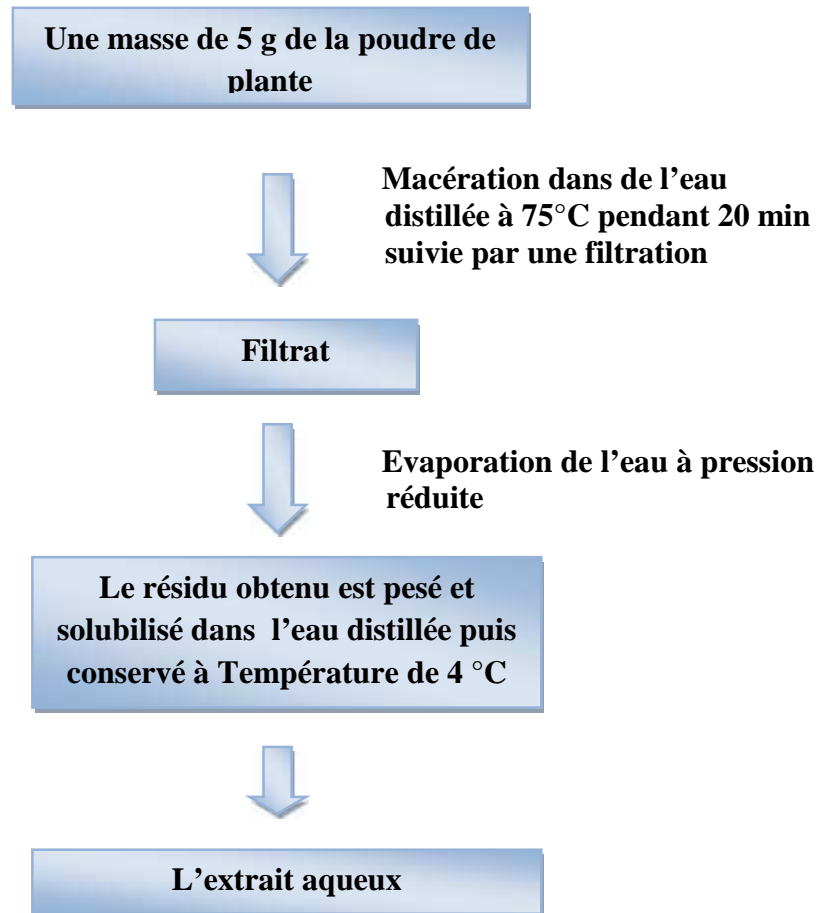


Figure 03: Différentes étapes d'extraction aqueuse de la plante *Globularia alypum L.*

-4-3-Rendement de l'extraction exprimé en (%) :

Le rendement de l'extrait sec obtenu après évaporation de chaque extrait est calculé selon la formule suivante :

$$R(\%) = M / M_0 \times 100$$

M: Masse en gramme de l'extrait sec résultant après l'évaporation.

M₀ : Masse en gramme du matériel végétal à traiter.

Les rendements sont calculés par rapport à 5 g de matière végétale sèche.

-5-Dosage des composées phénoliques :

-5-1-Dosage des polyphénols totaux :

Les polyphénols produits par les végétaux en tant que métabolites secondaires constituent une large gamme de molécules chimiques, dont leur nature chimique et teneur sont extrêmement variables d'une espèce à autre. Plusieurs méthodes analytiques peuvent être utilisées pour la quantification des polyphénols totaux. L'analyse par le réactif de Folin–Ciocalteu est la plus utilisée (E.Portés, 2008).

-5-1-1-Principe :

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par une méthode adaptée par Singleton et Ross (1965) avec le réactif de folin–Ciocalteu. Le réactif est formé d'acide phosphotungestique $H_3PW_{12}O_{40}$ et d'acide phosphomolybdique $H_3PMO_{12}O_4$, qui sont réduits lors de l'oxydation des phénols en oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_3), ce qui nous aide à doser les phénols dans le visible à une longueur d'onde de l'ordre 760 nm, (Nkhili. E, 2009 ; Maamri. S, 2008).

-5-1-2-Procédure expérimentale :

Un volume de 100 µl de chaque extrait dilué à différentes concentrations sont ajoutés à 500 µl du réactif de Folin-Ciocalteu. Après 2 minutes d'incubation, 2 ml de solution de Na_2CO_3 d'une concentration de 2% sont ajoutées. Les tubes sont ensuite agités et placés l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante. Tous les essais sont reproduits au moins trois fois.

La lecture de L'absorbance de chaque solution préparé est mesurée à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible, contre un blanc. Les valeurs de l'absorbance sont proportionnelles à la quantité de polyphénols présente dans nos extraits. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique/g de matière végétale sèche.

-5-2- Dosage des flavonoïdes :

-5-2-1-Principe :

Les teneurs des flavonoïdes ont été mesurés par une méthode adaptée de Lamaison et Carnat (1991) en utilisant le trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) comme réactif. Le trichlorure d'aluminium forme un complexe acide stable avec le groupement carbonyle C-4 et aussi les groupements hydroxyles C-3 et C-5 des flavones et flavonols, en plus il forme des complexes acides labiles avec les groupements dihydroxyles en ortho du cycle A ou B des flavonoïdes (Mabry *et al.*, 1970), ce complexe est de coloration jaune absorbe fortement à une longueur d'onde de 409 nm.

-5-2-2-Procédure expérimentale :

A partir d'une solution méthanolique de quercétine utilisée comme standard, une gamme de solutions diluées a été préparée, 500 µl de chaque solution diluée ont été mélangé avec un même volume du trichlorure d'aluminium 2 %, puis incubé pendant 20 minutes à une température ambiante.

La lecture de l'absorbance de chaque solution préparée a été effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 409 nm contre un blanc.

L'analyse quantitative des flavonoïdes dans nos extraits a été réalisée par la même procédure. Les valeurs de l'absorbance ainsi obtenues sont proportionnelles à la quantité de flavonoïdes présente dans nos extraits. Et les résultats sont présentés en mg équivalent quercétine/g de matière sèche. Chaque expérience est répétée 3 fois.

-6- Evaluation de l'activité antioxydante :

-6-1 Test de DPPH :

-6-1-1-Principe de la méthode :

L'activité antiradicalaire des composés polyphénoliques contenus dans les extraits préparés est évaluée en mesurant leurs capacités de piéger le radical libre DPPH (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl) (N. Zeghad, 2009).

La réduction du radical libre DPPH° (2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl) par un antioxydant peut être suivie par spectrométrie UV-Visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par les antioxydants (Molyneux, 2004). En présence des piégeurs de radicaux libres, le DPPH. (2.2 Diphenyl 1 picryl hydrazyl) de couleur violette se réduit en 2.2 Diphenyl 1 picryl hydrazine de couleur jaune (Figure 04) (Maataoui *et al.*, 2006). Dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité réductrice des antioxydants présents dans le milieu (Sanchez-Moreno C, 2002).

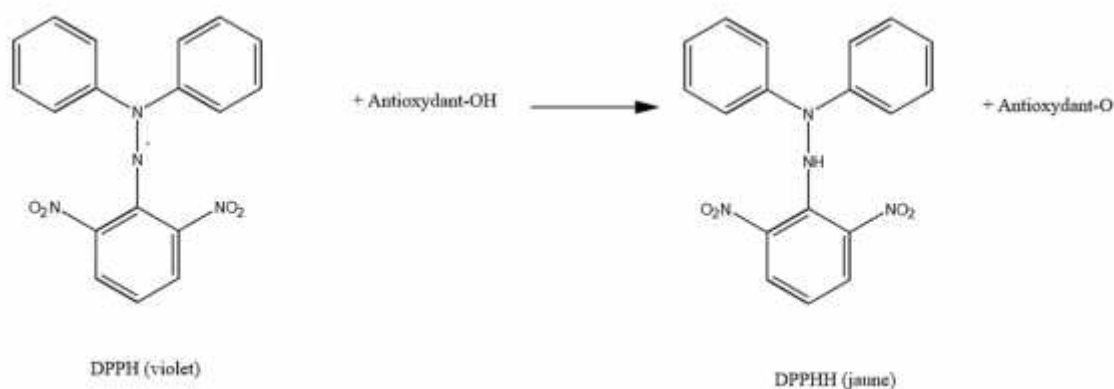


Figure 04 : Réaction de test DPPH (2.2 Diphenyl 1 picryl hydrazyl) dessinée par le logiciel Chemdraw.

-6-1-2-Procédure expérimentale :

Une solution de DPPH de concentration 250µM a été préparée. Dans un tube à essai 500 µl de chaque extrait phénolique à différentes concentrations et témoin (acide ascorbique) sont ajoutées à 500 µl de la solution de DPPH, après incubation pendant 30 min à température ambiante, les absorbances des solutions ont été mesurées contre un blanc à 517nm.

L'efficacité antioxydante de chaque extrait est déterminée ensuite par le calcul du paramètre EC₅₀ qui représente la concentration de l'extrait nécessaire pour réduire à 50% la concentration initiale du radical DPPH. Le pouvoir d'inhibition est exprimé en% et calculé à partir de la formule suivante :

$$I\% = [(Abs\ contrôle - Abs\ test) / Abs\ contrôle] \times 100.$$

-7-Evaluation de l'activité inhibitrice sur l' α-amylase :

-7-1-Principe de la méthode :

L'activité enzymatique de l' α-amylase est dosée sur l'amidon comme substrat. Elle catalyse l'hydrolyse de ce substrat qui libère le maltose et d'autres produits. Le maltose libéré est dosé spectrophotométriquement grâce à son pouvoir réducteur.

Cette méthode est basée sur le pouvoir réducteur des groupements aldéhydes et cétones libres des sucres. En milieu alcalin et à chaud l'oxydation de ces fonctions provoque simultanément la réduction de l'acide 3,5-dinitrosalicylique de couleur jaune orange en acide 3-amino 5-nitrosalicylique de couleur rouge orange qui absorbe à une longueur d'onde de 540 nm.

L'intensité de la coloration varie selon la quantité de sucres réducteurs présents dans le milieu réactionnel (**Benfeld, 1955**).

-7-2-Procédure expérimentale :

Dans des tubes à essais les milieux réactionnels contenaient 1 ml d'amidon et 100 µl de chaque extrait phénolique dilué dans un tampon phosphate salé (PH=7) à différentes concentrations. Les tubes sont ensuite incubés pendant 5 minutes à 37°C, ensuite 100 µl de l'enzyme ont été ajoutés. Après une incubation pendant 5 minutes, la réaction enzymatique est stoppée par l'ajout de 1ml de DNS, le milieu réactionnel est ensuite porté à l'ébullition à 100 °C pendant 10 minutes, après refroidissement les absorbances sont mesurées à 540 nm avec un spectrophotomètre contre un blanc. Un contrôle a été préparé de la même façon sans inhibiteur. (**Bekhaoua.A et Ben Sayah.N, 2015**) modifiée.

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

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

$A_{\text{contrôle}}$: Absorbance du contrôle.

$A_{\text{échantillon du test}}$: Absorbance de l'échantillon du test.

Résultats et discussions

-1-Screening phytochimiques :

Dans cette partie, nous allons exposer les différents tests utilisés pour détecter qualitativement quelques substances actifs dans la partie aérienne (feuilles et fleurs) de l'espèce *Globularia alypum L.* L'étude phytochimique effectuée sur la poudre de notre plante a donné les résultats reportés dans le tableau 08.

Tableau 08: Résultats des tests phytochimiques de la plante *Globularia alypum L.*

| Groupements chimiques | Photos illustrant les tests phytochimiques des deux parties de la plante | Résultat des réactions en tube sur la partie utilisée de la plante | |
|---|--|--|--------|
| | | Feuilles | Fleurs |
| Les flavonoïdes |  | +++ | +++ |
| Les tanins |  | +++ | +++ |
| Les saponosides |  | + | ++ |
| Stérols et triterpènes réaction de Liebermann Buchard |  | +++ | ++ |
| Les alcaloïdes |  | - | - |

(+): présent, (-): abs.

(++) : Présent en moyenne quantité, (+++) : Présent en forte quantité.

Les réactifs de caractérisation classiques ont permis de mettre en évidence les groupements chimiques suivants: les flavonoïdes, les tannins, les stérols, les triterpènes et les saponosides. Le test de recherche des alcaloïdes a été négatif sur notre échantillon.

-2- Analyse des extraits :

-2-1-Teneur des extraits :

Les valeurs des rendements obtenus pour chaque extrait par les deux méthodes d'extraction hydro-alcoolique et aqueuse ont été déterminées par rapport à 5 g du matériel végétal sec rendu en poudre, les résultats de cette analyse sont consignés dans le tableau 09, avec aspect et couleur de chaque extrait.

Tableau 09 : Rendements, aspects et couleurs des extraits organiques et aqueux.

| Extrait | Aspect | Couleur | La masse en (g) | Rendement (%) |
|-------------------------|----------|--------------|-----------------|---------------|
| Aqueux | Visqueux | Marron foncé | 2,25 | 45 % |
| Acétate d'éthyle | Poudre | Vert-jaune | 0,24 | 4,8 % |



Figure 05 : Photo illustrant les extraits obtenus à partir de l'extraction aqueuse et hydro-alcoolique des feuilles.

D'après les résultats consignés dans le tableau précédent, nous pouvons déduire que la teneur en composés phénoliques le plus élevé a été obtenu avec l'extraction aqueuse 45% tandis que l'extraction hydro-alcoolique nous a donné juste 4,8%. Cette différence peut être expliquée par la richesse ou la pauvreté de la plante en composés solubles dans le solvant utilisé (Vermerris et Nicholson, 2006), aussi leurs degrés de solubilité dans ce dernier et leurs degrés de glycosylation (Markham, 1982).

Si on compare les teneurs entre les deux méthodes d'extraction utilisées dans cette étude nous remarquons que les teneurs enregistrées pour l'extraction aqueuse est supérieure à celle enregistrée pour l'extraction hydro-alcoolique. Ceci est peut être attribuée à la forte capacité de dissolution de l'eau. En fait, l'eau présente un indice de polarité, une constante diélectrique et une énergie de cohésion très élevée par rapport à d'autres solvants, ce qui fournit une liaison forte entre les molécules d'eau et des composés polaires du soluté, provoquant leur dissolution (**Dhanani et al.,2013**).

De plus L'addition de l'eau au système d'extraction fait améliorer le rendement en composés phénoliques glycosylés et des phénols avec un degré de polymérisation plus élevé (**Bonnaillie et al, 2012**).

une étude réalisées par **Kouidri.F et Nakmouche.N., 2013** sur la même plante, a montré que l'extrait organique de l'espèce *Globularia alypum.L* a enregistré une teneur de 3,15 % qui est inférieure à celle enregistrée dans notre étude 4,8 %. Cette différences peuvent être liée à la saison de récolte ou les contraintes abiotiques sont différentes (la sécheresse, la chaleur, les rayons ultraviolet, la pollution de l'air et les attaques d'agents pathogènes.....) ou à des facteurs liés aux procédures d'extraction employées en tenant compte la durée d'extraction, le type du contact matière-solvant, la taille des particules de l'échantillon, l'agitation et la température (**Biesiada et Tomaczak ;2012**).

-2-2-Dosage des phénols totaux:

Dans le but de caractériser les extraits préparés à partir de la partie aérienne de la plante *Globularia alypum L*, un dosage des phénols totaux est effectué avant d'entamer l'étude des activités biologiques. La teneur en composés phénolique de nos extraits a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique et exprimés par mg EAG/g de matière sèche (figure 06).

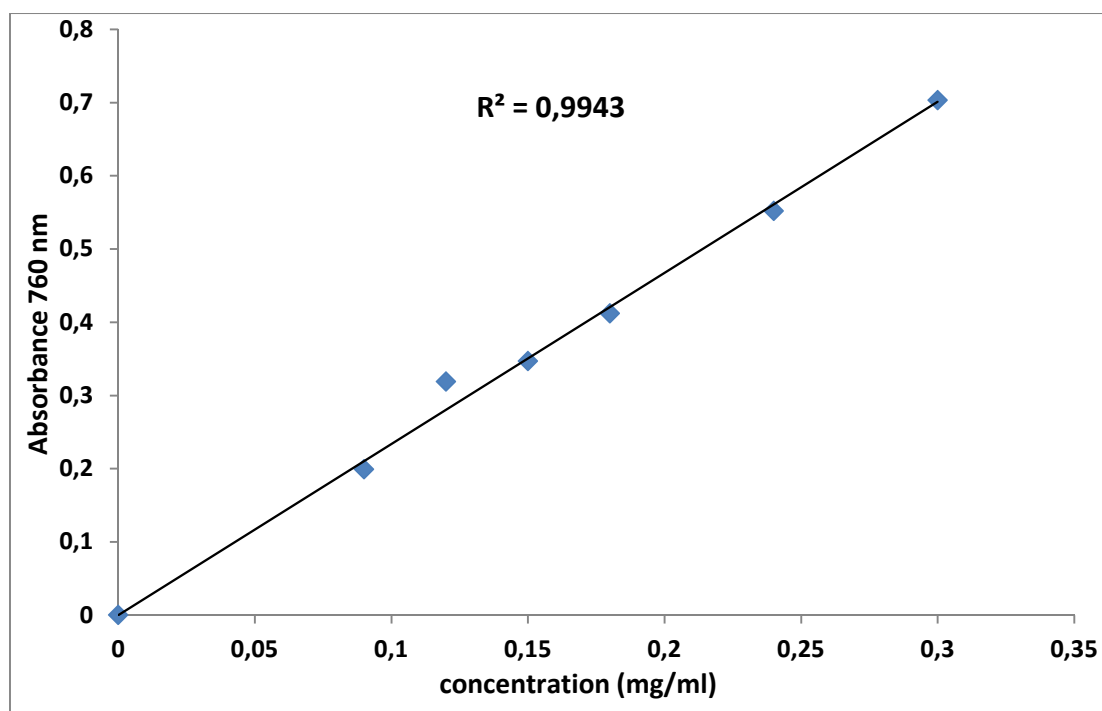


Figure 06 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Le tableau 10, résume les teneurs en phénols totaux pour les deux méthodes d'extraction de la plante *Globularia alypum L.*

Tableau 10 : Teneurs en phénol totaux des extraits obtenus de la plante *Globularia alypum L.*

| Extraits | Teneur en phénols totaux (mg EAG/g) |
|------------------|-------------------------------------|
| Aqueux | 8,17 ± 1,28 |
| Acétate d'éthyle | 3,45 ± 0,31 |

D'après le tableau ci-dessus, nous remarquons que l'extrait aqueux a enregistré la meilleur teneur en phénols totaux 8,17 mg EAG/g par rapport à l'extrait d'acétate d'éthyle 3,45mg EAG/g, ceci peut être expliqué que cette méthode d'extraction est très sensible à la réduction de tous les groupes d'hydroxyles non seulement celles des composés phénoliques ce qui indique que l'extrait brut aqueux obtenus contiennent d'autre composés polaires à part les phénols tel que : les protéines, les sucres simples (glucose), les glycoprotéine (Gomez Caravaca *et al.*,2006).

En comparant nos résultats des teneurs en phénols totaux avec des études qui ont été faites par Touaibia. m.,Chaouch.f., 2015 ou les valeurs du contenu phénolique total de l'espèce *Globularia alypum L.*, pour un extrait éthanolique est supérieur à celle enregistré dans

notre étude 198 mg EAG/g .Par contre Dans une autre étude réalisée par **Kouidri.F., Nakmouche. N., 2013** sur la même espèce a montré des teneurs inférieures que celles qu'on a enregistré 2.07 mg EAG/g. Et ceci peut être due aux plusieurs facteurs qui peuvent influencer sur la répartition qualitative et quantitative des composés phénoliques dans nos extraits, parmi ces facteurs : les facteurs climatique et environnementaux (**Ebrahimi et al., 2008**) et la période de récolte et conservation (**miliauskas et al., 2004**) ainsi, la méthode d'extraction et de quantification, et aussi la sélectivité du solvant utilisée peuvent également influencer sur la teneur en polyphénols totaux (**Lee et al., 2003**).

-2-3-Dosage des flavonoïdes :

La quantification en flavonoïdes dans nos extraits a été réalisée par la méthode colorimétrique de chlorure d'aluminium $AlCl_3$. Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par Lamaison et Carnat.

La teneur en flavonoïdes de chaque extrait a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage de la quercétine précédemment réalisée (figure 07) et exprimée en milligrammes équivalents en quercétine par gramme de la matière sèche. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 11.

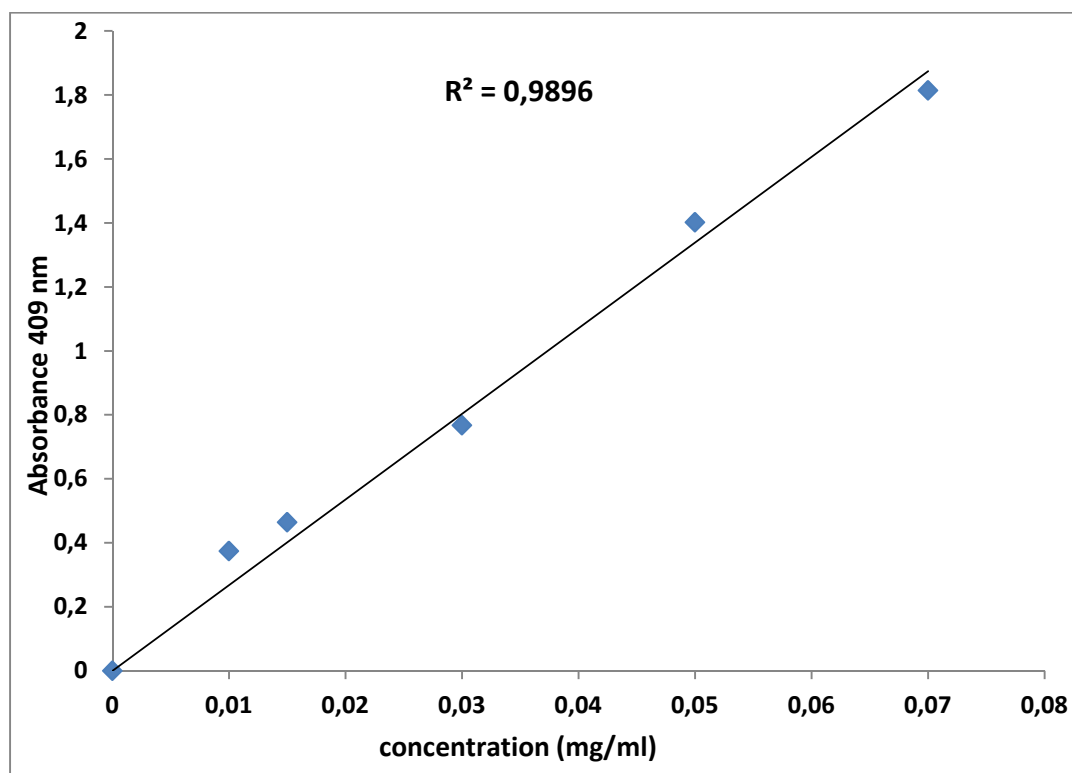


Figure 07 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.

Tableau 11 : Teneurs en flavonoïdes des extraits obtenus de la plante *Globularia alypum L.*

| Extraits | Teneur en flavonoïdes (mg/g) EQ |
|-------------------------|---------------------------------|
| Aqueux | 2,94 ± 0,44 |
| Acétate d'éthyle | 1,12 ± 0,06 |

D'après les résultats mentionner dans le tableau 11, la détermination quantitative des flavonoïdes révèle que les teneurs en flavonoïdes occupent le tiers de teneurs en phénol totaux, ce qui peut être expliqué par le fait que presque la majorité des phénols extrait sont des flavonoïdes. et ceci n'empêche pas que les extraits contiennent d'autre composés phénoliques possédant autres structures chimiques que celles des flavonoïdes (tanins), Nous avons confirmé l'existence de ce dernier par les tests phytochimiques.

Si on compare ces teneurs en flavonoïdes avec des autres études, Nous constatons que nos résultats sont similaires à ceux mentionnés par **Boussoualim.N., 2014** qui montre que la plante *Globularia alypum L* présente une teneur en flavonoïde de l'extrait aqueux égale à (2,64 mg EQ/g).

Par contre dans une autre étude réalisée par **R. Ben Mansour et al; 2012** sur la même plante, la teneur en flavonoïde est très loin et nettement supérieur par rapport à nos résultats, ils ont enregistré une teneur égale à (78,82 mg EQ/g). Cette teneur a été obtenue à partir de même espèce poussant au Tunisie, ce qui laisse supposer que l'écologie de la plante est un facteur déterminant sur sa composition en flavonoïdes.

-3-Evaluation de l'activité antioxydante *in vitro* :

-3-1- Résultats du pouvoir antioxydant du radical libre DPPH :

La mise en évidence de l'activité antioxydante de nos extraits a été évaluée *in vitro* utilisant le test DPPH, le changement de couleur du violet vers le jaune lorsqu'il est réduit par l'un des processus soit l'hydrogénation et donneur d'électrons. Les substances qui provoquent cette réaction sont considérées comme antioxydants et par conséquent piègeur de radicaux est mesurable à 517nm.

Le pouvoir antioxydant de nos extraits vis-à-vis le radical libre DPPH a été exprimé par la variation des pourcentages d'inhibition (PI%) en fonction de différentes concentrations des

extraits, Les résultats présentés dans la figure 08 montrent les valeurs obtenues (PI%) de l'acide ascorbique comme standard et (PI%) de chaque extrait, qui nous ont permis de tracer les graphes des différences proportion d'inhibition en termes de concentration des composés phénoliques (PI % =f(C)).

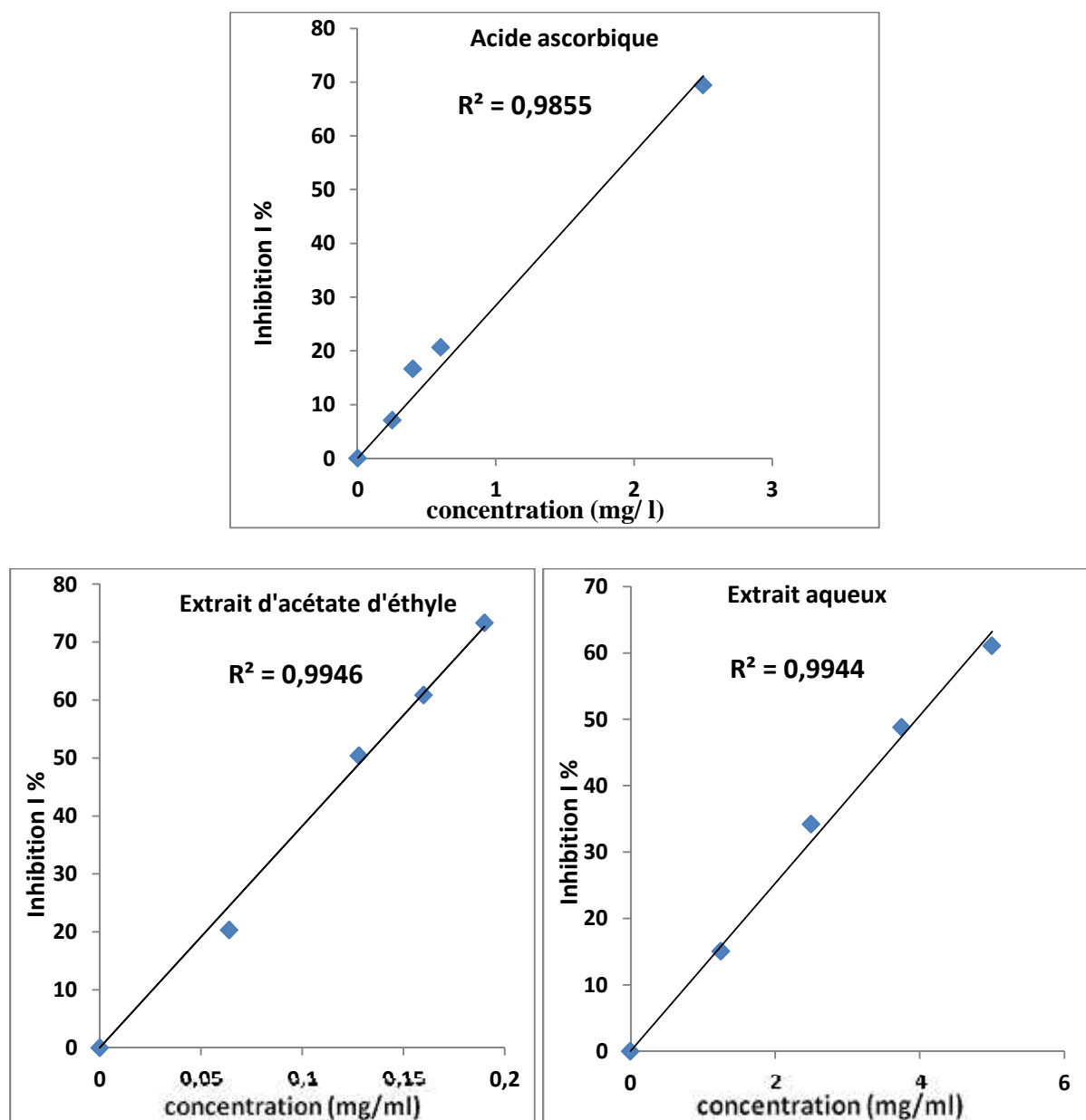


Figure 08 : Graphes représentant la variation du pourcentage d'inhibition (PI) % en fonction des concentrations en composés phénoliques pour les deux extraits: organique, aqueux et en fonction de concentration de la vitamine C.

Puisque la valeur d'EC₅₀ présente la concentration d'un antioxydant nécessaire pour piéger 50% de radical DPPH., qui ont été calculé à partir des courbes de la variation des pourcentages d'inhibition I% en fonction de la concentration de chaque extrait phénolique et de la Vitamine C choisis comme antioxydant standard à fin de comparer nos extraits (Tableau 12). Une faible valeur d'EC₅₀ pour un antioxydant indique que l'antioxydant comporte comme un piégeur efficace des radicaux.

Tableau 12: Les valeurs d'EC₅₀ en (µg/ml) des deux extraits de la plante *Globularia alypum L* et d'antioxydant standard.

| Extraits | EC ₅₀ µg/ml |
|------------------|------------------------|
| Aqueux | 264 ± 13,44 |
| Acétate d'éthyle | 0,345 ± 0,064 |
| Acide ascorbique | 0,063± 0,006 |

A la lumière de ces résultats, nous pouvons déduire que nos extraits possèdent un pouvoir antioxydant important avec un pourcentage d'inhibition qui dépasse 70% pour l'extrait d'acétate d'éthyle et 60% pour l'extrait aqueux. D'autre part nous avons remarqué une importante activité antiradicalaire chez l'extrait d'acétate d'éthyle qui se traduit par une faible valeur d'EC₅₀ 0.345 µg/ml, que l'extrait aqueux qui enregistre la grande valeur d'EC₅₀ 264 µg/ml, on peut envisager que l'extrait aqueux a perdu quelques principes actifs suite à la chaleur qui auront pu donner plus d'efficacité sur la neutralisation du radical DPPH (**Lafka et al., 2007**).

On comparant nos résultats avec une étude menée par **Bekhaoua.A et Ben Sayah.N, 2015** sur l'activité antioxydant de quelques plantes médicinales (*Cistus SP*, *Salviaofficinalis*, *Zygophyllum album*). Notre plante *Globularia alypum L* présente une valeur d'EC₅₀ très faible, et elle a prouvé leur fort pouvoir antioxydant par rapport aux d'autres plantes (figure 09). Cette différence peut être due aux composition chimique de la plante et les principaux produits naturels responsables à cette activité et d'autre activité thérapeutiques, nous citons les acides phénols:acide p-hydroxybenzoïque, acide vanillique, acide syringique, acide caféique, acide 3-résorcylique, acide sinapique, acide p-coumarique et acide férulique (**Ben Hassine et al., 1982**).

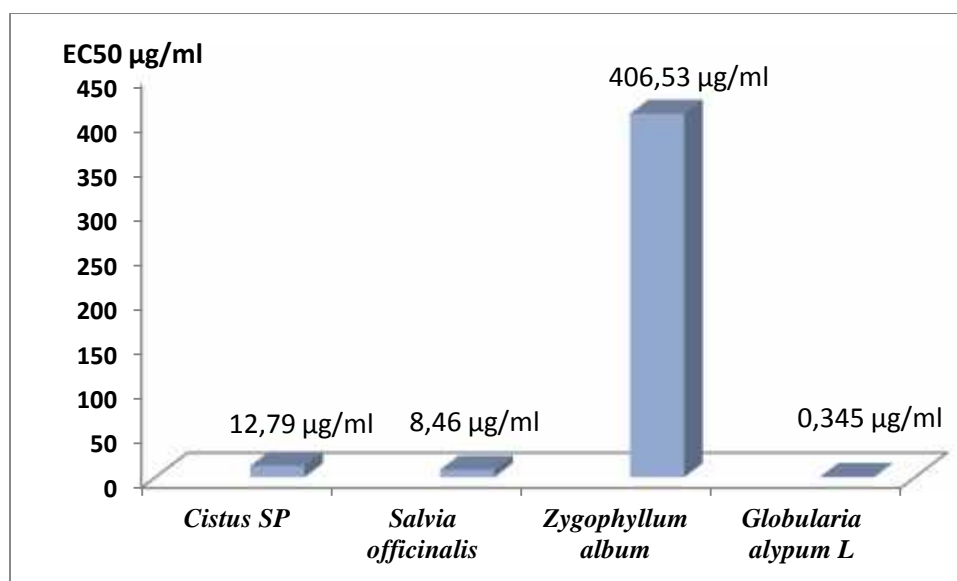


Figure 09 : Histogramme représentant les EC₅₀ du pouvoir antioxydant de quelques plantes médicinales.

Une étude récente réalisée par **Boussoualim.N., 2014** sur l'activité antioxydant de la même plante *Globularia alypum L*, a enregistré une valeur d'EC₅₀ de 37,48µg/ml et 336,58 µg/ml pour l'extrait d'acétate d'éthyle et aqueux respectivement par contre dans notre étude les valeurs d'EC₅₀ ont été meilleurs 0,345 et 264 µg/ml pour les deux extraits acétate d'éthyle et aqueux respectivement. Cette différence peut être liée au nombreux facteurs (la méthode et le temps d'extraction, la nature de solvant leur concentration et leur polarité, le lieu de récolte ou l'origine de plante, les conditions climatiques, la granulométrie ... (**Tiwari et al., 2011**).

Nos résultats sont confirmés par, **Khelifi et al., 2005** qui a expliqué, le grand pouvoir antioxydant de l'extrait méthanolique de la plante *Globularia alypum L* par la présence de la quantité élevé des polyphénols et flavonoïdes, en plus la présence des nouvelles molécules actifs : (6-hydroxyluteoline, 7-O-laminaribioside ,....ect)

-4-Effet d'inhibition de la plante *Globularia alypum L* sur l' -amylase :

-4-1-Test d'inhibition :

Dans notre étude, la mise en évidence de l'activité inhibitrice de nos extraits organique et aqueux, vis-à-vis l' -amylase a été effectuée par des tests d'inhibitions *in vitro*.

D'après les résultats des tests d'inhibitions, nous avons remarqué que les deux extraits aqueux et d'acétate d'éthyle présentent un potentiel d'inhibition vis-à-vis d' α -amylase. Les représentations graphiques de la variation des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations en extraits (figure 10), nous ont permis de déterminer les valeurs d'IC₅₀ pour les deux extraits, qui représente la concentration d'inhibiteur nécessaire pour diminuer la vitesse réactionnelle jusqu'à 50 % de sa valeur maximale non-inhibée (tableau 13)

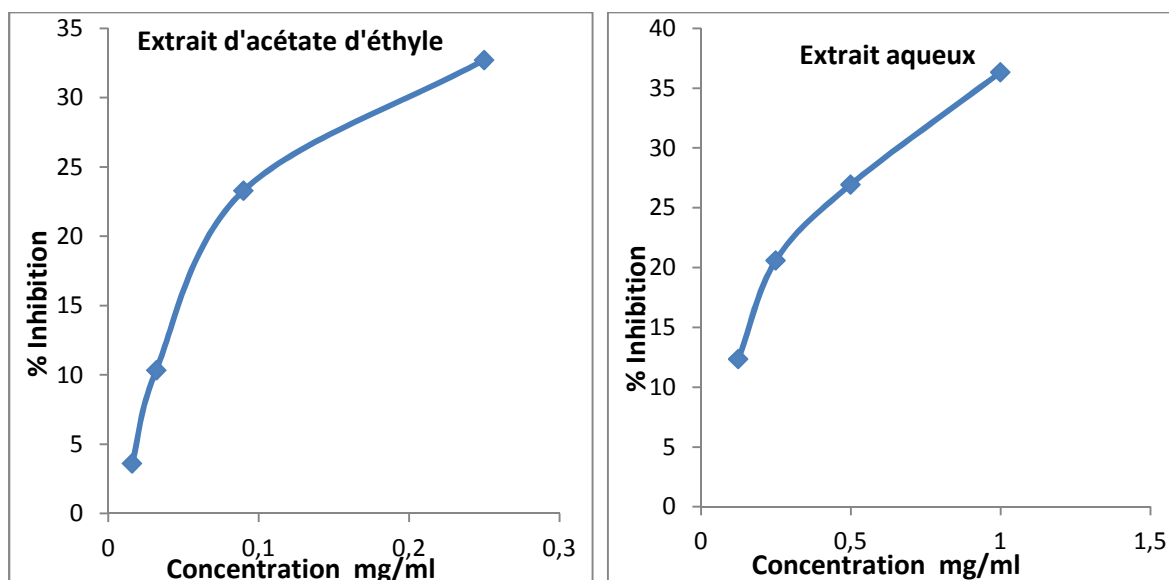


Figure 10 : courbes représentant la variation du pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations des deux extraits aqueux et d'acétate d'éthyle.

Tableau 13 : valeurs d'IC₅₀ en (mg/ml) des deux extraits de la plante *Globularia alypum L*

| Extraits | IC ₅₀ mg/ml |
|------------------|------------------------|
| Aqueux | 1,35 ± 0,33 |
| Acétate d'éthyle | 0,20 ± 0,09 |

D'après nos résultats mentionnés dans le tableau 13, on constate que les deux extraits de la plante *Globularia alypum L* ont une activité inhibitrice sur l' α -amylase et enregistrées des valeurs d'IC₅₀ variée entre 0,20 et 1,35 mg/ml pour l'extrait d'acétate d'éthyle et l'extrait aqueux respectivement, ceci peut être due à la présence des molécules spécifiques qui sont responsable à cette inhibition car plusieurs composés phénoliques sont doués d'une activité inhibitrice de l' α -amylase, essentiellement les flavonoïdes (Sales *et al.*, 2012).

Nous avons constaté un résultat intéressant concernant l'extrait d'acétate d'éthyle qui a enregistré la meilleur IC₅₀ par rapport à l'extrait aqueux. Ces résultats rejoignent ceux trouvés par Khacheba *et al.*, (Aout 2014) qui constatent que la faible activité d'extrait aqueux

peut être attribuée à l'enzyme oxydase des polyphénols, qui a peut dégrader les polyphénols extraits dans de l'eau, tandis que dans le méthanol et l'éthanol sont inactives. De plus l'eau est un meilleur milieu pour l'apparition des micro-organismes.

En plus, en comparant nos résultats concernant le pouvoir inhibiteur de la plante *Globularia alypum.L* avec l'étude qui a été faite par **Khacheba et al, Aout (2014)**, qui s'intéressent aux 20 plantes antidiabétiques utilisant l'extrait aqueux. Parmi eux nous avons choisi 04 espèces (*Ajuga iva*, *Aloe socotrina*, *Haloxylon scoparium*, *Marrubium vulgare*), qui ont enregistré un effet inhibiteur sur l'activité de l' -amylase avec un pourcentage d'inhibition de 70,31%, 30,19%, 53,61%, et 8,29%, respectivement (figure11).

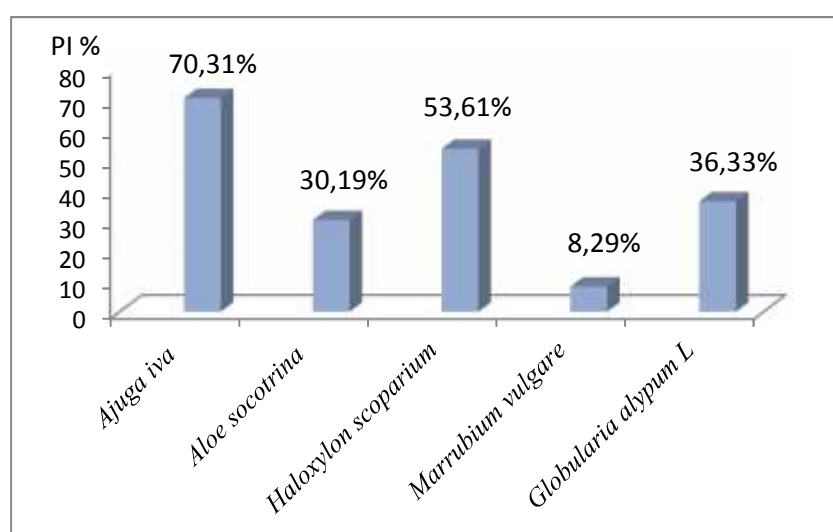


Figure 11 : Histogramme représentant le pourcentage d'inhibition amyliasique de quelques plantes médicinales.

Enfin, (**Zerriouh., 2008**) a montré de leur part que la plante *Globularia alypum L* a présenter un effet bénéfique sur l'hyperglycémie poste prandial ou l'hyperglycémie des diabétiques dans une étude sur l'activité antidiabétique réalisés *in vivo*. Ils ont prouvé que l'injection intra- péritonéale de la globularine (composé majoritaire de la plante) par une dose 100 mg/kg diminue significativement l'hyperglycémie chez les rats normaux, ainsi que les rats diabétiques avec un pourcentage de diminution de 10,4% et 27,17% respectivement.

Conclusion Générale

La plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde possèdent des vertus thérapeutiques, car elles contiennent des produits chimiques agissant directement sur l'organisme. On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie.

En effet, les produits chimiques auxquels les plantes médicinales leurs doivent plus souvent, leurs propriétés, appartiennent à cette catégorie de substances qu'on range habituellement aujourd'hui parmi les métabolites secondaires. De ce fait, notre travail vise à évaluer l'activité antioxydante et l'activité inhibitrice sur l'enzyme α -amylase par un test d'inhibition *in vitro* des extraits phénolique de la plante «*Globularia alypum L*» qui est très connue pour leur effet hypoglycémiant.

Dans un premier temps, nous avons réalisé des tests phytochimiques afin d'avoir une idée sur les principes actifs présent dans la plante choisie et confirmer l'existence des composés phénoliques. Puis nous avons extrait ces derniers par deux méthodes différentes : hydro-alcoolique et aqueuse.

En outre nous avons procédé a la quantification des phénols totaux par la méthode de Singleton et Ross, et des flavonoïdes en utilisant la méthode de Lamaison et Carnat.

Les résultats montrent clairement que les teneurs en phénols totaux pour l'extrait d'acétate d'éthyle et l'extrait aqueux sont respectivement égales à 3,45 et 8,17 (mg/g) équivalent en acide gallique. Tandis que les teneurs en flavonoïdes varient entre 1,12 (mg/g) EQ pour l'extrait d'acétate d'éthyle et 2,94 (mg/g) EQ pour l'extrait aqueux.

Le potentiel antioxydant de nos extraits a été déterminé par la méthode de DPPH dont les résultats montrent que la plante *Globularia alypum L* porte un pouvoir antioxydant important, avec des valeurs d'EC₅₀ allant de 0,34 μ g/ml et 264 μ g/ml pour les deux extraits hydro-alcoolique et aqueux respectivement

Nous avons également mettre en évidence pour la première fois l'activité inhibitrice de nos extraits phénoliques sur l'enzyme α -amylase par un test d'inhibition *in vitro*, les résultats obtenus à travers ce test montrent que notre plante présente un effet inhibiteur vis-à-vis l' α -amylase avec des valeurs d'IC₅₀ égale à 1,35 mg/ml pour l'extrait aqueux et 0,20 mg/ml pour l'extrait d'acétate d'éthyle.

Notons enfin que ce travail va nous ouvrir des horizons de recherche ciblés dans le domaine des plantes utilisées en médecine traditionnelle, notamment en termes de mise en évidence des principes actifs et l'évaluation de leurs activités biologiques.

En perspectives de cette étude il serait souhaitable d'approfondir notre étude en s'intéressant notamment à l'isolement des molécules bioactives dans nos extraits par les différentes techniques chromatographiques et l'identification de leurs structures à l'aide des méthodes spectroscopiques.

Il est même possible d'évaluer aussi les activités biologiques de ces molécules *in vivo* afin d'élucider et préciser leurs mécanismes d'action.

Références bibliographiques

- 1. Ait Youssef., 2006.** Plantes médicinales de Kabylie, p155-156, 159-160, 213, 295.
- 2. Arya D.S.,2011.**Upregulation of PPAR by Aegle marmelos ameliorates insulin resistance and -cell dysfunction in high fat diet fed-streptozotocin induced type 2 diabetic rats. *Phytotherapy Research*; 25: 1457-1465.
- 3. Azzi Rachid., 2013.** Contribution à l'étude de plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du diabète sucré dans l'Ouest algérien : enquête ethnopharmacologique ; Analyse pharmaco-toxicologique de Figuier (*Ficus carica*) et de coloquinte (*Citrullus colocynthis*) chez le rat Wistar, Thèse de doctorat.
- 4. Azzi R., Djaziri R., Lahfa F., Sekkal F.Z., Benmehdi H., Belkacem N., 2012.** Ethnopharmacological survey of medicinal plants used in the traditional treatment of diabetes mellitus in the North Western and South Western Algeria. *Journal of Medicinal Plants Research*; 6(10): 2041-2050.
- 5. Azzi R., Djaziri R., Lahfa F., 2009.** Recherche des effets anti-hyperglycémiantes des glycosides cucurbitacines extraits des graines de coloquinte (*Citrullus colocynthis*) sur des rats Wistar normaux et rendus diabétiques par la Streptozotocine. *Substances Naturelles et innovation thérapeutiques*; 1 :50-52.
- 6. Allali H., Benmehdi H. , Dib M.A., Tabti B., Ghalem S., Benabadji N., 2008.** Phytotherapy of Diabetes in West Algeria. *Asian journal of chemistry*; 20 (04): 2701-2710.
- 7. ANAES (l'Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé), 2000.** Stratégie de prise en charge du patient diabétique de type 2 à l'exclusion de la prise en charge des complications. Service des Recommandations et Références Professionnelles. Paris; ISBN: 2-910653-73-0.
- 8. Baba Aissa., 2000.** Encyclopédie des plantes utiles, flore d'Algérie et du Maghreb, édition EDAS, p45-125.
- 9. Barbeau MC (2006):**Le diabète de grossesse. *Diabetes Québec*. 2-5.
- 10. Barouki R., 2006.** Stress oxydant et vieillissement. *Médecine / sciences* 22 :266-72.
- 11. Bartosz G.,2003.** Generation of reactive oxygen species in biological systems. *Comments on Toxicology* 9, 5-21.
- 12. Bahorun., 1997.** Substances naturelles actives: la flore Mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. AMAS Food and Agriculture research council. Réduit Mauritius.
- 13. Bekhaoua.A., Ben Sayah.N., 2015.** Evaluation de l'activité antioxydante et étude de l'effet inhibiteur sur l' α -Glucosidase de quelques plantes antidiabétiques. Mémoire de Master.

14. **Benmehdi H., Azzi R., Djaziri R., Lahfa F., Benariba N., Tabti B., 2011.** Effect of saponosides crude extract isolated from *Citrullus colocynthis* (L.) seeds on blood glucose level in normal and streptozotocin induced diabetic rats. *Journal of Medicinal Plants Research*; 5(31): 6864-6868.
15. **Benfeld P., 1955.** Amylases, and . *Meth.Enzymologie*; 1: 149-58
16. **Ben Hassine B., Bui A. M., Mighri Z., Cavé A., Pl. Méd.,1982.** *Phytother.*,16, 197—205.
17. **Bhowmik A., Khan L.A., Akhter M., Rokeya B., 2009.** Studies on the antidiabetic effects of *Mangifera indica* stem-barks and leaves on nondiabetic, type 1 and type 2 diabetic model rats. *Bangladesh J. Pharmacol.*; 4:110-114.
18. **Biesida, A., Tomczak, A.,2012.** Biotic and abiotic factors affecting the contentof the chosen antioxydant componds in vegetables. *Wroclaw university of environmental and life sciences grunwaldzka 24 a,53-363 wroclaw, volume 76 p 55-78*
19. **Bonnaillie, B., Salacs, M., Vassiliova, E., Saykova, I, 2012.** Etude de l'extraction de composés phénoliques à partir de pellicules d'arachide, (*Arachis hypogaea* L.). *Revue de génie industriel 7* : 35-45.
20. **Bora., 2008.** Indian medicinal herbs as sources of antioxydants, *Journal of Food and Research International*, volume 41 p1-15.
21. **Boussoualim, N., 2014.** Activités biologiques de plantes médicinales: *Anchusa azurea* Mill. et *Globularia alypum* L. Thèse de doctorat, Université Ferhat Abbas Sétif 1.
22. **Bruneton J., 1999.** *Pharmacognosie-Phytochimie-Plantes médicinales. Technique et documentation.*Lavoisier 3ème édition.
23. **Bruneton J., 1993.** *Pharmacognosie Phytochimie Plantes médicinales.* Lavoisier 2ème édition: 535-545.
24. **Chethan, S., Sreerama, Y.N., Malleshi, N.G., 2008.** Mode of inhibition of finger millet malt amylases by the millet phenolics. *Journal of Food Chemistry*, volume 111p 187-191.
25. **Choi S.B., Park S., 2002.** A steroidal glycoside from *Polygonatum odoratum* (Mill.) Druce. Improves insulin resistance but does not alter insulin secretion in 90% pancreatectomized rats. *Biosci. Biotechnol. Biochemistry*; 66: 2036-2043.

- 26. Choudhary M.I., Adhikari A., Rasheed S., Marasini B.P., Hussain N., Kaleem W.A., Rahman A.,2011.** Cyclopeptide alkaloids of *Ziziphus oxyphylla* Edgw as novel inhibitors of -glucosidase enzyme and protein glycation. *Phytochemistry Letters*; 4: 404-406.
- 27. Congo M., 2012.** Etude des propriétés antiradicalaire et antiproliférative d'extraits de feuilles et de rameaux de *Salvadora Persica* L. (Salvadoraceae).Thèse de pharmacie. Université d'Ouagadougou Burkina Faso : 42p.
- 28. Delattre J., théron P., Bonnefont-Rousselot D., 2005 .** Espèces réactives de l'oxygène antioxydants et vieillissement .In : Delattre JB, Bounefont-Ronselot D, eds. Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et pathologiques. Paris : La voisier : 281-309.
- 29. Eddouks M., Ouahidi M.L., Farid O., Moufid A., Khalidi A., Lemhadri A., 2007.** L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Maroc. *Phytothérapie* ; 5: 194-203.
- 30. Dias T., Bronzea M.R., Houghton P.J., Mota-Filipea H., Paulo A., 2010.** The flavonoid-rich fraction of *Coreopsis tinctoria* promotes glucose tolerance regain through pancreatic function recovery in streptozotocin-induced glucose-intolerant rats. *J. of Ethnopharmacol.* 132: 483-490.
- 31. Dhani, T.,Shah, S., Gajbhiye, N.A., Kumar, S., 2013.** Effect of extraction methods on yield , phytochemical constituents and antioxydant activity of *Withania somnifera*. *Arabian journal of Chemistry*.
- 32. Ebrahimi N.S., Hadian J., Mirjalili M.H., Sonboli A., et Youcef Zadi M.,(2008).** Essential oil composition and antimicrobial activity of thymus caramanicus at different phonological stages.*Food chemistry.*, 110:927-931.
- 33. E.Portes., 2008.** Synthèse et Etudes de Tétrahydrocurcuminoïdes : Propriétés Photochimiques et Antioxydantes, Applications à la Préservation de Matériaux d'Origine Naturelle. Thèse de doctorat Université Bordeaux I. p 44-46.
- 34. E. Nkhili., 2009.** Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant Thèse de doctorat Université de MARRAKECH. 187-193
- 35. Es- Safi N.E ; Khlifi S; Kollmann A; Kherhoas L; El abbouyi A; et Ducrot P.H;2006.** Iridoid Glucosides from the Aerial parts of *Globularia alypum* L *Chem.. Pharm. Bull*;54:1, 85-88.
- 36. Evans,J.L. Goldfine,I.D. Maddux,B. Grodsky,G.M.,2003 .**Are oxidative stress-activated signaling pathways mediators of insulin resistance and beta-cell dysfunction .*Diabetes*.Vol 52:1–8.

- 37. Favier, A., 2006.** Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales Pharmaceutique Francaises*, volume 64 p 390-396.
- 38. Georgieva S., Boyadzhiev L., Angelov G., 2010.** Caractérisation des vins bulgares par leur capacité antioxydant. *Revue de génie industriel.* (5):124-132.
- 39. Gerrard, J.A., Prince, M.J. and Abell, A.D., (2000).** Kinetic Characterisation of EneDiol-Based Inhibitors of α -Amylase, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters.* 1575-6.
- 40. Gordon, M., H., 1990.** The mechanism of antioxidant action in vitro. *In: B.J.F. Hudson (Ed.), Food antioxidants Elsevier Applied Science, London:* 1-18.
- 41. Guignard J.L., Cosson L., Henry M., 1985.** Abrégé de phytochimie. Ed Masson : 175-203.
- 42. Goetz .P., 2007.** Phytothérapie du diabète. Springer; 5: 212–217.
- 43. Goldenberg, R., Punthakee, Z., 2013.** Définition, classification et diagnostic du diabète, du prédiabète et du syndrome métabolique. *Canadian Journal of Diabetes* , volume 37 p S369-S372.
- 44. Gómez-Caravaca, A. M., Gómez-Romero, M., Arráez-Román, D., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A., 2006.** Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41, 1220-1234.
- 45. Hamza N., 2011.** Effets préventif et curatif de trois plantes médicinales utilisées dans la Wilaya de Constantine pour le traitement du diabète de type 2 expérimental induit par le régime « high fat » chez la souris C57BL/6J. Thèse Doctorat en science alimentaire option : Nutrition. Univ. Mentouri Constantine, Institut de Nutrition de l'alimentation et des Technologies agroalimentaires : 32-61.
- 46. Harborn, A. J., 1998.** *Phytochemical Methods A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*, Springer Netherlands Edition Number 3
- 47. Heo. S.J., Hwang .J.Y., Choi .J.L., Han. J.S., Kim. H.J., Jeon .Y.J., 2009.** Diploretohydroxycarmalol isolated from *Ishige okamurae*, a brown algae, a potent α -glucosidase and α -amylase inhibitor, alleviates postprandial hyperglycemia in diabetic mice. *Eur J Pharmacol.* Volume 615 pp 252–256.
- 48. Henquin J.C., 2005.** Le traitement pharmacologique du diabète de type 2 : mode d'action des médicaments d'aujourd'hui et de demain. *Louvain Med.* ; 124 : S39-S46.

- 49. Herold Gerd., 2012** . Médecine interne, 4^e édition., pp 695-697.
- 50. Jarald E., Joshi S.B., Jain D.C., 2008.** Diabetes and herbal medicine. Iranian Journal of Pharmacology and therapeutics; 7: 97-106.
- 51. Johan Wens., Patricia Sunaert., Frank Nobels., Luc Feyen., 2007:**Validé par le CEBAM sous le numéro 2005/02 SSMG Diabète sucré de type 2.
- 52. Kako M., Miura T., Nishiyama Y., Ichimaru M., Moriyasu M., Kato A., 1997.** Hypoglycemic activity of some triterpenoid glycosides. J. Nat. Prod. 60: 604-605.
- 53. Kamalakkannan N., Prince P.S., 2005.** The effect of *Aegle marmelos* fruit extract in streptozotocin diabetes: A histopathological study. Journal of Herbal Pharmacotherapy; 5: 87-98.
- 54. Kambouche N., Merah B., Derdour A., Bellahouel S., Benziane M.M., Younos C., Firkioui M., Bedouhene S., Soulimani R., 2009.** Etude de l'effet antidiabétique des saponines extraites d'*Anabasis articulata*, plante utilisée traditionnellement en Algérie. Phytothérapie ; 7: 197-201.
- 55. Kawakami M., Hirayama A., Tsuchiya K., Ohgawara H., Nakamura M., Umezawa K., 2010** Promotion of β -cell differentiation by the alkaloid conophylline in porcine pancreatic endocrine cells. Biomedicine & Pharmacotherapy; 64: 226-231.
- 56. Khacheba, I., Djeridane, A., Yousfi, M., August 2014.** Twenty Traditional Algerian Plants Used in Diabetes Therapy as Strong Inhibitors of α -Amylase Activity. International Journal of carbohydrate chemistry. Article ID 287281, p1-12.
- 57. Khacheba, I., Djeridane, A., Kameli, A., Yousfi, M., 2014.** The Inhibitory Effect of Some Algerian Plants Phenolics Extracts on the α -glucosidase and α -amylase Activities and their Antioxydant Activities. Current Enzyme Inhibition, Volume 10, p59-68.
- 58. K. Bouhadjra., 2011,** étude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge, thèse pour l'obtention du diplôme de magister, Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou.
- 59. Khlifi S., Hachimi Y.E., Khalil A., Es-Safi N., Abbouyi A.E., 2005.** In vitro antioxidant effect of *Globularia alypum* L. hydromethanolic extract. Indian. J. Pharmacol., 37:227-31.
- 60. Kouidri.F., Nakmouche. N., 2013.** L'activité antioxydante des extraits phénoliques de l'espèce *Globularia alypum* L, Mémoire pour l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en biologie.

- 61. Korshunov, S.S., Skulachev, V.P., Starkov, A.A., 1997.** High protonic potential actuates a mechanism of production of reactive oxygen species in mitochondria. *FEBS letters*. Vol 416: 15-18.
- 62. Kumar, S ; Narwal, S; Kumar, V; Prakash, O ; 2011.** α -glucosidase inhibitors from plants: A natural approach to treat diabetes. *Pharmacognosy Reviews*. 5(9): 19-29.
- 63. Lakfa, T.I., Sinanoglou, V., Lazos, E.S., 2007.** On the extraction and antioxidant activity of phenolic compounds from winery wastes. *Food Chemistry*, volume 104, p :1206-1214.
- 64. Lamba S.S., Buch K.Y., Lewis H., Lamba H.J., 2000.** Phytochemicals as potential hypoglycemic agents. *Studies in Natural Products Chemistry*; 21: 457- 496.
- 65. Lee K.W., Kim Y.J., Lee H.J., et Lee C.Y., (2003).** Cacao has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Food chemistry*, 51: 7292-7295.
- 66. Li Y., Wen S., Kota B.P., Peng G., Li G.Q., Yamahara J., Roufogalis B.D., 2005.** *Punica granatum* flower extract, a potent α -glucosidase inhibitor, improves postprandial hyperglycemia in Zucker diabetic fatty rats. *J. Ethnopharmacol.*; 99 (2): 239-244.
- 67. Lü H., Chen J., Li W.L., Ren B.R., Wu J.L., Zhang H.Q., 2009.** Hypoglycemic effect of the total flavonoid fraction from *Folium Eriobotryae*. *Phytomedicine*; 16(10): 967-971.
- 68. Maataoui B S., Hmyene A., Hilali S., 2006.** Activités anti-radicalaires d'extraits de jus de fruits du figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*). *Lebanese Science Journal*. (1):3-8.42
- 69. Mabry T.J., Markham K.R., Thomas M.B., 1970** The ultraviolet spectra of flavones and flavonols., editors. *The Systematic Identification of Flavonoids*. V Springer; New York.
- 70. Macheix J-J, Fleuriet. A, Jay-Allemand. C, 2005,** les composés phénoliques des végétaux, un exemple de métabolites secondaires d'importance économique, presses polytechniques et universitaires romandes, 67-162 pp.
- 71. Markham, K.R., 1982** Techniques of flavonoid identification. Academic Press. London.
- 72. Miliauskas G., Venskutonis P.R., et Van Beek T.A., (2004).** screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extract. *Food chemistry*. 85:231-237.
- 73. Mojab, F., Kamalinejad, M., Ghaderi, N., Vahidipour, H. R., 2003.** Phytochemical Screening of some Species of Iranian Plants. *Iranian journal of Pharmaceutica. Research* : pages.77-82.

- 74. Molyneux P., Songklanakarin J., 2004.** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *SciencesTechnology* .Vol 26 (2) : 211-219.
- 75. Morel C., 2007.** Etude de la régulation de la sulfhydryl oxydase GSOX1 et de son implication dans l'apoptose induite par le stress oxydant-Thèse de Doctorat de l'université de Franche Comté .
- 76. Moure,A.,Cruz J.M., Franco,D.,Domnguez J.M.,Sineiro J., Domnguez H., et al .,2001.**Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*, 72:145-171
- 77. Mukherjee P.K., Maiti K., Mukherjee K., Houghton P.J., 2006.** Leads from Indian medicinal plants with hypoglycemic potentials. *J. of Ethnopharmacol* ; 106: 1-28.
- 78. N. Zeghad., 2009.** Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne Mémoire de Magister Université de Constantine. p 17-19-41-69.
- 79. OMS (Organisation mondiale de la Santé), 2002b.** Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2002–2005. Genève, WHO/EDM/TRM/2002.1: 1-63.
- 80. OMS (Organisation mondiale de la Santé), 2016.** Rapport mondial sur le diabète Genève (Suisse).
- 81. P. Drouin., J.F. Blickle, B. Charbonnel, E. Eschwege, P.J. Guillausseau, P.F. Plouin,**
- 82. J.M. Daninos, N. Balarac, J.P. Sauvanet., 1999.** *Diabetes & Metabolism* (Paris) Diagnostic et classification du diabète sucré les nouveaux critères Vol 25, p. 72 1999.
- 83. Polunin et Huxley, 1967.** fleurs de bassin méditerranéen. Ed Fernand Nathan, Paris.
- 84. Pournaras, C., 2008,** Pathologies vasculaires oculaires, Elsevier Masson, 181, 183.
- 85. Quettier Delen, C., 2000.** Phenolic compounds and anti-oxidant activities of bruck Weathull and flour. *Journal of Elhnopharmacology*. Volume 13 Pages 35- 42.
- 86. R. Ben Mansour., B. Gargouri., B. Gargouri., N. Elloumi., I. Ben haj Jilani., Z.Ghrabi-Gammar and S. Lassoued., 2012** Investigation of antioxidant activity of alcoholic extract of *Globularia alypum* L. *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 6(25), pp.4193-4199.
- 87. Sachon C, Cornet P., Grimaldi A., 2004.** Diagnostic du diabète. In *Diabète de typeII*, coordonné par Grimaldi A. EMC référence, Elsevier, Paris : 83-101.

- 88. Salehi, S., Aynehchi, G. H., Mahamdi, Z., 1992.** Survey of Iranian plants for saponins, alkaloides, flavonoids and tanins, J Sch of Pharm. Tehran : Pages 281- 291.
- 89. Sanchez-Moreno C., 2002.** Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. Int J Food Sci Technol 8 :121-37.
- 90. Shahin, S. A., Naresh, K., Abhinav, L., Angad, S., Hallihosur S., Abhishek, S., Utpal,**
- 91. Sharma A.K., Bharti S., Goyal S., Arora S., Nepal S., Kishore K., Joshi S., Kumari S., Kambouche N., Merah B., Derdour A., Bellahouel S., Benziane M.M., Younos C., Firkioui M., Bedouhene S., Soulimani R., 2009.** Etude de l'effet antidiabétique des saponines extraites d'*Anabasis articulata*, plante utilisée traditionnellement en Algérie. Phytothérapie ; 7: 197-201.
- 92. Sharma B., Viswanath G., Salunke R., Roy P., 2008.** Effects of flavonoid-rich extract from seeds of *Eugenia jambolana* (L.) on carbohydrate and lipid metabolism in diabetic mice. Food Chemistry ; 110:697-705.
- 93. Sharma B., Salunke R., Balomajumder C., Daniel S., Roy P., 2010.** Anti-diabetic potential of alkaloid rich fraction from *Capparis decidua* on diabetic mice. J. Ethnopharmacol.; 127: 457-462.
- 94. Sharma P.C., Bhatia V., Bansal N., Sharma A., 2007.** A review on Bael Tree. Natural Product Radiance; 6: 171-178.
- 95. Singh U., Singh S., Kochhar A., 2012.** Therapeutic potential of antidiabetic nutraceuticals. Phytopharmacology; 2(1) 144-169.
- 96. Skim, F., Kaaya, A., Jaouhari, J.T., Lazrek, H.B., Jana, M., El Amri, H., 1999.** Hypoglycaemic activity of *Globularia alypum* leaves in rats, Fitoterapia 70,382-389.
- 97. S. Maamri., 2008.** Etude de pistacia atlantica de deux régions de sud algérien : dosage des lipides, dosage des polyphénols, essais antileishmaniens. Mémoire de Magister Université de BOUMERDES. P 10 11 12 35 57.
- 98. Slama-Chaudhry., Maria Mavromati., A.Golay., 2013.** Diabète de type II – HUG – (hopitaux universitaires de Genève) Service de médecine de premier recours – DMCPRU .
- 99. Tiwari,P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., Kaur, H., 2011.** screening and Extraction. International,Pharmaceutica Scientia, volume 1 p 98-106.
- 100. Touaibia Meriem.,Chaouch Fatma Zohra., 2015.** Global chemical composition and antioxidative effect of the ethanol extracts prepared from *Globularia alypum* leaves. Nature &

Technology. Departement de biologie des populations et organismes, Université SAAD DAHLEB (Blida-1), Algérie.

101. Tundis.R., Loizzo.M..R.,Menichini.F., 2010. Natural products as α -amylase and α -glucosidase inhibitors and their hypoglycaemic potential in the treatment of diabetes: an update. *Mini Rev. Med. Chem.*, 10, pp. 315–331

102. Trease G.T., and Evans W.C, 1989.Text book of pharmacognosie (13th edition) Bacilluere Tinal Ltd , London

103. Tielmans A., Laloi-Michelin M., Coupaye M., Virally M., Meas T., Guillausseau P.J., 2007. Traitement médicamenteux du diabète de type 2 (première partie). *Diabétologie ; Presse Med.*; 36 (2) :69-78.

104. Vermerris,W ; and Nicholson,R.,2006.Phenolic Compound Biochemistry springer Science.Netherlands.276 p

105. Whiting D.R., Guariguata L., Weil C., Shaw J., 2011. IDF Diabetes Atlas: Global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. *Diabetes Research and Clinical Practice ; 94:* 311-321.

106. William G .Hopkins., 2003. Physiologie végétales, p139, 268, 273,279-280.

Yang C.Y. , Wanga J., Zhao Y., Shen L., Jiang X., Xie Z. , Lianga N., Zhanga L., Chena Z., 2010. Anti-diabetic effects of *Panax notoginseng* saponins and its major antihyperglycemic components. *J. of Ethnopharmacol.*; 130: 231–236.

107. Yezdani, E; Sendi, J ; Zibae, A ; Ghadamyari, M ; 2010. Enzymatic properties of α -amylase in the midgut and the salivary glands of mulberry moth, *Glyphodes pyloalis* Walker (Lepidoptera: Pyralidae).*Biochemistry/Biochimie. Comptes Rendus Biologie.* 333(1): 17-22.

108. Zerriouh Meriem., 2008. Contribution à l'étude de l'activité antidiabétique de la globularine, un iridoïde isolé des feuilles de *Globularia alypum L.* chez le rat Wistar Mémoire de Magister Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen.

109. Zheng T., Shu G., Yang Z., Mo S., Zhao Y., Mei Z., 2012. Antidiabetic effect of total saponins from *Entada phaseoloides (L.) Merr.* in type 2 diabetic rats. *J. of Ethnopharmacol. ; 139:* 814– 821.