



République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de L'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة عمار تليدجي الاغواط

Université Ammar Tledji de Laghouat

كلية العلوم الطبيعية و الحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم البيولوجيا

Département de Biologie

Mémoire de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie Appliqué

Thème

**Etude des extraits phénoliques d'une plante médicinale locale
*Globularia alypum L.***

*Présenté par : * Melle Abirat Nessrine*

** Melle Bekkay Meriem Afaf*

Devant le jury :

Président : M. Ghermaoui Mohamed MCA

Rapporteur : Mme. Kraza Lamia MAA

Examinatrice : Mme. Boussoussa Hadjer MCA

Remerciements

Nous exprimons nos profonds remerciements au bon Dieu qui a éclairé notre chemin et qui nous a donné le foie et le courage pour réaliser ce travail.

Nous avons l'honneur et le plaisir de présenter notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à notre promotrice Mme Kraza Lamia, pour sa précieuse aide, ces conseils, son orientation et le temps qu'elle nous a accordé pour mener ce travail à terme.

Nos remerciements s'adressent également à Ghermaoui Mohamed de nous avoir fait l'honneur de présider le jury, et à Boussoussa Hadjer d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Nous adressons nos vifs et sincères remerciements à Monsieur :Hajouja pour nous avoir accueilli au sein de son laboratoire , pour son aide précieuse, ainsi qu'à tous les ingénieurs des laboratoires du département de biologie : Fatima,Rokaya,Halima

Yahia,saleh,Najwa

Un grand merci à tous

Dédicace

Avec un cœur plein d'amour et de fierté je dédie ce travail : A l'étoile de mon ciel qui a su mettre la lumière dans mon univers, qui m'a toujours entourée d'amour, pour me soutenir et m'encouragée durant toute ma vie et donné l'espoir de poursuivre ce chemin jusqu'au bout «ma chère mère». Que dieu la protège

. A l'homme le plus généreux du monde, à celui qui à été toujours présent, qui m'a appris les valeurs de la vie, qui m'a soutenu en toutes circonstances et à celui qui m'a tout donné sans cesse, mon père que j'aime. Que dieu le garde.

A la mémoire de mes grands-pères qui m'ont toujours aimé et comblé par leurs bénédictions que dieu le tout puissant les accueille en son vaste paradis.

A la mémoire de ma très chère grande mère, tu resteras à jamais dans nos cœurs et tu occuperas nos pensées les Plus profondes.

A ma très chère sœur :Kawthar

A mes deux frères adorables

Ahmed et houssam

Mes chers oncles, tantes, cousins et cousines

A Mes meilleures amies :Saida, Rim, qui m'ont toujours écoutée, *soutenus et* encouragées. A ma chère copine et binôme Nessrine ;avec elle on a peut surmonter tous les obstacles.

A tous ceux qui ont participé à la réalisation de ce travail de près ou de loin Et a toute la promotion Biochimie 2019/2020

Dédicace

Toutes les lettres ne sauront trouver les mots qu'il faut... Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, L'amour, le respect, la reconnaissance. Aussi, c'est tout simplement que :

Je dédie ce Modest travaille A mon très cher père Tout l'encre du monde ne pourrait suffire pour exprimer mes sentiments envers un être très cher. Vous avez toujours été mon école de patience, de confiance et surtout d'espoir et d'amour. Vous êtes et vous resterez pour moi ma référence, la lumière qui illumine mon chemin

A ma très chère mère Aucune dédicace très chère maman, ne pourrait exprimer la profondeur des sentiments que j'éprouve pour vous, vos sacrifices innombrables et votre dévouement firent pour moi un encouragement. Vous avez guetté mes pas, et m'avez couvé de tendresse, ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Vous m'avez aidé et soutenu pendant de nombreuses années avec à chaque fois une attention renouvelée. Puisse Dieu, tout puissant vous combler de santé, de bonheur et vous procurer une longue vie.

A ma belle sœur Amina En signe de l'affection et du grand amour que je vous porte, les mots sont insuffisants pour exprimer ma profonde estime. Je vous dédie ce travail en témoignage de ma profonde affection et de mon attachement indéfectible.

A mes tantes et oncles paternels et leurs conjoints A mes tantes et oncles maternels et leurs conjoints A mes cousins et cousines

NESSRINE

Table de matières

Dédicaces

Remercîments

Liste des Abréviation

Liste des figures

1- Introduction

CHAPITRE I : Synthèse bibliographique

I-1 -Généralités sur le diabète

I-1-1- définition

I-1-2-types et classification

I-1-2-1 diabètes de type 1

I-1-2-2 diabète de type 2

I-1-2-3 diabètes gestationnel

I-1-3- Complications du diabète

I-1-4-plantes médicinales

I-1-4-1-plantes antidiabétiques

I-1-4-1-1-en monde

I-1-4-1-2-en Algérie

I-1-5-Modes d'action des plantes antidiabétiques

I-2- Les composés phénoliques

I-2-1- Phénols et acides phénols

I-2-2- Les caumarines

I-2-3- Les lignanes

I-2-4- Les flavonoïdes

I-2-5- Les Anthocyanes

I-2-6- Les Tanins

I-3- Présentation de la plante : *Globularia alypum L*

I-3-1-Habitat et description

I-3-2- Identité botanique

I-3-3- Principes actifs majeurs

I-3-4- Nom vernaculaire et répartition géographique

I-3-5-Usage médicinale

I-4- Quelques méthodes d'évaluations de l'activité antidiabétique

I-4-1- Evaluation de l'activité antidiabétique *in vitro*

I-4-1-1-Evaluation de l'activité inhibitrice sur l' α -amylase

I-4-1-1-1-Principe de la méthode

I-4-1-1-2-Procédure expérimentale

I-4-1-2-Evaluation de l'activité inhibitrice sur l' α -glucosidase

I-4-1-2-1-Principe de la méthode de dosage par DNS

I-4-1-2-2- Procédure expérimentale

I-4-2- Evaluation de l'activité antidiabétique *in vivo*

I-4-2-1-Matériel animal

I-4-2-1-1-Les animaux d'expérimentation

I-4-2-2- Procédure expérimentale

I-5-Quelques résultats sur l'activité antidiabétique de la plante *Globularia alypum L*

I-5-1-Evaluation de l'effet inhibiteur sur alpha amylase

I-5-2-Evaluation de l'activité antidiabétique *in vivo* chez les rates

Chapitre II : Matériels et méthode

II-1-Matériel végétal

II-1-1- Préparation des échantillons

II-2- Préparation des extraits polyphénolique

II-2-1- Extraction hydro-alcoolique

II-2-2-Extraction Aqueuse

II-2-3-Extraction par solvants à polarité croissante

II-3-Calcul du rendement

II-4-Dosage des composés phénoliques

II-4-1-Dosage des poly phénols totaux

II-4-1-1-Principe

II-4-1-2-Procédures expérimentales

II-5-Dosage des flavonoïdes

II-5-1-Principe

II-5-2-Procédures expérimentales

Chapitre III : Résultats et discussion

III-1-Analyse des extraits

III-1-1-Rendement des extraits

III-1-2-Dosage des phénols totaux

III-1-3-Dosage des flavonoïdes

Conclusion

Références bibliographiques

Résumé

Notre travail porte sur l'étude de l'activité antidiabétique de l'espèce *Globularia alypum* L récoltés de la région d'Oued Morra Wilaya de Laghouat. Cette plante vivace pousse dans les lieux rocailleux et broussailleux secs, elle est très utilisée dans la médecine traditionnelle en Algérie dans le traitement de diabète, connue sous le nom de Tasselgha.

La première partie de cette étude est consacré à l'extraction des composées phénoliques de l'espèce *Globularia alypum* L en utilisant trois méthodes : Extraction hydro-alcoolique, Extraction aqueuse et l'extraction par des solvants à polarité croissante. Nos extraits ont montré des rendements très variables. Dans un second lieu, nous avons procédé à la quantification des composés phénoliques et des flavonoïdes de nos extraits. Les résultats obtenus montrent que l'extrait aqueux est relativement le plus riche en polyphénols et flavonoïdes par rapport des autres extraits, avec des teneurs varient entre 2,36mg EAG/g de MS et 13,08mg EQ/g de la matière sèche respectivement.

Malheureusement, nous n'avons pas pu terminer la dernière partie à cause de l'épidémie de **COVID-19**, mais nous avons essayé de présenter quelques méthodes d'évaluation l'activité antidiabétique et résumé les résultats des déférentes études qui a été réalisé sur notre plante.

Mots clés : *Globularia alypum* L, extraits phénoliques

Abstract

The following work has as subject, the study of *Globularia alypum* L species' antidiabetic activity. The resistente plant containing the concerned species is harvest in the area of Oued Morra Laghouat. The plant grows in dry, screeded and sahara and it has always been used in the traditional antidiabetic remedies in Algeria, known under the name of Tasselgha.

The first part of the study is dedicated to the extraction of the *Globularia alypum* L phenolic component, following three different methods: Hydro-alcoholic extraction, aqueous extraction and extraction via increasing polarity solvent. Exhibiting the variable amples. Also exhibiting the results obtained from the previous process, as it showed that the aqueous extract has relatively the highest amount of polyphenol and flavonoids compared to the other extracts, since the contents varied between 2,36 mg EAG/g of MS and 13,08mg EQ/g of dry substance respectively.

Unfortunately, we could not complete the last part due to the COVID-19 epidemic, but we have tried to present some methods of assessing the anti-diabetic activity and summarize the results of the various studies that have been carried out on our plant.

Key words : *Globularia alypum* L, phenolic extract

الملخص

يركز عملنا على دراسة النشاط المضاد للسكري لنبتة *Globularia alypum L* التي تم جمعها من منطقة واد مرة لولاية الاغواط . تنمو هذه النبتة بكثرة في المناطق الصخرية والجافة و تستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي في الجزائر في علاج مرض السكري، المعروفة باسم تاسلغا .

يختص الجزء الأول من هذه الدراسة باستخلاص المركبات الفينولية لنبتة *Globularia alypum L* و ذلك باستخدام ثلاث طرق. استخلاص المواد الهيدروكحولية واستخلاص المواد المائية و استخلاص بواسطة المحاليل متزايدة القطبية .

أظهرت نتائج التقدير الكمي للمحتوى الكلي للمركبات الفينولية و الفلافونيدات أن المستخلص المائي هو الأغنى نسبياً مقارنة بالمستخلصات الأخرى ، بمستويات تتراوح بين 13,08 ملغ/غ EAG/g و 2,36 ملغ/غ EAG/g على التوالي.

من المؤسف لم نستطع من اكمال الجزء الاخير بسبب الوباء كوفيد 19 . لكننا حاولنا تقديم بعض الطرق لتقييم النشاط المضاد لمرض السكري وتلخيص مختلف النتائج التي اجريت على النبتة

الكلمات المفتاحية: المستخلصات الفينولية , *Globularia alypum L*

Liste des Abréviations

DID : Diabète Insulino-Dépendant.

DNID : Diabète Non Insulino indépendant

H₃PMo₁₂O₄₀ : Acide phosphomolybdique

AlCl₃ : Trichlorure d'aluminium

DNS : Acide dinitrosalicylique

Hyda : Hydro-alcoolique

DCM : Dichlorométhane

g : Gramme

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium

Mg/ml : Milligramme par millilitre

KG : Kilo gramme

% : Pourcentage

STZ : Spermatocytocine

Liste des figures:

Figure01 : Structure de l'acide chlorogénique.

Figure02 : Structure d'une caumarine simple.

Figure03 : Structure d'une caumarine complexe.

Figure04 : Biogenèse des caumarines .

Figure05 : Structure des dibenzylbutane.

Figure06 : Structure des lignanesmonofuraniques.

Figure07 : Structure des butyrolactons.

Figure08 : Structure d'un arynaphtaline.

Figure09 : Structure des dibenzocycloctans.

Figure10 : Structure des lignanesfuranofuraniques.

Figure11 : Synthèse des lignanes.

Figure12 : Structure des flavonoïdes.

Figure13 : Structure du dibenzyopyrone.

Figure14 : Structure d'un flavone vraie (Apigénine).

Figure15 : Structure d'un flavonol (quercétol).

Figure16 : Structure d'un flavanon (hespérétol).

Figure17 : Structure des dihydroflavanals.

Figure18 : Structure de chalcon (Isoliquiritigénine).

Figure19 : Structure de biflavonoïde (carbone-oxygène-carbone)

Figure20 : Structure de biflavonoïde (carbone-carbone).

Figure21 : Structure d'un isoflavone (génistéine)

Figure22 : Structure d'un aurone (aureusidine).

Figure23 : Structure d'un Xanthone (gentisine)

Figure24 : Biosynthèse des flavonoïdes.

Figure25 : Structure de noyau Flavylum.

Figure26 : Structure de l'acide gallique.

Figure27 : Structure de l'acide éllagique.

Figure28 : Structure des tannins condensés.

Figure29 : Structure de cafeyl-3-quinique.

Figure30 : La classification de *Globularia alypum*L

Figure31 : Histogramme représentatif les pourcentages des rendements de différents extraits de l'espèce *Globularia alypum* L.

Figure32 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique en mg/ml

Figure 33: Courbe d'étalonnage de la quercitrine en mg/ml

Liste des tableaux

Tableau01 : Résultats de quelques études ethnobotaniques et ethnopharmacologiques sur les plantes antidiabétiques dans différentes régions du monde.

Tableau02 : Des plantes hypoglycémiantes à l'Alger

Tableau03 :classification des lignanes

Tableau04 : classification des flavonoides

Tableau 05 : Méthodes d'extraction ; rendement, aspect et couleur des différents extraits étudiés.

Tableau 06: Teneur en polyphénol totaux des extraits de la plante *Globularia alypum L.*

Tableau07 : Teneur des flavonoïdes des extraits de la plante *Globularia Alypum L*

Introduction

Les plantes médicinales ont été employées pendant des siècles comme remèdes pour les maladies humaines parce qu'elles contiennent des composants de valeur thérapeutique, ces composants sont appelés des métabolites secondaires qui se trouvent dans différentes parties des plantes (**Cheng2016**). En raison d'une conscience

croissante des effets secondaires négatifs infligés par les drogues modernes (allergie, troubles digestifs, troubles dans le système nerveux...), beaucoup cherchent les remèdes normaux sans effets secondaires et bien sûr coût élevé de médecine conventionnelle à base des plantes (**Spoor,Martineau et al 2015**). La lutte contre le diabète constitue aussi une des plus grandes préoccupations scientifiques à travers le monde, ceci est en vue de trouver des nouvelles remèdes bioactives ayant des effets secondaires limités ou inexistantes. Les remèdes à base de plantes constituent une alternative dans les systèmes de soins primaires et donc, une voie prometteuse pour le développement des médicaments traditionnellement améliorés. Récemment, beaucoup de chercheurs s'intéressent aux plantes médicinales pour leur richesse en antioxydants naturels à savoir les polyphénols.

De part sa situation géographique particulière, l'Algérie bénéficie d'une gamme très variée de climats favorisant le développement d'une flore riche et diversifiée. En effet, le territoire Algérien couvre d'importantes ressources végétales réparties sur les côtes, les plaines, les montagnes, la steppe, le Sahara et autour des points d'eau. Malgré la nature hétérogène d'une biodiversité immense du territoire algérien, il y a eu peu d'efforts consacrés au développement des agents thérapeutiques de ces plantes.(**Spoor,Martineau et al 2015**)

L'objectif de cette étude entre dans le cadre de l'évaluation de l'activité antidiabétique de la plante *Globularia alypum L* par l'inhibition de l'enzyme alpha glucosidase et ainsi leurs usages en thérapeutique traditionnelle.

Notre travail sera répartie en trois parties :

La première partie qui s'intéresse au synthèse bibliographique sur le diabète, un aperçu général sur les métabolites secondaires ainsi que leur effets biologiques.

La deuxième partie est réservée à la description du protocole expérimental.

L'interprétation et la discussion des résultats obtenus seront présentées dans la dernière partie.

Finalement nous terminons par une conclusion générale et perspectives de cette étude.

Synthèse bibliographique

I-1-Définition du diabète :

Le diabète est une maladie chronique qui touche présentement 382 millions personnes au monde. Ce nombre est prévu augmenter jusqu'à 592 millions en 2035.80% des patients diabétiques vivent dans des pays à faible ou moyen revenu et sont âgés entre 40 et 59 ans (**International Diabetes Federation 2017**)

Le diabète est caractérisé par l'augmentation de la concentration de glucose circulant dans le sang ; il résulte d'une déficience au niveau de la sécrétion de l'insuline par les cellules pancréatiques ou de l'action de l'insuline au niveau des tissus cibles ou bien les deux ensembles (**Cavaghan ,Ehrmann et al.2016**)

Les symptômes bien connus du diabète sont : polyurie, soif, fatigue, manque de la concentration et vision floue (**International Diabetes Federation 2017**)

I-1-2-Types et classification

Il existe essentiellement 3 types de diabète :

- ✓ Le diabète de type 1 (DID)
- ✓ Le diabète de type 2 (DNID)
- ✓ Le diabète gestationnel

I-1-2-1- Diabète de type 1 :

Résulte d'une destruction auto-immune des cellules du pancréas qui sécrètent l'insuline (**Efrat 2013**), les patients atteints de ce type de diabète produisent très peu ou presque pas d'insuline ; ils ont besoin d'injection d'insuline à tous les jours pour pouvoir réguler leur glycémie

Cette maladie peut toucher les personnes de tout âge mais affecte surtout les enfants et les jeunes adultes (**International Diabetes Federation 2017**)

I-1-2-2- Diabète de type 2 :

Le diabète de type 2 représente presque 90% des cas de diabète au monde , il est caractérisé par une diminution de la sensibilité à l'insuline au niveau des tissus cibles comme le foie , le muscle le tissu adipeux , et d'une diminution de la sécrétion d'insuline par les cellules pancréatiques (**Cheng , Iglisias et al .2012**), cette maladie est souvent mais pas toujours associée avec l'obésité, cette dernière pourra elle-même causer une résistance à l'insuline et engendrer par la suite une augmentation du taux de glucose dans le sang ; les patients atteints de ce type de diabète peuvent améliorer leur condition de vie par l'exercice avec une bonne diète mais auront souvent recours aux médicaments antidiabétiques, dans les cas les plus avancés aux injections d'insuline (**International Diabetes Federation 2017**)

I-1-2-3- Diabète gestationnel :

C'est une type de diabète caractérisée par une hyperglycémie chez la femme pendant la période de grossesse.il se développe chez presque 4% des femmes enceintes dans le monde.

Le diabète gestationnel disparaît en générale après l'accouchement mais les femmes ainsi que leur bébés présenteront un risque de développer le diabète de type2 plus tard dans leur vie **(Kim and Lee 2014 (International Diabetes Federation 2017)**

I-1-3-Complications du diabète :

Les hyperglycémies répétées et prolongées entraînent à long terme une altération des nerfs et des vaisseaux sanguins présents dans tout le corps. Ce sont les complications du diabète qui peuvent se traduire par une cécité, des atteintes des pieds pouvant conduire à des amputations ,des infarctus et des accidents vasculaires cérébraux, des troubles del'érection ou une insuffisance rénale.**(world healthorganization (WHO)2019).**

I-1-4-Les plantes médicinales :

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.

Les plantes médicinales jouent plusieurs roles :anti-inflamatoire,anti-infectieuse,anti-bactériene.....

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).**

I-1-4-1-Les plantes antidiabétiques :

I-1-4-1-1-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 1: 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 B du pancréas (Kamalakkannan et Prince, 2005).	L'Inde
<i>Mangifera indica</i> L.	Anacardiacees	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 du l'insuline (Kambouche <i>et al.</i> , 2009)	L'Algérie

I-1-4-1-2-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 2 : Des plantes hypoglycémiantes au Alger(Hmamouchi .M 2008)

Nom latin de plante	Nom commun de plante	Composition chimique
<i>Trigonella foenum-graecum</i>	Halba	Huiles essentiels, alcaloïdes (la trigonelline), saponines, flavonoides, Mucilages protéines, huile fixe, minéraux (phosphore, calcium).
<i>Olea europaea</i>	Zitoun	Un amer (oléoropine) et oleuroproside, dans les feuilles. L'huile d'olive est composée d'acide oléique.
<i>Nigella sativa</i>	Sanoj	Les graines contiennent 40% d'huile grasse ; une saponine (mélandne).
<i>Origanum vulgare</i>	Zaater	Huile essentiel à base de carvacrol, thymol, linalol, caryophyllène ; acides phénoliques et flavonoides.
<i>Allium cepa</i>	Elbasla	Huile essentiel contenant des composés sulfurés comme l'allicine (antibiotique) et des flavonoides.
<i>Globularia alypum L</i>	Tasselgha	flavonoides, anthocyanes, acides phénoliques.
<i>Salvia officinalis</i>	Sauge officinale	Huile essentiel, diterpènes, composés phénoliques.

I-1-5-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 β 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 β .
- Régénération ou/et réparation des cellules pancréatiques β lésées.
- Effet protecteur de la destruction des cellules β
- Augmentation le nombre de cellules β dans les îlots de Langerhans.
- Inhibition de la réabsorption rénale du glucose.

- Inhibition de β -galactosidase, α -glucosidase et α -amylase.
- Prévention du stress oxydatif, qui peut être impliqué dans le dysfonctionnement des cellules β .
- Stimulation de la glycogénèse et de la glycolyse hépatique.
- Diminution des activités du cortisol.

I - Les composés phénoliques :

Les composés phénoliques forment un très vaste ensemble de substances qu'il est difficile de définir simplement. L'élément structural fondamental est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction. **(Hamoui 2014).**

Il existe deux voies conduisant aux composés aromatiques

- ✓ la voie de l'acide shikimique.
- ✓ la voie de l'acétate.

I-2-1- Phénols et acides phénols

Le terme d'acide phénol peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. **(Hamoui 2014).**

- ✓ Ils sont solubles dans les solvants organiques polaires
- ✓ Solubles dans les solutions des bases fortes
- ✓ Facilement oxydables surtout en milieu alcalin
- ✓ Ils sont employées dans le traitement des infections.

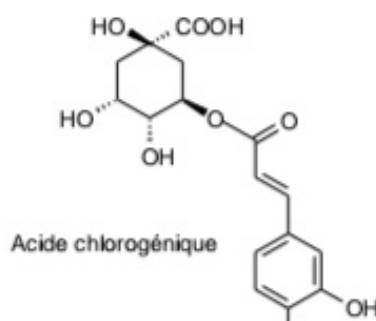


Figure 1 : structure de l'Acide chlorogénique

I-2-2- Les caumarines

Les caumarines sont des substances naturelles dont la structure comporte le noyau benzo- α pyrone (caumarine) résultant de la lactonisation de l'acide ortho-hydroxy-cis cinnamique. **(Hamoui 2014).**

I-2-2-1- Répartition botanique et localisation :

Elles sont surtout présentes chez les dicotylédones et abondantes dans certains familles : Rutaceae, Fabaceae, Apiaceae

Les coumarines sont formées dans les feuilles et s'accumulent surtout dans les racines et les écorces, ainsi que dans les tissus âgés.

I-2-2-2 Structure chimique et classification :

Ces constituants possèdent une ou plusieurs fonctions phénoliques étherifiées.

Coumarines simples :

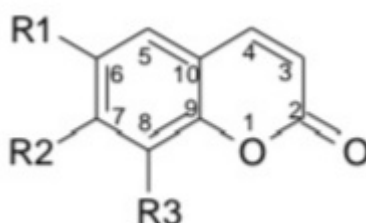


Figure2 : Structure d'une coumarine simple

Coumarines complexes : où un noyau furane ou pyrane est associé au noyau benzo- α pyrone.

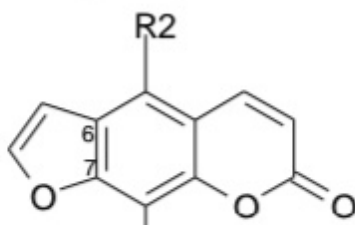


Figure3 : Structure d'une coumarine complexe

Les coumarines ont une saveur amère les hétérosides sont assez solubles dans l'eau et solubles dans l'alcool. Les génines sont solubles dans l'alcool et les solvants organiques.

I-2-2-3-Biogenèse :

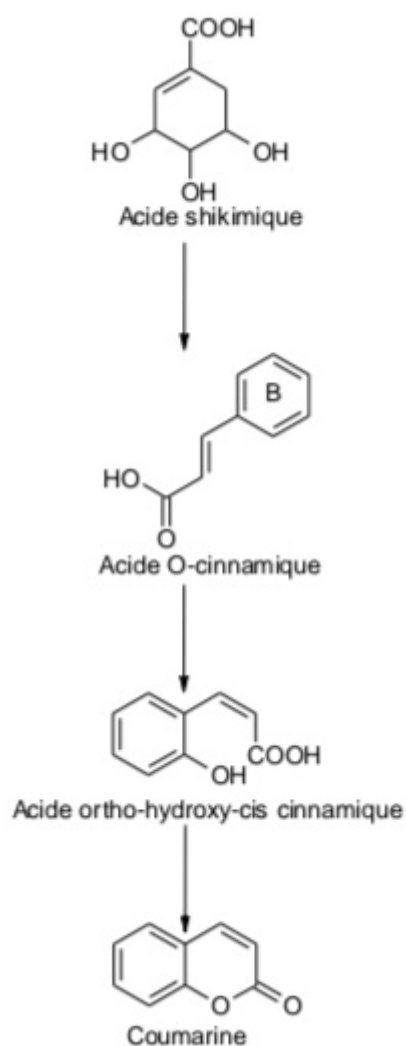


Figure4 : Biogenèse des caumarines

I-2-3- Les lignanes

le terme de lignanes désigne un ensemble de composés naturels dont le squelette résulte de la liaison par les carbones β de leur chaîne latérale, de deux unités dérivées du phényl-1 propane (liaison 8-8).

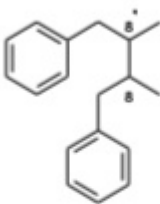
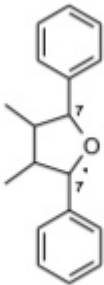
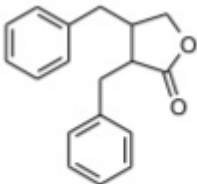
I-2-3-1 Répartition botanique et localisation :

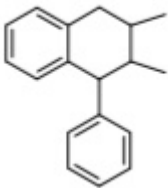
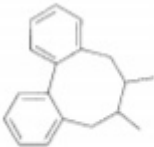
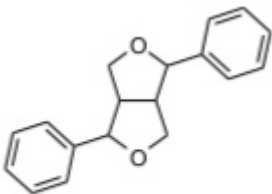
La distribution botanique des lignanes est large : plus de 300 composés ont été isolés d'une soixantaine de familles. Chez les gymnospermes ils sont surtout rencontrés dans les bois, alors que chez les angiospermes ils peuvent être isolés de tous les tissus soumis à lignification. (Hamoui 2014)

I-2-3-2 Classification et structure :

La classification et leurs structures sont consignés dans le tableau ci-dessous (tableau 02).

Tableau3:classification des lignanes.

	Figure5 :structure des Dibenzylbutane
	Figure6 :structure des lignanesmonofuraniques
	Figure7 :structure des butyrolactones.

	Figure8 :structure d'un aryl naphthalene
	Figure9 :structure des dibenzocyclooctanes.
	Figure10 :structure des lignanesfuranofuraniques

I-2-3-3 Biogenèse :

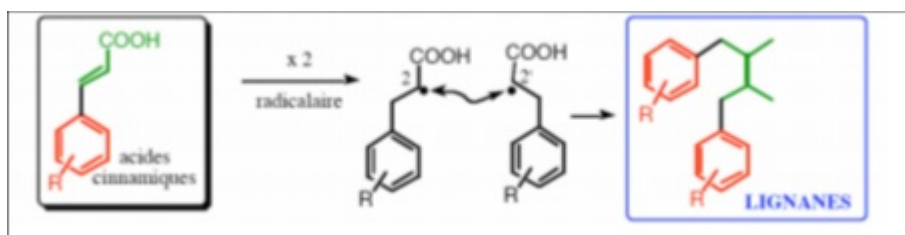


Figure11 : Synthèse des lignanes.(Hamoui 2014).

Elles sont synthétisées par la dimérisation des cinnamates (par couplage radicalaire) en lignans.

I-2-4- Les flavonoïdes :

Les flavonoides sont des pigments jaunes généralement chez les végétaux, ils sont le plus souvent sous forme d'hétérosides ou flavonosides dont les génines sont des dérivés de la phénylchromane (flavones vraies), la chromane étant la benzo- α pyrone

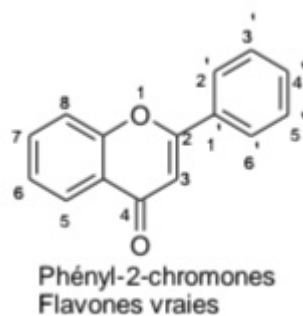


Figure12 : Structure des flavonoides

I-2-4-1-Répartition botanique et localisation :

Les flavonoïdes sont surtout abondants chez les plantes supérieures particulièrement dans certaines familles :polygonaceae,Rutaceae,Fabaceae, aussi chez gymnospermes,présents dans tous les organes aériennes ,ilsont un teneur maximale dans les organes jeunes.

I-2-4-2 Structure chimique et classification

Les génines sont des dérivés de la chromane (benzo- α pyrone)

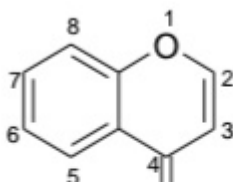
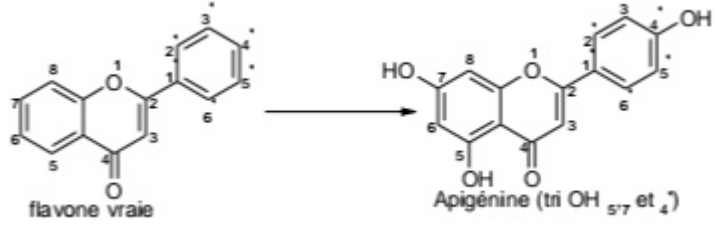
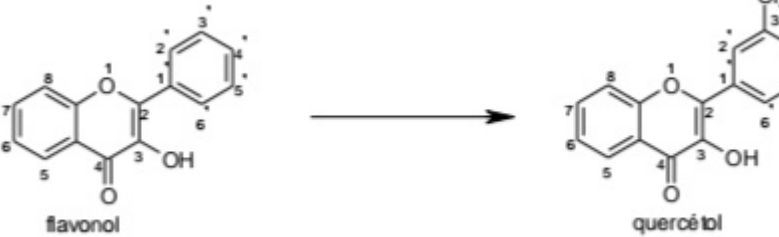
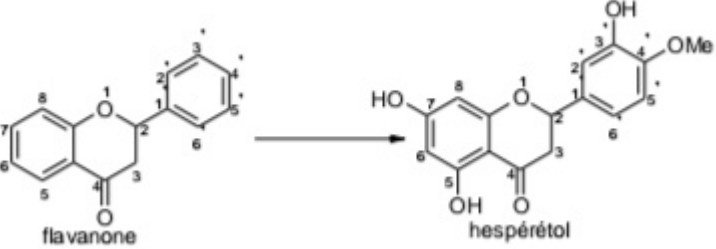
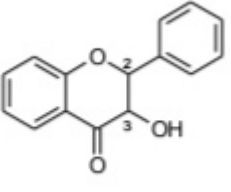
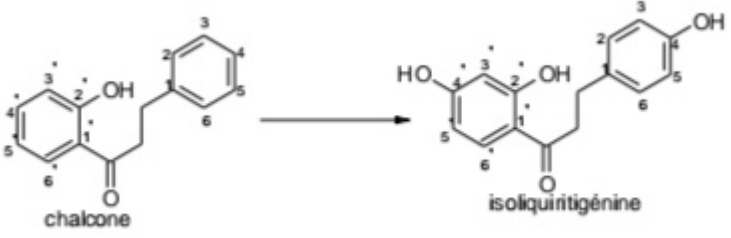
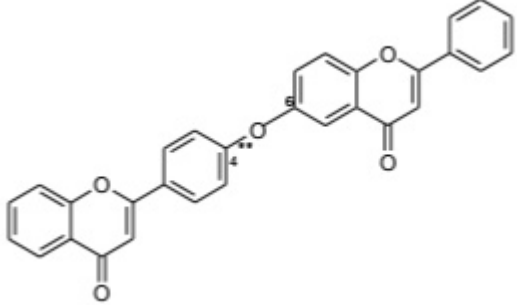
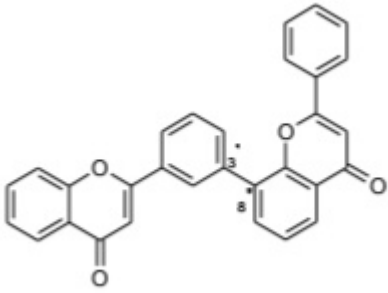
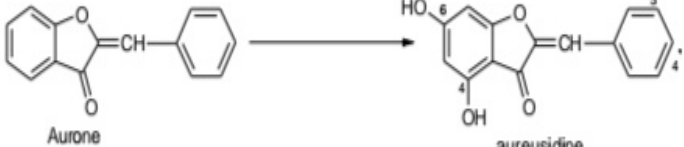
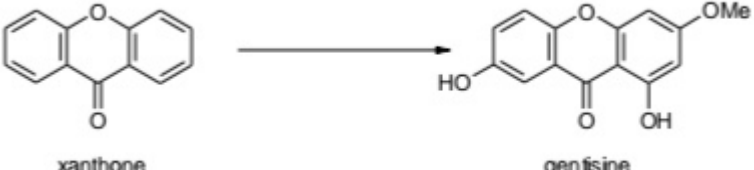


Figure13 : Structure du benzopyrone

Le tableau suivant représente la classification des Flavonoïdes :

Tableau4 : La classification des flavonoïdes

 flavone vraie Apigénine (tri OH_{5,7} et 4')	Figure14 :structure d'un flavone vraie(Apigénine)
 flavonol quercétol	Figure15 :structure d'un flavonol(quercétol)
 flavanone hespérétol	Figure16 :structure d'un flavanone(hespérétol)
	Figure17 :structure des dihydroflavones
 chalcone isoliquiritigénine	Figure18 :structure de chalcon (isoliquiritigénine)
	Figure19 :structure de biflavonoïde(carbone-oxygène-carbone)

	Figure20 :structure de biflavonoide(carbone-carbone)
 isoflavone génistéine	Figure21 :structure d'un isoflavone(génistéine)
 Aurone aureusidine	Figure22 :structure d'un aurone(aureusidine)
 xanthone gentsine	Figure23:structure d'un xanthone (gentsine)

I-2-4-3 Biogenèse :

Les flavonoides sont des solides cristallisés dont le teinte varie du blanc invoir au jaune.

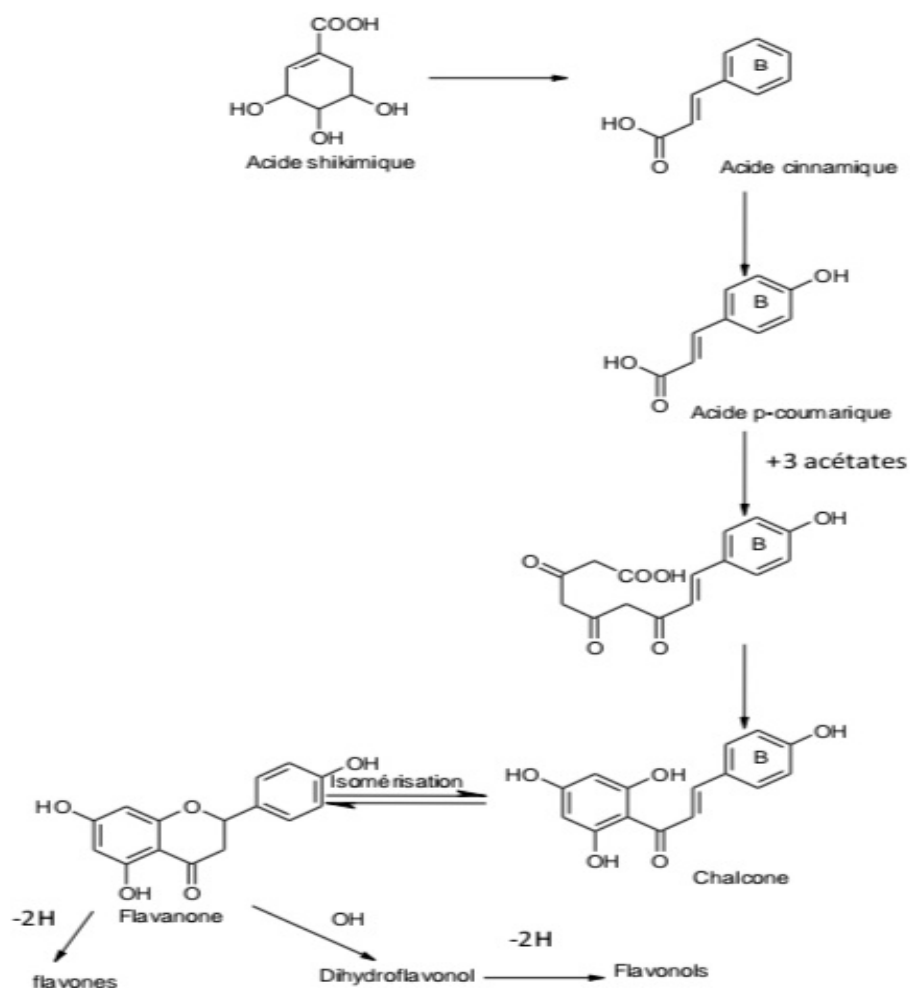


Figure24 :Biosynthèse des flavonoides.

I-2-5-les Anthocyanes :

I-2-5-1 Définition :

Les anthocyanes ou pigments anthocyaniques sont des composés hydrosolubles ,de teinte rouge, violette ou bleue ;ils colorent généralement les fleurs,les fruits, et parfois les feuilles.(Hamoui2014)

Les anthocyanes sont présentes dans la nature uniquement sous forme d'hétérosides appelés anthocyanosidesou anthocyanines.

Les géninesanthocyanidines ou anthocyanidols sont des dérivés du phényle-2-benzopyrylium ou flavylium présents dans la plante sous forme de sels.

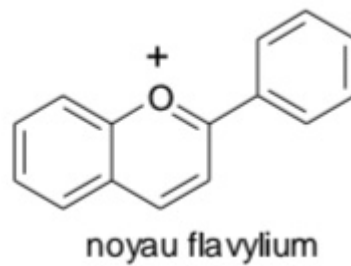


Figure25 : Structure de noyau flavylum

I-2-5-2-Répartition botanique et localisation :

Rares chez les Gymnospermes ,les anthocyanes sont présents chez toutes les angiospermes à l'exception des Caryophyllales.

On les trouve notamment dans :

- ✓ les fleurs :Mauve,Violette
- ✓ les fruits :Cassis,Myrtille
- ✓ les feuilles :Vignerouge,Cacaoyer
- ✓ les graines :Cacaoyer.

I-2-6- les Tanins :

I-2- 6-1-Définition :

Les tanins sont des substances polyphénoliques de structure variée,de saveur astringente,ayant en commun la propriétéde tanner la peau ,c'est-à dire de la rendre imputrescible ;cette aptitude est liée à leur propriété de se combiner aux protéines,gélatine,polysaccharides.leur poids moléculaire est compris entre 500 et 3000.(Hamoui 2014)

I-2-6-2-Répartition botanique et localisation :

Très répandus dans le règnevégétale,sont particulièrement abondants chez les conifères,Polygonaceae,Rosaceae ,Fabaceae,Myrtaceae,Rubiaceae.

Ils peuvent exister dans divers organes :

- ✓ Racines ou Rhizomes(Ratanhia,Rhubarbe)
- ✓ Ecorces (chêne,Quinquina)
- ✓ Bois (Acacia à cachou)
- ✓ fleurs (Rose rouge)
- ✓ Graines(noix d'arec)

Cependant, on note une accumulation dans les écorces âgées et les tissus d'origine pathologique.

Ils sont localisés dans les vacuoles ,ils sont quelques fois combinés aux protéines et aux alcaloïdes.

I-2-6-3- Structure chimique et classification :

I-2-6-3-1- Tanins hydrolysables :

esters d'acide phénol et d'ose ,ils sont facilement hydrolysable en donnant soit l'acide gallique soit l'acide éllagique.

A- les tanins galliques :

Ils donnent par hydrolysable des oses et de l'acide gallique.

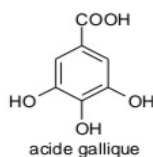


Figure26:structure de l'acide gallique

B- Les tanins éllagiques :

Ils sont scindés par les acides ou les enzymes en oses et on acide éllagique.

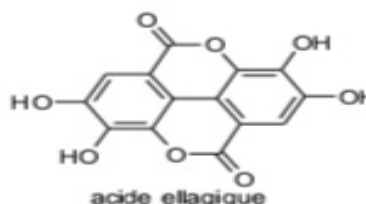
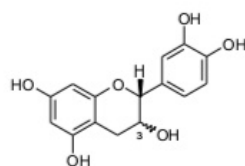


Figure27 : structure de l'acide éllagique

I-2-6-3-2- Tanins condensés :

ce sont des dérivés non hétérosidiques, résultant de la polymérisation d'un nombre variable d'unités flavane.



3-flavanol=

(+)-catéchine (3 β -OH)

(-)-épicatéchine (3 α -OH)

Figure28 : Structure des tanins condensés

I-2-6-3-3- Tannoïdes divers ou pseudo-tanins :

L'acide chlorogénique ou caféyl-3 quinique et ses dérivés appelés café-tanins sont rattachés aux tanins

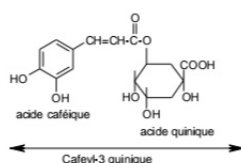


Figure29 : Structure de caféyl-3quinique

- ✓ Les tanins sont des corps généralement amorphes dissolvent dans l'eau sous forme de solutions colloïdales
- ✓ Solubles dans l'eau, dans l'alcool, insolubles dans les solvants organiques apolaires.
- ✓ Les tanins hydrolysables et tanins condensés sont distingués sur la base de leur comportement en milieu acide à chaud.

I-2-7-Intérêts biologiques des composés phénoliques :

Pour les plantes :

- ✓ lignine et rôle de soutien
- ✓ interactions de la plante avec son environnement physico-chimique et biologique.
- ✓ la physiologie de la plante (protection, défense, germination du pollen...)

Pour l'homme :

- ✓ Antiseptique, anti-inflammatoire, anti-allergique, anti-diabétique, anti-cancéreuse, anti-oxydant.
- ✓ traitement des insuffisances capillaires et veineuses.
- ✓ traitement des troubles de la vision.

I -3-Présentation de la plante : *Globularia Alypum L*

I -3-1-Habitat et description :

Les espèces de *Globularia*, sont des arbustes ayant des rameaux d'environ de 60 cm de hauteur (30-60cm), Feuilles coriaces, glauques, de forme ovale, se terminant en une petite pointe. Fleurs réunies en capitules denses à bractées ciliées, atteignant près de 2 cm de diamètre et disposées le long et au sommet des tiges. Calice velu à cinq dents aiguës. Corolle bleue, bilabée, ayant la lèvre supérieure très courte et l'inférieure, à trois dents ; quatre étamines, à anthères d'un bleu violacé, un style, Fruits akénins. **(Boutiti, 2017).**

Cette plante originaire de sud de l'Europe sur le pourtour méditerranéen jusqu'en Grèce, Afrique du nord (Algérie, Maroc jusqu'au Sahara) et Asie mineure (Egypte, Arabie) en forêts, dans les terrains rocaillieux. **(Boutiti, 2017)** La période de la floraison se situe en hiver au début du printemps (janvier à mars/avril). Son nom *Globularia* fait référence à la forme globuleuse de l'inflorescence et le terme *alypum* vient du grec *alypōn* qui signifie calmer la douleur. *Globularia Alypum* appelée communément Tasselgha **(Boutiti, 2017)** ; Au Maroc elle est appelée Einlarnab. **(Jouade et al., 2013).**

I-3-2-Classification :selon polunin et Huxley,2014

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



Figure30 : La classification de l'espèce *Globularia alypum L*

I-3-3-principes actifs majeurs

L'étude de la composition chimique de la plante a été réalisée dans un but de découvrir. Les principaux produits naturels responsables de ces différentes activités thérapeutiques. Plusieurs métabolites secondaires ont été mis en évidence :

- ✓ Des 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., 2013)**
- ✓ Des flavonoïdes: La 4',7-dihydroxyflavone , l'apigénine-7-glucoside, le quercétol, le lutéoline-7-glucoside, la bayine et le rutoside. **(Ben Hassine et al., 2013)**
- ✓ Des iridoïdes: la globularine **(Maio et Panizzi, 2010)**, catalpol **(Bournine et al., 2013)** , la Globularimine , la globularinine **(Chaudhuri et Sticher, 2014)** , la globularicisine, la globularidine **(Chaudhuri et Sticher, 2014)**, le globularanoside. **(Es-Safi et al., 2014)**
- ✓ Un aryle glucoside: la Syringine, un lignanediglucos:liriodendrine. **(Chaudhuri et Sticher, 2014)**
- ✓ Des anthocyanes: la cyanidine et la paéonidine. **(Ben Hassine et al., 2012)**
- ✓ Des phenylethanoïdes. **(Es-Safi et al., 2012)**

I-3-4-Nom vernaculaires

Arabe : *Globularia alypum* appelée communément «Tasselgha», « Chebra », « Chelr'a », « Zerga », « zeriga », « zoutna », « alk », « haselra », « oulbarda » Au Maroc elle est appelée **Einlarneb (Jouad et al., 2002).**

Français : Globulaire turbith, Séné de Provence, Herbe terrible.

I-3-5-usage médicinale :

- ✓ Les feuilles de *Globularia alypum* L pourraient être utilisées comme une source potentielle d'antioxydants naturels.
- ✓ Elles sont utilisées aussi dans le traitement des maladies de la peau, et des troubles digestifs, y compris, l'estomac, douleur intestinales **(Ben Mansour et al., 2012).**
- ✓ Ses feuilles traditionnellement utilisées comme agent hypoglycémiant, laxatif, cholagogue, stomachique, sudorifique et purgative. **(Merghache et al., 2013)**
- ✓ Elle est utilisée en médecine populaire pour le traitement des rhumatismes, la goutte, la typhoïde, la fièvre intermittente et le diabète. **(Ferhi et Aiache, 2010)**

Evaluation de l'activité antidiabétique *in vivo*

II-4-2-1-Matériel animal

II-4-2-1-1-Les animaux d'expérimentation

L'évaluation de l'activité antidiabétique *in vivo* des extraits phénoliques a été réalisée par plusieurs études à partir de l'utilisation des rats wistar (*Rattus norvegicus*) (150 et 300g) ou des souris blancs albinos (26-38g) repartis entre des souris normaux (non diabétiques) et des souris rendus diabétiques (diabète expérimental).

Diabète expérimental :

Un diabète expérimental a été provoqué chez des rats à jeune (16h) mâles et femelles, par unique injection intra péritonéale de la streptozotocine à 60mg/kg de poids corporel préparé juste avant administration, dans un tampon citrate (0.01M ;pH=4,5) ;des rats témoins ont été injectés par le tampon citrate (5ml/kg de poids corporel) ;après 72h de l'injection de la streptozotocine ,les rats qui ont un glycémie supérieure ou égale à 3g/l sont considérés comme diabétiques et ont été utilisés dans l'expérience.

I-4-2-2- Procédure expérimentale :

Des rats mâles et femelles diabétiques et normaux ont été soumis à un jeune de 16h, le poids des rats a été déterminé le jour même de l'expérience avant l'administration des substances à tester. Les extraits à tester ont été administrés par voie intrapéritonéale (injection unique) a différentes concentration , ensuite les rat sont répartie entre des groupes normoglycémique et diabétiques chaque groupe contient (2 à 5 rat).

Le groupe témoin reçoit du sérum physiologique à 0.9 ,5ml/kg de poids corporel. Le comportement général et la mortalité des animaux ont été observés périodiquement pendant 48h, d'une façon continue pendant les premières 4 heures ; d'une façon discontinue durant les 6 heures qui s'ensuivent et encore à 24h et à 48h après les injections.

L'observation des animaux est poursuivis une fois par jour pendant 14j, à la fin de l'expérience les animaux ont été pesés et sacrifiés. Le sang a été collecté à partir de l'extrémité de la queue à 0h (avant l'injection) et à 60, 120, 180, 240,360, et 480 min (après l'injection) et la glycémie a été mesurée directement après prélèvement par des bandelettes Accu Chek active et lecteur glycémie Accu Chek.

Quelques résultats sur l'activité antidiabétique de la plante *Globularia alypum* L

I-5-1-Evaluation de l'effet inhibiteur sur alpha amylase :

D'après les résultats obtenus dans l'étude de Chelghoum. M ., 2017sur le même espèce ont peut constater que les 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, l'extrait d'acétate d'éthyle 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. 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).

I-5-2-Evaluation de l'activité antidiabétique *in vivo* chez les rates

Des études expérimentales réalisées *in vivo* ont confirmées la capacité de la plante à contrôler la glycémie des rats normaux et diabétiques où la glycémie a remarquablement diminué, de plus cette diminution a été accompagnée d'un taux élevé de l'insuline. Les auteurs mentionnent que l'activité hypoglycémiant de la plante pourrait être attribuée à une stimulation de la sécrétion d'insuline au niveau des cellules β pancréatique et une augmentation du métabolisme périphérique du glucose (Skim et al. 1999).

Dans une étude réalisée par Zerriouh., 2008, sur l'espèce *Globularia alypum* L a montrée de leur part que la plante à présenter un effet bénéfique sur l'hyperglycémie poste prandial ou l'hyperglycémie des diabétiques dans une étude sur l'activité antidiabétique réalisent *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.

Chapitre II : Matériels et méthode

II-1-Matériel végétal

II-1-1- Préparation des échantillons

Notre étude a été réalisée sur les feuilles de l'espèce *Globularia alypum L* appelés localement Tasselgha, 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 récoltées ont été broyées finement en poudre et conservés dans des flacons en verre hermétiquement fermés jusqu'au jour d'extraction.

II-1-2- Préparation des extraits poly phénolique

II-1-2-1- 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 permis 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 apriorité 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. la phase aqueuse se fait séparation par le butanol trois fois , l'ensemble des phases organiques est déshydraté par sulfate de sodium, filtré et évaporé à sec à pression réduite à 45°C , enfin les résidu sec est repris dans 15 ml de méthanol pur donnant la fraction phénolique correctement purifiée et conservée au réfrigérateur jusqu'à leur analyse.

II-2-1-3-Extraction Aqueuse

Environ de 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 a pression réduite, les résidus sont pesés, solubilises dans 10ml de d'eau distillée puis conserve sous une température de 40°C jusqu'à leur analyse.

II-2-1-4-Extraction par solvants à polarité croissante

Une quantité de 2g de la poudre végétal est macérée dans l'hexane pendant 72 h

(macération successive en renouvelant le solvant chaque 24h) à température ambiante afin d'éliminer toutes traces de composés apolaire (pigments, lipides).Après filtration La phase résiduelle obtenue est macéré dans des solvants à polarité croissante : le dichlorométhane ; l'acétate d'éthyle ; l'éthanol et le méthanol, ensuite les extraits

organiques obtenue sont évaporés à sec sous pression réduite à 45°C. Les résidus secs sont repris par le méthanol et conservés jusqu'au déroulement de l'analyse.

II-3-Calcul du rendement

Le pourcentage de rendement pour chaque extrait a été calculé par la formule suivante :

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

(%) : Rendement exprimé en %.

M : Masse en gramme de l'extrait sec résultant

M₀ : Masse en gramme du matériel végétal à traiter

II-4-Dosage des composés phénoliques

II-4-1-Dosage des poly phénols totaux

II-4-1-1-Principe

La détermination quantitative des poly phénols totaux contenus dans l'extrait méthanoïque, est réalisée par spectrophotométrie, selon la méthode Singleton et Ross (1965) Cette méthode repose sur l'utilisation du réactif de Folin- ciocalteu. Le Principe Cette méthode est basée sur la réaction d'oxydoréduction, le réactif de Folin- ciocalteu est utilisé comme oxydant, il est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique(H₃PW₁₂O₄₀)et l'acide phosphomolybdique(H₃PMo₁₂O₄₀).Lors de l'oxydation des poly phénols, le Folin est réduit en un mélange bleu d'oxyde de tungstène(W₈O₂₃) et demolybdène (Mo₈O₂₃) et ça en présence de carbonate de sodium. L'intensité de la coloration est proportionnelle au taux de composés phénoliques ((Nkhili. E, 2009 ; Maamri. S, 2008).

II-4-1-2-Procédures expérimentales

À l'aide d'une micropipette 100 µl de chaque extrait dilué à différentes concentrations sont ajoutés à 500 µl d'une solution (1/10) du Folin-Ciocalteu. Après 2 minutes d'incubation, puis on ajoute 2ml de carbonate de sodium Na₂CO₃ d'une concentration de 2%. Les tubes sont ensuite agités et placés à l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante, Enfin, les absorbances des échantillons ont été mesurées à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible, contre un blanc. Pour quantifier les phénols totaux dans nos extraits, une courbe d'étalonnage de l'acide gallique a été réalisée dans les mêmes conditions opératoires. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique/gde la matière sèche (mg EAG/g MS).

II-5-Dosage des flavonoïdes

II-5-1-principe

La teneur en flavonoïde a été déterminée en utilisant la méthode du chlorure d'aluminium (AlCl_3) décrite par (**Quettier-Deleu et al .2000**). Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH), libre en position cinq, susceptible de donner en présence du chlorure d'aluminium un complexe jaunâtre, par chélation de l'ion aluminium (Al^{3+}), dont sa concentration est proportionnelle à la quantité de composés présents dans les extraits.

II-5-2-procédures expérimentales

500 μl d'une solution d' AlCl_3 (2%) est additionné d'un même volume de chaque solution diluée 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 430 nm contre un blanc.

La courbe d'étalonnage a été obtenue en utilisant comme étalon la quercétine. Les teneurs de flavonoïdes sont exprimées en mg Equivalent en quercétine par g de matière sèche (mg E Q/g M.S).

Chapitre III : Résultats et discussion

III-1-Analyse des extraits

III-1-1-Rendement des extraits

Les extraits phénoliques de la plante *Globulaira Alypum* La été préparées par trois méthodes : Extraction hydro-alcoolique, extraction aqueuse et l'extraction par des solvants à polarité croissante.

Les rendements d'extraction obtenus ainsi que les couleurs des extraits sont présentés dans le tableau ci –dessous (Tableau05)

Tableau05 : Méthode d'extraction, rendement, aspect et couleur des différents extraits étudiés

Méthode d'Extraction	Nom de l'extrait	Couleur	Aspect	La masse en(g)	Rendement
Hydro-alcoolique	Acétate d'éthyle	Vert-jaune	Poudre	1,65	33%
	Butanol	Vert foncé	Poudre	0,70	14%
Aqueuse	Aqueux	Marron foncé	visqueux	2,4	48%
Extraction par des solvants a polarité croissante	Dichlorométhane	Vert militaire	visqueux	0,30	6%
	Acétate d'éthyle	Vert claire	visqueux	0,740	15%
	Ethanol	Jaune foncé	visqueux	1,5	24%
	Méthanol	Jaune claire	visqueux	0,90	18%

D'après les résultats consignés dans le tableau précédent, nous pouvons déduire que la Teneur en composés phénoliques le plus élève a été obtenu avec l'extraction aqueuse 48% tandis que l'extraction par des solvants a polarité croissante de l'extrait dichlorométhane nous a donné juste 6%..

Le pourcentage des rendements des Extraits obtenus par l'extraction Hydro-alcooliques Acétate d'éthyle et butanol sont notée successivement 33% et 14% .

Les d'autres Extraits de l'extraction par des solvants a polarité croissante sont enregistrés des pourcentages : Ethanol (24 %) , méthanol (18%) Acétate d'éthyle (15%)

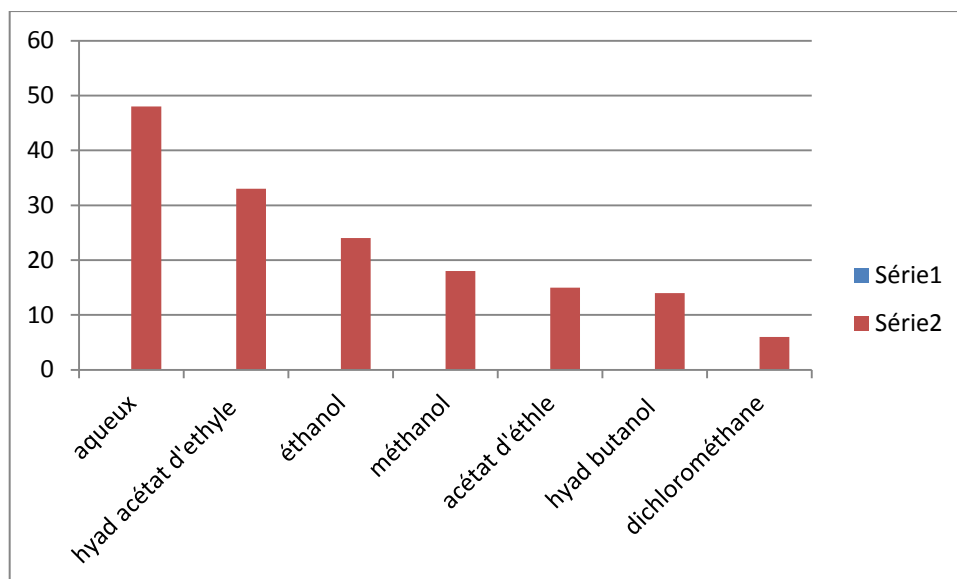


Figure31 : Histogramme représentatif les pourcentages des rendements de différents extraits de l'espèce *Globularia Alypum L.*

Cette différence peut être expliquée par la richesse ou la pauvreté d'extraits en composés solubles dans les solvants utilisés ou bien à la taille des particules de la poudre végétale (Vermerris et Nicholson, 2006).

D'après **Quy Diem Do et al. 2014**, l'utilisation combinée de l'eau et du solvant organique peut faciliter l'extraction des substances chimiques qui sont solubles dans l'eau et / ou dans le solvant organique.

Dans notre cas, peut être les substances solubles dans l'eau sont présentes en quantité importante est sont l'un des causes essentielles de l'augmentation du rendement correspondant à la méthode d'extraction avec de l'eau chaude. Ces substances peuvent être de nature protéiques ou carbohydrates (**Békro et al, 2007**).

III-1-2-Dosage des phénols totaux

Les feuilles de notre plante *Globularia alypum L* ont été séchées à une température ambiante et à l'abri de la lumière, pour assurer une meilleure élimination d'eau tout en préservant la composition en composés phénoliques, sans provoquer leur volatilisation et dégradation.

Les analyses quantitatives des phénols totaux, ont été déterminées à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage, tracée en utilisant l'acide gallique comme standard (Figure 39). Les valeurs obtenues sont exprimées en mg EAG/g.

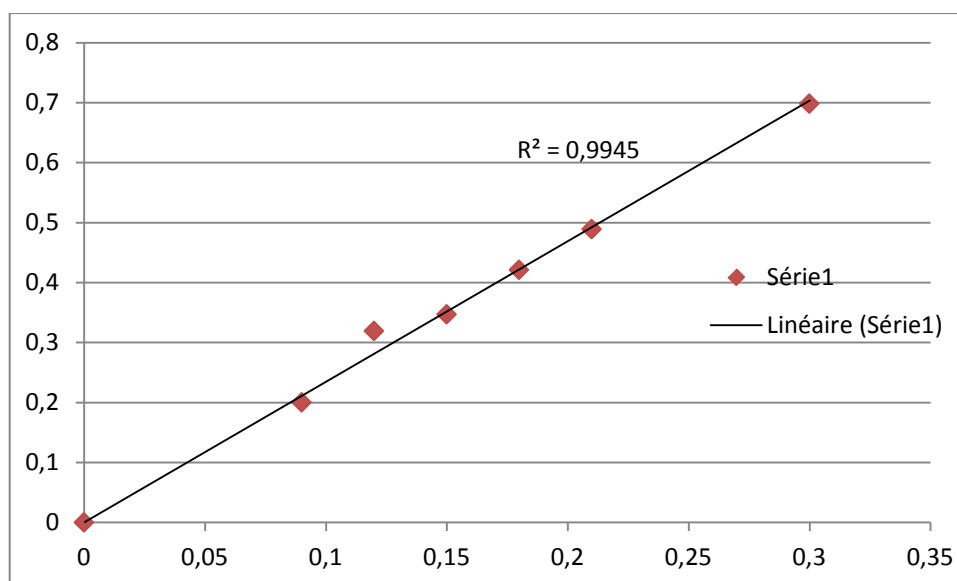


Figure 32: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique en mg/ml.

Les teneurs en composés phénoliques totaux sont représentés dans le tableau 06.

Tableau 06: Teneur en polyphénols totaux des extraits de la plante *Globularia Alypum L*

Méthode d'extraction	Extraction	Teneur mg EAG/g
Hydro-alcoolique	Acétate d'éthyle	11,001±0,64
	Butanol	1,075±0,43
Extraction Aqueuse	Aqueuse	13,08±0,67
Extraction par des solvants à polarité croissante	DCM	1,02±0,04
	Acétate d'éthyle	2,14±0,14
	Ethanol	3,78±0,41
	Méthanol	4,22±0,06

Les teneurs en polyphénols totaux des différentes fractions varient entre 1,02 et 13,08 mg EAG/g ES respectivement. . Pour La concentration la plus élevée des phénols a été mesurée dans l'extrait Aqueux avec un taux de 13 mg EAG/g ES, par rapport aux extraits Acétate d'éthyle et butanol obtenu de l'extraction hydro-alcoolique où nous Enregistrons des teneurs de l'ordre de 11,001 et 1,075 mg EAG/g ES respectivement. ainsi que les extraits : DCM, Acétate d'éthyl, Ethanol, Méthanol obtenu de l'extraction

par solvant à polarité croissante où nous enregistrons des teneurs de l'ordre de 1,02 et 2,14 et 3,78 et 4,22 mg EAG/g ES respectivement cependant on justifie que l'extrait brut aqueux obtenu contient d'autres composés polaires à part les phénols tel que : les protéines, le sucre simple (glucose), les glycoprotéines (**khacheba et al., 2014**).

La quantité des composés phénoliques d'extrait polyphénolique de la plante étudiée, dépend essentiellement : de leur origine, la variété, la saison de récolte, les conditions climatiques et environnementales, la localisation géographique, les différentes maladies qui peuvent affecter la plante, la maturité de la plante et la durée de conservation. D'autres paramètres peuvent influencer significativement le taux et la nature des composés phénoliques à savoir le type de solvant d'extraction, la taille des particules et le temps d'extraction (**Goli, 2012**)

En comparant aussi avec les travaux effectués par **Khacheba et al (aout 2014)**, en utilisant le méthanol comme solvant d'extraction, les résultats montrent que la teneur des phénols totaux dans les feuilles de l'espèce *Globularia Alypum Lest* de $21,54 \pm 0,81$ (mg EAG/g M.S. Cette variation peut être expliquée que la teneur en composés phénolique est influencée par différents paramètres telle que la période et le lieu de récolte, le climat, les conditions géographiques, la méthode et le temps d'extraction, la solubilité et le type du solvant utilisé (**Naczy et Shahidi., 2004**).

III-1-3-Dosage des flavonoïdes

L'évaluation de la teneur des extraits des feuilles de *Globularia Alypum Len* flavonoïdes a été estimée selon la courbe d'étalonnage réalisée avec la quercitrine, et les valeurs sont exprimées en mg d'équivalent de quercitrine par gramme de matière sèche (mg EQ/mg).

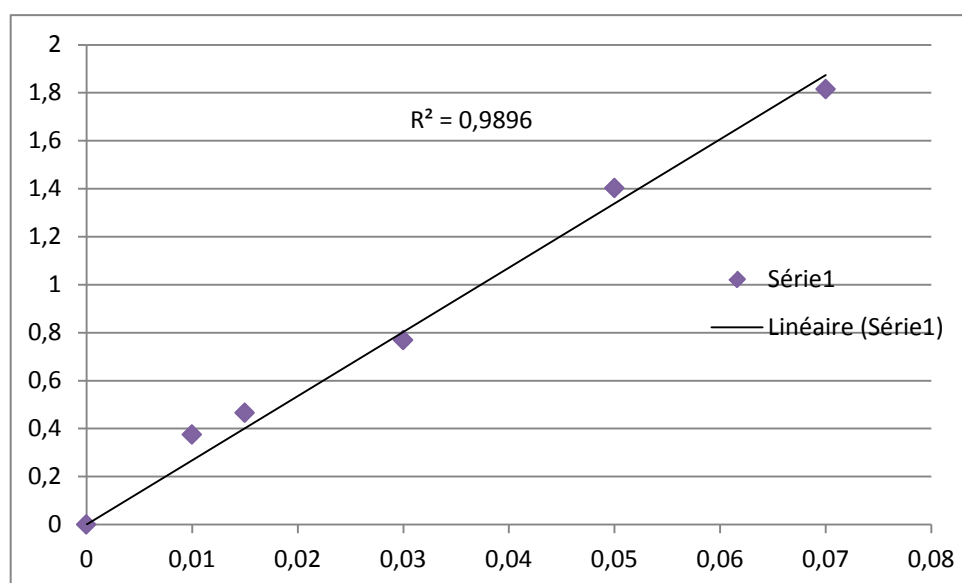


Figure 33 : Courbe d'étalonnage de la quercitrine en mg/ml

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 07

Tableau 07 : Teneur des flavonoïdes des extraits de la plante *Globularia Alypum L*

Méthode d'extraction	Extraction	Teneur mg EAG/g
Hydro-alcoolique	Acétate d'éthyle	0,18±0,02
	Butanol	0,32±0,03
Extraction Aqueuse	Aqueuse	2,36±0,05
Extraction par des solvants à polarité croissante	DCM	0,61±0,04
	Acétate d'éthyle	0,22±0,1
	Ethanol	1,02±0,04
	Méthanol	0,61±0,03

Les résultats présentés dans le Tableau 07montrent que les teneurs en flavonoïdes totaux varient considérablement entre les différents extraits. Les teneurs les plus élevés ont été enregistré dans l'extrait aqueux avec une concentration de (2,36±0,05mg EQ/g ES), suivi par l'extrait éthanol avec un taux de(1,02±0,04mg EQ/g ES).

Tandis que la plus basse concentration des flavonoïdes a été mesurée dans l'extrait acétate d'éthyle obtenu de l'extraction hydro-alcoolique (0,18± 0,02mg EQ/g ES).

Sur la base de ces résultats nous pouvant constater que nos extraits aqueux sont plus riches en flavonoïde par rapport aux autres extraits. Il est clair, que les teneurs en flavonoïde dans nos extrait sont inférieurs aux teneurs en phénols totaux, ce qui nous indique la richesse de nos extraits par d'autres composés non flavonoidique (**Bousoussa .H, -2011**).

Si on compare ces teneurs en flavonoïdes. Nous constatons que nos résultats sont approximativement similaires à ceux mentionnées par Chelghoum.M, 2017, qui montre que l'espèce *Globularia alypum L*, présent une teneur en flavonoïde de l'extrait aqueux égale à 2,94mg EQ/g de la matière sèche.

Conclusion

Les plantes médicinales sont utilisés partout dans le monde pour traiter diverses maladies, y compris l'inflammation, les maladies cardiaques, le cancer, le diabète..

Un grand nombre de plantes médicinales contiennent des composés présentant des propriétés thérapeutiques très importantes.

L'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale, une telle thérapie prévient l'apparition des effets secondaires observés lors de l'utilisation des médicaments de synthèse chimique.

Pour permettre l'utilisation vaste des plantes médicinales dans la médecine moderne, la recherche et le développement de nouveau traitement important est demandé ;Cependant l'information scientifique sur les activités biologiques des plantes médicinales contre le diabète ,y compris *Globularia alypum* Lest encore insuffisant ;de ce fait ,on a inspiré cette étude,une demande très croissante ,pour revenir à la nature dans le but de chercher des soins de santé et de nouveau traitement est une autre motivation importante.

De ce fait, notre travail été prévue d'évaluer l'activité antidiabétique par un test d'inhibition *in vitro* sur l'enzyme α -glucosidase des extraits phénolique de la plante «*Globularia alypum* L» qui est très connue pour leur effet hypoglycémiant. Malheureusement ont n'a pas terminer les tests d'inhibition à cause de l'épidémie de **COVID19**. Pour cela on a essayer de montrer quelques méthodes d'évaluation de l'activité antidiabétique ont se basant sur les travaux réaliser sur le même espèce.

Les résultats de la quantification des phénols totaux montrent clairement que les teneurs des différentes fractions varient entre 1,02 et 13,08 mg EAG/g ES respectivement. . Pour La concentration la plus élevée des phénols a été mesurée dans l'extrait Aqueux avec un taux de 13 mg EAG/g ES. Tandis que les teneurs en flavonoïdes varient considérablement entre les différents extraits. Les teneurs les plus élevés ont été enregistré dans l'extrait aqueux avec une concentration de (2,36 $\pm$ 0,05mg EQ/g ES), suivi par l'extrait éthanol avec un taux de(1,02 $\pm$ 0,04mg EQ/g ES).

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

Liste des références

- 1-Akrem El Hayouni.,Sylvie Cazaux.,Jean Pierre Souchard.,Francois Couderc et Jalloul Bouajila(2008).** Global Chemical composition and antioxidant and anti-tuberculosis Activities of Various Extracts of *Globularia alypum L* (Globulariaceae)leaves molecules Journal of Medicinal Plants Research; 6(10): 2041-2050.
- 2-Ambavane.V.R .Patialetal (2018)** Repuglinide: a short acting insulin secretagogue for postprandial hyperglycemia.Wroclaw university of environmental and life sciences grunwaldzka 24 a,53-363 , volume 76 p 55-78
- 3-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.
- 4-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.
- 5-Bailey C.J and R.C tumer (2014)** 'Metformine' Revue de génie industrielle7 :35-45
- 6-Békro,F .,Gracia-Martinez,J.A.,Malaisse,W.j.,(2007).** Indian medicinal herbs as sources of antioxydants, Journal of Food and Research International, volume 41 p1-15
- 7 -Ben Hassine.B ., Bui.A.,Mighri.Z., Cave .A.(2017).** phytothérapie. 197-200
- 8-Ben Mansour R., Gargouri B., Elloumi N., Ben Haj J. I., Gharbi-Gammar Z., Lassoued S. (2012).** Investigation of antioxidant activity of alcoholic extract of *Globularia alypum L*. Journal of Medicinal plants Research 6(25): 4193-4199.
- 9-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.
- 10-Boumerfeg,M.,Blicklé,J.F.,Halimi,S.,(2015).**Technique of flavonoid identification. Academic press. London.
- 11-Bournine Lamine.(2013).** Effet anti-inflammatoires, antioxydantes et antibactérien des substances actives de *Globularia alypumL* ,mémoire de Master ;université abderrahmane Mira ,Annaba , Algérie..
- 12-Boussousa,H,2011** activité antioxydant et antimicrobienne des extraits phénoliques des fleurs de *Rhanterium adpressum*.mémoire de magister,université Amar tledji,laghouat,Algérie.

13-Boutiti Ameur.(2017). Etude phytochimique de l'espèce *Globularia alypum* L ,
thèse de doctorat ,université Ferhat Abess Stif 1.

14-Cavaghan, M.K.D.A Ehrmann,L ;Chen,K.K(2016). 'Interactions between
insulin resistance and insulin secretion into development of glucose intolerance' Asian
journal of chemistry;106(3) :329-333.

**15-Chaudhuri, R.K., Adhikari A., Rasheed S., Marasini B.P., Hussain N., Kaleem
W.A., Rahman A.,2011.** Cyclopeptide alkaloids of *Ziziphus oxyphylla* Edg as novel
inhibitors of α -glucosidase enzyme and protein glycation. Phytochemistry Letters; 4:
404-406.

16-Chelghoum.M.,2017. Contribution à l'étude de l'activité antioxydante et l'effet
inhibiteur sur l' α -amylase de l'espèce *Globularia alypum* L Mémoire du master
université amar tledji,laghout,Alger..

17-Cheng, D.M., N. (2016) . 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

18-Cheng, K.K.M.A.Iglesias, et al.(2012).APPL1 Potentiates insulin-mediated
inhibition of hepatic glucose production and alleviates diabetes via AKT activation in
mice'.journal Ethnopharmacol(81):351-6.

19-Efrat,S,(2013).'Beta-cell replacement for insulin-dependent diabetes
mellitus.'thèse pour l'obtention du diplôme de doctorat .université Paul
Sabatier,Toulouse.

20-E-Nkhili;2009.polyphénols de l'zimentation:extraction,interactions avec les ions
du fer et du cuivre,oxidation et povoire antioxydant .thèse de doctorat université de
marrakche.19-187.

21-Es-Safi N.,Kollman A.,Khelifi.S.,Ducrot P.H.(2014).Antioxidative effect of
compounds isolated from *Globularia alypum* L.Structure-activity
relatoshipe.LWTFood.Sci.Technol.,40:1246-52.

22-Ferhi B., Aiache J-M. (2010)Effet of *Globulria alypum* L. on the gastrointestinal
tract. Journal of Naturel Products 3 : 141-146.

23-Jarald Edwin 'diabetes and herbal medecin (2010)..

24-Hamoui .K (2014) 'metabolite seconder en relationship with diabetes.

25-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.

26-Hmamouchi Mohamed (2008) :plantes alimentaires,aromatiques,medicénals au alger.

27-IDF2017 international Diabetes Federation 2017

28-Goli,M ,2012.Hypoglycaemic activity of *Globulaia alypum L* leaves in rats. Journal of Food and Research International, volume 41 p1-15.

29- 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.

30- 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.

31-Khacheba, I.,Djeridane, A.,Yousfi, M. Agust(2014).Twenty Traditional Algerian olants used in diabetes therapy as strong inhibitors of α -amylase Activity. International journal of carbohydrate chemistry. Article ID 287281,p1-10

32-Kim, M.S and K .U.Lee (2014).'role of hypothalamic 5'-AMP-activated protein Kinase in the regulation of food intake and energy homeostasis,Journal of Medicinal Plants Research Vol. 6(25)

33- Li Y., Wen S., Kota B.P., Peng G., Li G.Q., Yamahara J., Roufogalis B.D., 2005. Punica granatum flower extract, a potent alphaglucosidase inhibitor, improves postprandial hyperglycemia in Zucker diabetic fatty rats. J. Ethnopharmacol.; 99 (2): 239-244.

34-Maamri,S;2008 Etude de *pistacia atlantica* de deux regions de sud algérien:dosage des lipids,dosage des poluphénols,essais anti leishmaniens. Mémoire de magister université de boumerdes.p10,11,12,35,57.

35-Maio, G.D., panizzi, L., (2010) .Structure de la globularina, La Ricerca Scientiifica 845-850.

36- M ,Eddouks ; 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.

37-Merghache S., Zerriouch M., Merghache D., Tabti B., Djaziri R., Ghalem S.(2013) .Evaluation of hypoglycaemic and hypolipidemic activities of Globularin isolated from *Globularia alypum L*. in normal and streptozotocininduced diabetic rats. Journal of Applied Pharmacol Science 3(04) : 001-007

38-Naczy,M et shahidi,F ;2004.Herbal remedies in the managment of diabetes :lessons learned from the study of ginseng 15,149-160.

- 39-Naczy,M;Shahidi,F(2006)**phenolic in cereals,fruits and vegetables:occurance,extraction and analysis. journal of oharmaceutical and biomedical analysis41:1523-1542.
- 40-OMS(organization mondiale de la santé),2002** stratégie de l’OMS pour la médecine traditionnelle
- 41- OMS(organization mondiale de la santé),2016** Rapport mondial sur le diabète Genève(suisse).
- 42-Paul Iserin** ‘Enclopedia of Médicinal plants (2 nd edition) 2008-2016
- 43-Polunin et Huxley, 1967.**fleurs de bassin méditerranéen. Ed Fernand Nathan, Paris
- 44-Quettier Dalen,C;2000.**phenolic compounds and anti-oxydant activities of bruck Weathull and flour .journal of Elhnopharmacology.volum13 pages 35-42.
- 45- Quy Diem Do et al,2014.**Antioxydative effect of compoundes isolated from *Globularia alypum L* structur-activity-relationship EMC référence, Elsevier, Paris : 83-101. .
- 46-Sales,M; Vulksan,V,Sievenpiper,J.L(2008)**Iroide glucosides from the serial parts of *Globularia alypum L*. HUG – (hopitaux universitaires de Genève) Service de médecine de premier recours – DMCPRU .
- 47- . 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.
- 48-Sindhun,S;Azagoh,N;Manetas,Y.(2013).**bioactivity of polyphenols in plants. jornal of pharmaceutical and biomedical analysis.3(1):128-132.
- 49-Singh U., Singh S., Kochhar A., 2012.** Therapeutic potential of antidiabetic nutraceuticals. Phytopharmacology; 2(1) 144-169.
- 50- 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.
- 51-Spoor, D.C.L.C.Martineau et al.(2015).**’selected plant species from the cree pharmacopoeia of northern quebec possess anti-diabetes potential’ J. of Ethnopharmacol. ; 139: 814– 821
- 52-Van wagner .L.B and M.E Rinella (2011).**’The role of insulin- sensitizing agents in the treatment of nanalcoholicsteato hepatitis’Biochemistry/Biochimie. Comptes Rendus Biologie. 333(1): 17-22.

53-Vermeris ,W;Nicholson,R(2006).phenolic compounds biochemistry springer sciences . J. of Ethnopharmacol.; 130: 231–236

54-WHO 2019.world health organization

55-Zerriouh Meriem. (2015). Contribution a l'étude de l'activité antidiabétique de globularine,uniridoide isolé de feuilles de *Globularia alypum* le rat wistar.Université Aboubeker bel kaid Tlemcen.P : 32-47.