

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

Département de Biologie

Laboratoire Antibiotiques Antifongiques : Physico-
chimie, Synthèse et Activité Biologique



THESE

Présentée par :

OUFFAI Khaoula

En vue de l'obtention du

Diplôme de Doctorat de 3^{ème} cycle en Biologie

Spécialité : Biochimie appliquée

Thème

**Etude phytochimique et évaluation des activités antioxydantes et
antidiabétiques des extraits et des fractions riches en composés
phénoliques préparés de *Globularia alypum* L. et *Zygophyllum
album* L.**

Soutenu le: 16 / 12 / 2021 devant le jury :

BOUCHERIT OTMANI Zahia	Pr.	Présidente	Univ. Tlemcen
AZZI Rachid	Pr.	Directeur de thèse	Univ. Tlemcen
LAHFA Farid Boucif	Pr.	Examineur	Univ. Tlemcen
MAKHLOUFI Ahmed	Pr.	Examineur	Univ. Béchar
TRABSA Hayat	MCA	Examinatrice	Univ. Biskra

Année universitaire 2020-2021

Remerciements

Tout d'abord, je remercie le dieu puissant le plus miséricordieux, de nous avoir donné la santé et la volonté d'achever ce travail

*J'adresse mes profonds remerciements à mon encadreur de thèse «Mr **AZZI Rachid**» Professeur à l'université de Tlemcen, pour tous ses efforts et ses conseils du début jusqu'à la fin de ce projet*

*Mes profonds remerciements s'adressent à «Mme **BOUCHERIT-OTMANI Zahia**» professeur à l'université de Tlemcen, présidente de la formation Biochimie appliquée qui ma fait l'honneur de présider ce jury. Elle a été la première personne que j'ai vu dans les premiers jours de mon parcours de doctorat. Sa personnalité, son sourire et sa gentillesse m'a donné de l'espoir et la confiance dans un endroit où je ne connaissais personne. Je vous remercie énormément.*

*J'exprime mes gratitudes à «Mr **LAHFA Farid Boucif**» Professeur à l'université de Tlemcen, d'avoir accepté d'examiner mon travail. Je le remercie pour ces conseils, sa disponibilité et son aide*

*Mes vifs remerciements à «Mr **MAKHLOUFI Ahmed**» professeur à l'université de Béchar et «Mme **TRABSA Hayat**» Maitre de conférences A à l'Université de Mohammed Khieder-Biskra d'avoir acceptés de juger et d'examiner ce travail.*

*Mes sincères remerciements à «Mr **EL-HACI Imad Abdelhamid**» maitres de recherche classe A au centre de recherche scientifique et technique en analyse physico-chimique C.R.A.P.C et «Pr **MEDJAHDI Boumediene**», botaniste au niveau du département des ressources forestières, Université de Tlemcen, pour leurs aident à la réalisation de ce travail.*

*Je souhaite remercie très vivement «Mr **DARADJI Yacine**» enseignant à l'université Mohamed Kheider-Biskra, pour ses corrections et ses informations dans mon parcours scientifique.*

*Je tiens également à remercie chaleureusement tout l'équipe de laboratoire antibiotiques, antifongiques, physico-chimie synthèse et activité biologique «LAPSAB» où j'ai réalisé ce travail plus spécifiquement Mr, **DJAZIRI Rabeh** et **BELADGHEM Rachida** et les professeurs de l'université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen.*

*A cette occasion j'adresse mes profonds remerciements à mes collègues de laboratoire plus spécifiquement **ABBOU Fayza** et **ZIANE Hanane** et à toute personne ayant participé de près ou de loin dans l'élaboration de ce travail.*

Dédicaces

Je tiens avec un grand plaisir que je dédie ce modeste travail à ma mère MERIEM qui m'aider moralement et psychiquement dans mon parcours universitaire et elle n'a pas cessé de m'encourager et prier pour moi et toute la famille AMIRAT

A mon père Fateh, l'exemple de sacrifice, je vous donne tous mon respect pour tous vos efforts et moyens fournissent à mon éducation et ma formation et à toute ma famille OUFFAI

Je prie le bon Dieu de les bénir, de veiller sur eux, en espérant qu'ils seront toujours fiers de moi

A mes frères MOHAMMED LAMINE et ZAKARIA et ma sœur BOUTHAINA FATIMA ZAHRA de tous ses encouragements, aucune dédicace ne pourrait exprimer ma considération et mes profonds sentiments envers eux

A mes camarades et mes sœurs de la cité SOUFI MNAOUAR – CHATOUAN- wilaya de Tlemcen HANANE, RABAB, RADIA, SARA, NOUR EL HOUDA, HADJER, HALIMA, je ne trouve pas les mots pour exprimer mes vœux et ma bonheur de vos reconnaissance

Aucune dédicace ne pourrait exprimer ma bonheur à mon mari TAREK qui m'aider et m'encourager pour aller jusqu'à la fin, vous été mon support dans ma vie que je vous souhaite que du bonheur et de santé

Sans exception de ma petite fleur RACIL SEROUR je la remercie infiniment, son existence dans ma vie était un point de plus je prie à Allah de la protéger et garder toujours saine avec mes vœux de plein de bonheur et de succès

A tous membres et enseignants qui ont contribué à cette formation

.....KHAOULA

المخلص

التاسلغا «*Globularia alypum*» والعقاية «*Zygophyllum album*»، نبتتان من عائلة الحمليات و قديسيات، على التوالي. يتم استخدامهما بشكل كبير في الجزائر لعلاج مرض السكري من النوع 2.

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم الأنشطة المضادة للأكسدة ومضادات لانحلال كريات الدم الحمراء ومضادات السكري للمستخلصات المائية ومشتقاتها من إيثير ثنائي الأثير، أسيتات الإيثيل و ن- بيوتانول المحضرة من الأجزاء الهوائية لهذه النباتات.

و تم اختبار دراسات كيميائية نباتية مختلفة للمستخلصات المحضرة، باستخدام اختبارات كيميائية، تم تحديد الكميات اللونية لعديدات البوليفينول، الفلافونويدات والتانينات المكثفة بالإضافة الى تحليل المركبات الفينولية و مشتقاتها الغنية بالبوليفينول باستخدام التحليل الكروماتوجرافي (RP-HPLC-PDA)

اما الدراسة البيولوجية فهي تعتمد على البحث عن نشاط مضادات الأكسدة باستخدام اختبار الجذر الحر بواسطة DPPH وتقليل أكسدة الطاقة FRAP. و تمت دراسة تقييم النشاط المضاد لانحلال كريات الدم الحمراء ضد جذر AAPH والبحث عن التأثير المضاد لمرض السكري باستخدام التأثيرات المثبطة للمستخلصات والمشتقات المحضرة بالتلامس مع إنزيمات ألفا أميليز وألفا جلوكوزيداز .

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها ثراء للمستخلصات الخام المائية للنباتتين في المركبات الثانوية (المركبات الفينولية، المركبات الأزوتية، التربينات والمركبات المرجعة)، و قد أظهرت مستخلصات الاثير ثنائي الإيثيل أعلى كمية في عديدات البوليفينول (331.88 ± 17.80 ميكروغرام مكافئ لحمض الغاليك/ملجم من المستخلص و 2.15 ± 30.41 ميكروغرام مكافئ لحمض الغاليك/ملجم من المستخلص للمشتقات التي تم الحصول عليها من المستخلص المائي الخام المحضر بواسطة الغلي من *G. alypum* و مستخلص النقع من *Z. album* ، على التوالي).

الكيرسيتين والروتين والنارينجين وحمض بيتا-كوماريك وحمض الغاليك هي المركبات الفينولية الرئيسية المكتشفة من مشتق اثير ثنائي الإيثيل من المستخلص المائي الخام المحضر بالغلي من *G. alypum* و حمض الغاليك، وحمض السيرانجيك، والكيرسيتين هي المركبات الفينولية الوحيدة التي تم اكتشافها من مشتق الاثير ثنائي إيثير المحضر بواسطة المستخلص المائي الخام المنقع ل *Z. album*.

علاوة على ذلك، سجلت المشتقات المستخرجة من المستخلصات المائية الخام المحضرة بواسطة مغلي من الأجزاء العلوية ل نبتة التاسلغا أقوى نشاط مضاد للأكسدة. و أظهر جزء اثير ثنائي الإيثيل أعلى قدرة على تثبيط الجذر الحر DPPH مع IC_{50} حوالي 20.54 ± 0.48 ميكروغرام/مل. و أفضل قدرة لارجاع الحديد مع EC_{50} حوالي 0.07 ± 0.51 ملجم / مل. ولقد قدمت المشتقات المحضرة من نفس النبتة تأثيراً وقائياً قوياً لانحلال كريات الدم الحمراء مقارنةً بتلك التي تم الحصول عليها. بوجود مستخلصات نبتة العقاية، حيث أظهر تركيز 160 ميكروغرام/مل من مستخلص ن- بيوتانول تأثير وقائي أعلى لكريات الدم الحمراء من تلك التي تم الحصول عليها من نفس التركيز لحمض الأسكوربيك ($HT_{50} =$ ميكروغرام / مل 5.06 ± 258.6). قدم جزء أسيتات الإيثيل المحضر بواسطة الغلي من الأجزاء العلوية نبتة التاسلغا أقوى نشاط تثبيطي ضد إنزيمات ألفا اميلاز و ألفا جلوكوزيد، مع IC_{50} تتراوح بين ملجم/مل 0.57 ± 0.05 و ملجم/مل 0.52 ± 0.02 ، يظل هذا التثبيط ضعيفاً مقارنةً بالأكاربوز.

في الختام توصلنا من خلال دراسة أن النبتتان يمكن اعتبارهما مصدرا مهما جدا لجزيئات النشاط الحيوي التي يمكن استخدامها في التطبيقات الدوائية والعلاجية.

الكلمات المفتاحية: نشاط مضاد للأكسدة، نشاط مضاد لإنحلال الدم، ألفا أميلاز، ألفا غلوكوزيداز، المركبات الفينولية، *Zygophyllum album*, *Globularia alypum*

Résumé

Globularia alypum L. «Tasselgha» et *Zygophyllum album* L. «Aggaya» sont deux plantes appartenant à la famille des Plantaginacées et Zygophyllacées, respectivement, très utilisées en Algérie dans la médecine traditionnelle pour le traitement du diabète de type 2. Le but de cette étude est d'évaluer l'activité antioxydante, antihémolytique et antidiabétique des extraits bruts aqueux et leurs fractions, éther diéthylique, acétate d'éthyle et n-butanol de la partie aérienne des deux plantes.

Une étude phytochimique sur les différents extraits préparés est effectuée, par des tests phytochimiques, des dosages colorimétriques des polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés et une analyse chromatographique en HPLC (RP-HPLC-PDA) des composés phénoliques des fractions riche en polyphénols. L'étude biologique est basée sur la recherche d'activité antioxydante en utilisant le test du piégeage de radical DPPH et la réduction de Fer (FRAP), l'évaluation d'activité antihémolytique contre le radical AAPH et la recherche d'effet antidiabétique en évaluant les effets inhibiteurs des extraits et fractions préparés de l' α -amylase et α -glucosidase.

Les résultats obtenus ont montré la richesse des extraits bruts aqueux des deux plantes en métabolites secondaires (composés phénoliques, composés azotés, composés terpéniques et composés réducteur). Les fractions éther diéthylique ont présenté les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux de l'ordre de $331,88 \pm 17,80 \mu\text{g EAG/mg E}$ et $30,41 \pm 2,15 \mu\text{g EAG/mg E}$, pour les fractions obtenues à partir de l'extrait brut aqueux préparé par décoction de *G. alypum* et par macération de *Z. album*, respectivement.

La quercétine, la rutine et la naringenin, l'acide p -coumarique et l'acide gallique sont les principaux composés phénoliques détectés dans la fraction d'éther diéthylique de l'extrait brut aqueux préparée par décoction de *G. alypum*. L'acide gallique, l'acide syringique et la quercétine sont les seuls composés phénoliques détectés, dans les fractions d'éther diéthylique de l'extrait brut aqueux préparé par macération de *Z. album*.

Par ailleurs, les fractions récupérées à partir des extraits bruts aqueux préparés par décoction de la partie aérienne du *G. alypum*, ont enregistré l'activité antioxydante la plus puissante. La fraction éther diéthylique a présenté la plus haute capacité de piégeage des radicaux libres DPPH avec une CI_{50} de l'ordre de $20,54 \pm 0,48 \mu\text{g/ml}$ et le meilleur pouvoir de réduction de fer, avec une CE_{50} d'ordre de $280 \pm 0,04 \mu\text{g/ml}$. Les fractions préparées du *G. alypum* ont présenté un effet antihémolytique puissant, par rapport à celle obtenu du *Z. album*. La concentration $160 \mu\text{g/ml}$ testée des fractions n-butanol préparée du *G. alypum* ($HT_{50} = 280,9 \pm 1,88 \mu\text{g/ml}$) et du *Z. album* ($284 \pm 6,34 \mu\text{g/ml}$) ont présenté un effet protecteur des érythrocytes plus élevé à celui présenté par la même concentration d'acide ascorbique ($HT_{50} = 258,6 \pm 5,06 \mu\text{g/ml}$).

La fraction acétate d'éthyle préparée par décoction à partir de la partie aérienne du *G. alypum*, a présenté l'activité inhibitrice la plus puissante de l' α -amylase et l' α -glucosidase, avec des CI_{50} d'ordre de $0,57 \pm 0,05 \text{mg/ml}$ et $0,52 \pm 0,02 \text{mg/ml}$, respectivement. Cette inhibition reste faible par rapport à celle d'Acarbose.

En conclusion, les deux plantes étudiées présentent une source très importante de molécules bioactives qui peuvent être utilisée dans des applications pharmacologiques et thérapeutiques.

Mots clés: *Globularia alypum*, *Zygophyllum album*, composés phénoliques, activité antioxydante, activité antihémolytique, α -amylase, α -glucosidase

Abstract

Globularia alypum L. called «Tasselgha» and *Zygophyllum album* L. named «Aggaya» were two plants belonging to Plantaginaceae and Zygophyllaceae families, respectively. They are very used in Algeria in the traditional medicine for the treatment of type 2 diabetes. The aim of the present study was to evaluate the antioxidant, antihemolytic and antidiabetic activities of aqueous extracts and their fractions diethyl ether, ethyl acetate and n-butanol prepared from aerial parts of these plants.

A phytochemical study of different prepared extracts is tested, using phytochemical tests, a colorimetric quantification of polyphenols, flavonoids and condensed tannins are determined, a chromatographic analysis using HPLC (RP-HPLC-PDA) of phenolic compounds of fractions rich in polyphenols is analysed. The biological study is based on research for antioxidant activity using free radical scavenging assays by DPPH and reducing power FRAP assay. The evaluation of antihemolytic activity against the AAPH radical and the research of antidiabetic effect are investigated using the inhibitory effects of extracts and fractions prepared in contact with α -amylase and α -glucosidase enzymes.

The obtained results showed a richness of crude aqueous extracts of two plants in secondary metabolites (phenolic compounds, nitrogen compounds, terpenes and reducing compounds), the ether diethyl fractions presented the higher amount in polyphenols ($331.88 \pm 17.80 \mu\text{g EAG/mg E}$ et $30.41 \pm 2.15 \mu\text{g EAG/mg E}$, for the fractions obtained from the crude aqueous *G. alypum* decocted extract and *Z. album* macerated extract, respectively).

Quercetin, rutin and naringenin, p -coumaric acid and gallic acid are the principal phenolic compounds detected from diethyl ether fraction of crude aqueous extract prepared by decoction of *G. alypum*. Gallic acid, syringic acid and quercetin are the only phenolic compound detected from the ether diethyl fractions prepared by the macerated crude aqueous extract of *Z. album*.

Furthermore, the fractions recovered from crude aqueous extracts prepared by decoction from the aerial parts of *G. alypum* recorded as the most potent antioxidant activity. The diethyl ether fraction exhibited the highest free radical DPPH scavenging capacity with IC_{50} around $20.54 \pm 0.48 \mu\text{g/ml}$ and the best iron reducing power with EC_{50} around $0.51 \pm 0.07 \text{mg/ml}$. The fractions prepared from *G. alypum* presented a powerful protective effect of erythrocyte hemolysis, compared to that obtained from *Z. album*. The $160 \mu\text{g/ml}$ tested concentration of n-butanol fractions prepared by *G. alypum* ($\text{HT}_{50} = 280.9 \pm 1.88 \mu\text{g/ml}$) and from *Z. album* ($284 \pm 6.34 \mu\text{g/ml}$) showed a higher protective effect of erythrocyte than the same concentration obtained from ascorbic acid ($\text{HT}_{50} = 258.6 \pm 5.06 \mu\text{g/ml}$).

Ethyl acetate fraction prepared by decoction from the aerial parts of *G. alypum* presented the most potent inhibitory activity against α -amylase and α -glucosidase enzymes, with IC_{50} around $0.57 \pm 0.05 \text{mg/ml}$ and $0.52 \pm 0.02 \text{mg/ml}$, respectively. This inhibition remains weak compared with acarbose.

In conclusion, the two plants studied presented a very important source of bioactive molecules that can be used in pharmacological and therapeutic applications.

Key words

Globularia alypum, *Zygophyllum album*, phenolic compound, antioxidant activity, antihemolytic activity, α -amylase, α -glucosidase

Table de matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste d'abréviations

INTRODUCTION	01
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	05
MATERIEL ET METHODES	25
1. Matériel végétal	25
1.1. Préparation des extraits bruts et des fractions.....	26
1.2. Calcul des rendements.....	28
2. Analyse phytochimique	28
2.1. Dosage des composés phénoliques.....	30
2.2. Séparation et identification des composés phénoliques par HPLC.....	33
3. Analyses biologiques	34
3.1. Recherche de l'activité antioxydante par piégeage de radical DPPH.....	34
3.2. Recherche de l'activité antioxydante par réduction de Fer.....	35
3.3. Recherche de l'activité antihémolytique.....	36
3.4. Recherche de l'activité antidiabétique par inhibition de l' α -amylase.....	37
3.5. Recherche de l'activité antidiabétique par inhibition de l' α -glucosidase.....	39
4. Analyse statistique	40
RESULTATS ET INTERPRETATIONS	41
1. Rendement des extraits et des fractions préparés	41
2. Analyse phytochimique	42
2.1. Screening phytochimique.....	42
2.2. Teneur des composés phénoliques.....	44
2.3. Estimation et identification des composés phénoliques par analyse d'HPLC.....	45
3. Analyse biologiques	49
3.1. Evaluation de l'activité antioxydante par piégeage de radical DPPH.....	49
3.2. Evaluation de l'activité antioxydante par réduction de Fer.....	54
3.3. Evaluation de l'activité antihémolytique.....	61
3.4. Evaluation de l'activité antidiabétique par inhibition de l' α -amylase.....	69
3.5. Evaluation de l'activité antidiabétique par inhibition de l' α -glucosidase.....	73
DISCUSSION	76
CONCLUSION	82
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	85
ANNEXE	99

Liste des tableaux

Tableau 01: le rôle d'insuline dans quelques organes et des tissus et les altérations affectés en cas d'une carence ou résistance d'insuline.....	10
Tableau 02: les principaux médicaments utilisés dans le traitement de diabète sucré.....	16
Tableau 03: Rendement d'extraction des différents extraits et fractions préparés de la partie aérienne du <i>Globularia alypum</i>	41
Tableau 04: Rendement d'extraction des différents extraits et fractions préparés de la partie aérienne du <i>Zygophyllum album</i>	42
Tableau 05: Screnning phytochimique des extraits bruts de la partie aérienne de <i>Globularia alypum</i>	43
Tableau 06: Screnning phytochimique des extraits bruts de la partie aérienne de <i>Zygophyllum album</i>	43
Tableau 07: Teneurs en composés phénoliques des différents extraits bruts aqueux et leurs fractions, préparés de la partie aérienne du <i>Globularia alypum</i> et <i>Zygophyllum album</i>	44
Tableau 08: Les valeurs CI_{50} des extraits bruts et leurs fractions du <i>G. alypum</i> et <i>Z. album</i> , comparées avec l'acide ascorbique.....	52
Tableau 09: Les valeurs CE_{50} des extraits bruts et des fractions du <i>G. alypum</i> et <i>Z. album</i> , comparées avec l'acide ascorbique.....	57
Tableau 10: Le temps de demi-hémolyse ($HT_{50} = \text{min}$) des différentes concentrations des extraits bruts aqueux de <i>G. alypum</i> et de <i>Z. album</i> . Acide ascorbique est un control positif.....	63
Tableau 11: le temps de demi-hémolyse ($HT_{50} = \text{min}$) des différentes concentrations des fractions d'extrait brut de <i>G. alypum</i> préparé par décoction (EG-D).....	65
Tableau 12: le temps de demi-hémolyse ($HT_{50} = \text{min}$) des différentes concentrations des fractions d'extraits bruts de <i>Z. album</i> préparées par décoction (EZ-M).....	65

Liste des Figures

Figure 01: le syndrome d'hyperglycémie causé par le diabète de type 2 et sa relation avec le stress oxydatif.....	05
Figure 02: les stimulateurs d'insuline.....	08
Figure 03: les voies de signalisation d'insuline.....	09
Figure 04: structure de base des flavonoïdes.....	19
Figure 05: structure de base des tanins hydrolysables.....	19
Figure 06: structure de base des tanins condensés.....	19
Figure 07: structure de base des coumarines	20
Figure 08: structure de l'isoprène.....	21
Figure 09: La partie aérienne de <i>Globularia alypum</i> après récolte.....	25
Figure 10: La partie aérienne de <i>Zygophyllum album</i> après récolte.....	26
Figure 11: Fractionnement d'extrait brut de la partie aérienne de <i>Globularia alypum</i> préparé par décoction et de la partie aérienne de <i>Zygophyllum album</i> préparé par macération.....	27
Figure 12: Courbe d'étalonnage d'acide gallique utilisée pour le dosage des polyphénols totaux.....	31
Figure 13: Courbe d'étalonnage de Catéchine utilisée pour le dosage des flavonoïdes.....	32
Figure 14: Courbe d'étalonnage de Catéchine pour le dosage des tanins condensés.....	33
Figure 15: Chromatogramme RP-HPLC-PDA des fractions de <i>G. alypum</i> à 280 nm.....	47
Figure 16: Chromatogramme RP-HPLC-PDA des fractions de <i>Z. album</i> à 280 nm.....	48
Figure 17: Représentation des pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations des extraits bruts aqueux de la partie aérienne du <i>G. alypum</i>	49
Figure 18: Représentation des pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations des extraits bruts aqueux de la partie aérienne du <i>Z. album</i>	50
Figure 19: Représentation des pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations des fractions séparées à partir d'extrait brut aqueux préparé par décoction de la partie aérienne du <i>G. alypum</i>	50
Figure 20: Représentation des pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations des fractions séparées à partir d'extrait brut aqueux préparé par macération de la partie aérienne du <i>Z. album</i>	51
Figure 21: Représentation des pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'acide ascorbique.....	51
Figure 22: Corrélation entre les teneurs en polyphénols totaux et les CI_{50} du test DPPH des différentes fractions de la partie aérienne du <i>G. alypum</i>	53
Figure 23: Corrélation entre les teneurs en polyphénols totaux et les CI_{50} du test DPPH des différentes fractions de la partie aérienne du <i>Z. album</i>	53
Figure 24: Evaluation du pouvoir réducteur du Fer en présence des différentes concentrations des extraits bruts aqueux de la partie aérienne du <i>G. alypum</i>	54
Figure 25: Evaluation du pouvoir réducteur du Fer en présence des différentes concentrations des extraits bruts aqueux de la partie aérienne du <i>Z. album</i>	55

Figure 26: Evaluation du pouvoir réducteur du Fer en présence des différentes concentrations des fractions séparées à partir d'extrait brut aqueux préparé par décoction de la partie aérienne du <i>G. alypum</i>	55
Figure 27: Evaluation du pouvoir réducteur du Fer en présence des différentes concentrations des fractions séparées à partir d'extrait brut aqueux préparé par macération de la partie aérienne du <i>Z. album</i>	56
Figure 28: Evaluation du pouvoir réducteur du Fer en présence des différentes concentrations d'acide ascorbique.....	56
Figure 29: Corrélation entre les teneurs en polyphénols totaux et les CE ₅₀ du test FRAP des différentes fractions de la partie aérienne du <i>G. alypum</i>	58
Figure 30: Corrélation entre les teneurs en polyphénols totaux et les CE ₅₀ du test FRAP des différentes fractions de la partie aérienne du <i>Z. album</i>	58
Figure 31: une comparaison d'activité antioxydant (DPPH et FRAP) entre l'extrait de décoction de <i>G. alypum</i> et ses fractions.....	59
Figure 32: une comparaison d'activité antioxydant (DPPH et FRAP) entre l'extrait de macération de <i>Zygophyllum album</i> et ses fractions.....	60
Figure 33: Cinétiques d'hémolyse obtenues après traitement d'érythrocytes en présence des extraits bruts de la partie aérienne de <i>Z. album</i>	61
Figure 34: Cinétiques d'hémolyse obtenues après traitement d'érythrocytes en présence des extraits bruts de la partie aérienne de <i>G. alypum</i>	62
Figure 35: histogramme des temps de demi-hémolyse (HT ₅₀ = min), des différentes concentrations des extraits bruts aqueux préparés de la partie aérienne du <i>G. alypum</i> comparé par rapport témoin négatif.....	63
Figure 36: histogramme des temps de demi-hémolyse (HT ₅₀ = min), des différentes concentrations des extraits bruts aqueux préparés de la partie aérienne du <i>G. alypum</i> comparé par rapport témoin négatif.....	64
Figure 37: la corrélation linéaire étudiée entre les concentrations testées et les valeurs Δt d'acide ascorbique.....	67
Figure 38: la corrélation linéaire étudiée entre les concentrations testées et les valeurs Δt des extraits bruts de la partie aérienne de <i>G. alypum</i>	67
Figure 39: la corrélation linéaire étudiée entre les concentrations testées et les valeurs Δt des extraits bruts de la partie aérienne de <i>Z. album</i>	68
Figure 40: la corrélation linéaire étudiée entre les concentrations testées et les valeurs Δt des fractions préparé par décoction de <i>G. alypum</i> . Fractions d'extraits bruts de <i>G. alypum</i> préparées par décoction.....	68
Figure 41: la corrélation linéaire étudiée entre les concentrations testées et les valeurs Δt des fractions préparé par décoction de <i>G. alypum</i> . Fractions d'extraits bruts de <i>Z. album</i> préparées par macération.....	69
Figure 42: Représentation des pourcentages d'inhibition de l' α -amylase en fonction des différentes concentrations des extraits bruts aqueux de la partie aérienne de <i>G. alypum</i>	70
Figure 43: Représentation des pourcentages d'inhibition de l' α -amylase en fonction des différentes concentrations des extraits bruts aqueux de la partie aérienne de <i>Z. album</i>	70
Figure 44: Représentation des pourcentages d'inhibition de l' α -amylase en fonction des différentes concentrations d'Acarbose utilisé comme contrôle positif.....	71
Figure 45: Représentation des pourcentages d'inhibition de l' α -amylase en fonction des différentes concentrations des fractions récupérées de l'extrait brut aqueux préparé par	

décoction de la partie aérienne de <i>G. alypum</i>	71
Figure 46: histogrammes des concentrations inhibitrices CI_{50} des différentes concentrations des extraits bruts et des fractions préparés de la partie aérienne du <i>G. alypum</i> et <i>Z. album</i> comparé contre l'acarbose.....	72
Figure 47: Courbes des pourcentages d'inhibition d' α -glucosidase en fonction des différentes concentrations des fractions de <i>G. alypum</i> . Fractions des extraits bruts de <i>G. alypum</i> préparées par décoction.....	73
Figure 48: Courbes des pourcentages d'inhibition d' α -glucosidase en fonction des différentes concentrations des fractions de <i>Z. album</i> . Fractions des extraits bruts de <i>Z. album</i> préparées par macération.....	73
Figure 49: Courbes des pourcentages d'inhibition d' α -glucosidase en fonction des différentes concentrations d'Acarbose et quercetine.....	74
Figure 50: Histogramme présentatif une comparaison d' CI_{50} de différentes fractions de <i>G. alypum</i> et <i>Z. album</i> comparant à celle de l'Acarbose et la quercetine.....	74

Liste des abréviations

AAPH	2,2'-azobis (2-aminodipropane)
ADA	American Diabete Association
A-FABP	Adipocyte fatty acid binding protein
ADN	Acide Désoxyribonucléique
AGE	advanced glycation end-products
AKT	Protéine Kinase B
ANOVA	Analysis of Variance
AR GLP-1	Analogues récepteurs de GLP-1
ATP	Adénosine Tri-Phosphate
CE₅₀	Concentration Inhibitrice ₅₀
CI₅₀	Concentration Efficace ₅₀
DNSA	3,5-dinitrosalicylique Acid
DPP4	Depeptidyl Deptidase 4
DPPH	1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl
ERAs	Espèces Réactifs d'Azotes
EROs	Espèces Réactif d'Oxygènes
FDA	Food and Diabete Association
FID	Fédération International de Diabète
FRAP	Ferric Reducing Antioxydant Power
GLUT-4	Glucose Transporter-4
GLP-1	Glucagonlike peptide-1
HbA1c	Hymoglobine Glycosylé type A1c
HDL-C	High Density Lipoprotein-C
HT₅₀	Hemolysis Time ₅₀
IL-1β	Interleukine-1 β
IL-6	Interleukine-6
IRS	Insulin Receptor Substrate
LDL	Low Density Lipoprotein
MAPK	Mitogen-Activated Protein Kinases
OMS	Organisation Mondial de Santé
ON	Oxyde Nitrique
PAI-1	Plasminogen activator inhibitor-1
PBS	Phosphate Buffered Saline

PCSK9	Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type9
PI3-K	Phosphatidylinositol-3-Kinase
pNPG	p-nitrophenyl α -glucoside
PP2A	Phosphoprotéine Phosphatase 2A
PTP-1B	Protéine Tyrosine Phosphate-1B
ROS	Reactif oxygen species
RP-HPLC-PDA	Reversed Phase-High Performance Liquid Chromatography-Photo Diode Array
SFA	Saturated Fatty Acid
SGLT 2	Sodium-Glucose Co-Transporter-2
SHBG	Sex Hormone Binding Globulin
SUR1	Sulfamide Receptor 1
TNF-α	Tumor Necrosis Factor- α
UPR	Unfolded Protein Response
UV	Ultra-Violet
VLDL	Very low density lipoprotein

Introduction

L'hyperglycémie est définie cliniquement par une concentration glucosidique élevée dans le sang (>1,26g/l). Cet état déséquilibré est responsable d'une polyurie, polydipsie et d'une polyphagie (Rother, **2007**). Elle se traduit par le fait que le glucose est incapable d'entrer à l'intérieur des cellules, ce qui entraîne une hyperglycémie chronique. Cette incapacité est due soit à un mal-expression des récepteurs glucidiques sur la membrane cellulaire des tissus périphériques, soit à un mal sécrétion d'insuline par les cellules β pancréatiques (OMS, **2002**). Ce trouble d'absorption glucidique cause des problèmes graves de santé tels que l'obésité et le diabète sucré. De plus, l'hyperglycémie peut être un facteur ou une conséquence d'un déséquilibre d'homéostasie corporelle traduit par le stress oxydatif. Ce mécanisme est défini par un déséquilibre du rapport oxydant-pro-oxydants, produit comme conséquence des dommages cellulaires (au niveau des lipides, protéines et d'ADN) et des maladies chroniques comme le diabète de type 2.

Globalement, En 2019, la fédération internationale de diabète (FID) a estimé le nombre de personnes adultes atteintes de diabète sucré à 463 millions avec une prévalence de 9,3% à l'échelle mondiale. Ce chiffre pourrait atteindre 578 millions d'ici 2030 avec une prévalence de 10,2% et 700 millions d'ici 2045 avec une prévalence de 10,9% (FID, **2019**). Cette maladie a des conséquences graves en termes de morbidité, de mortalité et de prise en charge médicale très coûteuse. Elle est liée à des complications graves qui peuvent conduire à la néphropathie, la rétinopathie, la neuropathie, l'athérosclérose, et les maladies cardio-vasculaires (Michelle de Sales et *al.*, **2012**).

Le traitement actuel du diabète sucré par l'insuline injectable ou par les antidiabétiques oraux vise à minimiser la gravité des complications associées à cette maladie et à réguler la glycémie. Cette stratégie comprend la stimulation d'insulino-sécrétion endogène, l'amélioration de la sensibilité à l'insuline au niveau des tissus périphériques et l'inhibition des enzymes d'hydrolases (Funke et Melzing, **2006**; Imam, **2015**). Malheureusement, ces traitements ne permettent pas de guérir la maladie et ils s'associent à des effets secondaires indésirables sur la santé, comme l'hypoglycémie, la diarrhée, la constipation, les problèmes gastro-intestinales et les problèmes cardiaques (Michelle de Sales et *al.*, **2012**; Li et *al.*, **2019**). De plus, ils sont coûteux, leur disponibilité peut être réduite dans certains pays et selon le stade de développement de maladie, le traitement antidiabétique soit en di- ou trithérapie pour augmenter l'efficacité de traitement, ces inconvénients augmentent, conduisant à une mauvaise consommation de l'insuline (Guillausseau et *al.*, **2012**; Imam, **2015**).

Une grande partie de la population diabétique dans le monde s'oriente de plus en plus vers la médecine traditionnelle basée sur l'utilisation des plantes, pour soulager l'état diabétique.

Il est estimé que plus de 70% des personnes dans le monde utilisent les plantes pour répondre à leurs besoins de soins de santé, plus de 50% des médicaments utilisés en clinique sont des produits naturels à base de plante (Azam *et al.*, 2014; Wannes et Marzouk 2016). Le secret de leurs effets bénéfiques est associé à leurs profils phytochimiques et leurs richesses en molécules bioactives; composés phénoliques, alcaloïdes et terpénoïdes, expliquant leurs abondances dans plusieurs domaines de recherche biologique, chimique et pharmaceutique (Trabsa *et al.*, 2020).

Plusieurs enquêtes ethnopharmacologiques et ethnobotaniques ont été menées à travers le monde pour recenser les plantes antidiabétiques utilisées dans les différentes pharmacopées traditionnelles (Grover *et al.*, 2002; Li *et al.*, 2004; Chhetri *et al.*, 2005; Leduc *et al.*, 2006; Azzi *et al.*, 2012; Ezuruike et Prieto, 2014; Lawin *et al.*, 2016; Telli *et al.*, 2016; Barkaoui *et al.*, 2017; Chelghoum *et al.*, 2021).

Pour plusieurs plantes, les composés actifs responsables de l'activité pharmacologique ont été identifiés, isolés et les mécanismes cellulaires et moléculaires impliqués dans les effets thérapeutiques ont été partiellement ou complètement élucidés (Lamba *et al.*, 2000; Efui Holaly *et al.*, 2017; Miara *et al.*, 2019). Certains d'entre eux sont à l'origine de la mise au point de médicaments tels que la metformine extraite à partir de *Galega officinalis* (Oubré *et al.*, 1997; Grover *et al.*, 2002).

Une grande variété de mécanismes est impliquée dans la baisse du niveau de glucose dans le sang. Certains composés se révèlent véritablement anti-hyperglycémiants et pourraient avoir un potentiel thérapeutique. Alors que d'autres produisent simplement une hypoglycémie comme effet parallèle de leur toxicité, particulièrement hépatique (Jarald *et al.*, 2008).

Cependant, les composés naturels anti-hyperglycémiants peuvent exercer leur effet à différents niveaux, soit au niveau pancréatique par restauration de la fonction du pancréas, régénération ou/et réparation des cellules β pancréatiques et stimulation de la production et/ou la sécrétion de l'insuline, soit au niveau extra-pancréatique par réduction de la résistance à l'insuline en augmentant la captation du glucose par les tissus périphériques (muscle, foie, tissu adipeux), soit au niveau intestinal par inhibition d'activité enzymatique de l' α -amylase

et l' α -glucosidase réduisant ainsi l'hyperglycémie postprandiale (Jarald et al., 2008; Singh et al., 2012).

L'Algérie, de part sa situation géographique, bénéficie d'un climat et d'une flore très diversifiées. Les plantes poussent en abondance dans les régions côtières, montagneuses et également sahariennes dont beaucoup sont réputées pour leurs vertus médicinales et utilisées en médecine traditionnelle. Ces plantes constituent des remèdes naturels potentiels qui peuvent être utilisées pour le traitement du diabète sucré.

Globularia alypum L. de la famille des Plantaginacées et *Zygophyllum album* L. de la famille des Zygophyllacées sont des plantes spontanées locales qui se trouvent partout en Algérie. La première se trouve dans les montagnes, tandis que la deuxième est une plante halophyte qui pousse dans les régions de désert. Ces deux plantes sont citées comme anti-diabétiques dans des enquêtes ethnobotaniques réalisées auprès des diabétiques algérien ou maghrébine (Azzi et al., 2012; Hamza et al., 2019; Miara et al., 2019).

Notre travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation de la flore algérienne d'intérêt thérapeutique, utilisée en médecine traditionnelle pour le traitement du diabète sucré. Il se base sur une étude phytochimique et la recherche d'activité antioxydante et anti-diabétique des extraits bruts aqueux de la partie aérienne de *Globularia alypum* et *Zygophyllum album* et de leurs fractions riches en composés phénoliques

La méthodologie de cette étude est résumée dans les points suivants :

1. Extraction et préparation des extraits bruts aqueux et des fractions riches en composés phénoliques de la partie aérienne de *Globularia alypum* et *Zygophyllum album*.
2. Réalisation d'un screening phytochimique des différents extraits préparés ;
3. Dosage quantitative des composés phénoliques: polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés ;
4. Séparation et identification des fractions riches en composés phénoliques par une analyse RP-HPLC-PDA (*Reversed Phase-High Performance Liquid Chromatography-Photo Diode Array*).
5. Recherche des effets antioxydants des différents extraits et fractions préparés, *in vitro* : le piégeage du radical DPPH et le pouvoir réducteur du fer (FRAP) ;

6. Recherche d'effet anti-hémolytique des extraits et des fractions des plantes sélectionnées en présence d'attaque radicalaire d'AAPH (2,2'-azobis (2-aminodipropane) dihydrochloride);
7. Recherche d'effet inhibiteur de ces fractions de l' α -amylase et α -glucosidase.

Synthèse

Bibliographique

Les radicaux libres, les oxydants, les espèces réactives d'oxygène (EROs) ou d'azote (ERAs) sont des molécules caractérisées par une grande réactivité grâce à leur structures électroniques déséquilibrés (Åsgård, 2014). Ce sont les sources principales d'induction du stress oxydatif. Ce dernier, est défini par une perturbation au niveau des antioxydants et des pro-oxydants, menant à des dommages cellulaires et tissulaires qui touchent les lipides, les protéines ou l'ADN (Choi et *al.*, 2008). Il est classé comme le premier causatif des maladies chroniques telles que les maladies neurodégénératives, cardiovasculaires, le cancer et le diabète (Preedy, 2014). Ces maladies sont des pathologies à longue durée avec des évolutions lentes et des complications graves liées à des facteurs de risque socio-économiques, environnementaux ou génétiques, comme: la mondialisation, la sédentarité, le vieillissement, l'obésité et le tabagisme...etc (OMS, 2016). Elles peuvent être liées aux métabolismes tels que le diabète sucré. La figure 01 présente la relation entre le stress oxydatif et le diabète sucré.

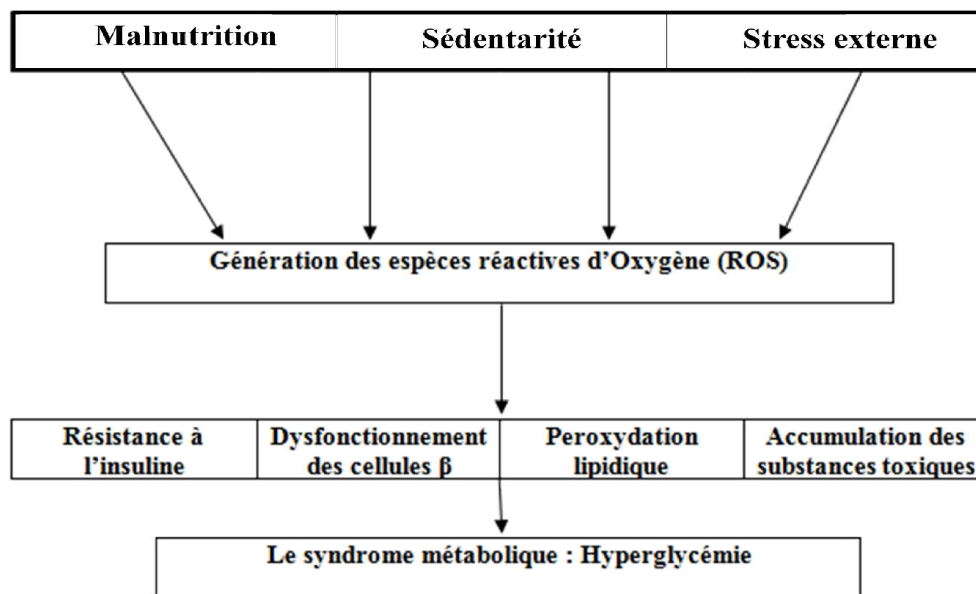


Figure 01: Le syndrome d'hyperglycémie causé par le diabète de type 2 et sa relation avec le stress oxydatif (Kwon, 2007).

En Algérie, le diabète est un véritable problème de santé publique de par sa prévalence et le poids de ses complications chroniques dominées par les complications cardiovasculaires, le pied diabétique, l'insuffisance rénale chronique et la rétinopathie (Belhadj et *al.*, 2015). Selon des projections faites par la Fédération Internationale du Diabète (FID) dans sa 9^{ème} édition de «Diabetes Atlas» (2019) et sur la base des résultats publiés, un chiffre de 1,9 millions diabétiques âgée de 20 à 79 ans, a été enregistré en 2019 en Algérie, avec une prévalence de 7,2% sur le plan national (FID, 2019).

Le diabète sucré est un groupe de maladies métaboliques, d'étiologie diverse, caractérisé par une hyperglycémie chronique, accompagnée d'une perturbation des métabolismes glucidique, lipidique et protéique, résultant d'un défaut de la sécrétion de l'insuline ou de l'action de l'insuline ou de ces deux anomalies associées (OMS, 2002; ADA, 2008). Selon l'Association Américaine du Diabète (ADA, 2008), le diabète sucré peut être classé en quatre types: diabète type 1, diabète type 2, diabète gestationnel et autres types du diabète.

Le diabète de type 1 est présent beaucoup plus chez les enfants (le diabète Juvénile ou le diabète insulino-dépendant). Il se déclare généralement lorsque l'organisme est incapable de produire de l'insuline à cause d'une auto-immunité présentée par les cellules T qui détruisent les cellules β des îlots de Langerhans, aboutissant à une carence absolue en insuline «insulinopénie» (ADA, 2005).

Le diabète de type 2 touche 90% de l'ensemble des diabétiques. Il se manifeste le plus souvent chez l'adulte. C'est une maladie chronique et évolutive dans le temps. Il se caractérise par une altération de l'insulinosécrétion et des anomalies des effets de l'insuline sur ses tissus cibles (insulino-sensibilité) (Alqahtani et al., 2014; OMS, 2016).

Le diabète de type 2, s'il est mal contrôlé, peut présenter des complications chroniques micro-angiopathiques graves comme la rétinopathie, la néphropathie et la neuropathie (Canavan et al., 2008), et macro-angiopathiques comme l'athérosclérose et l'hypertension (Musabayane, 2012). Cette maladie peut être associée avec une augmentation des espèces réactives d'oxygène ce qui est suivi par un stress oxydatif (Uttara et al., 2009).

Le syndrome métabolique ou notamment dyslipidémie, combine entre l'obésité et la résistance à l'insuline, présente des facteurs de risque responsable de diabète de type 2, des maladies cardiovasculaires et de dysfonctionnement urinaire (maladies rénales) (Reaven, 2004). Il est caractérisé par une surcharge de poids, une élévation de la pression artérielle, une augmentation du taux de la glycémie et des triglycérides et une réduction du cholestérol lipoprotéique de haute densité (HDL-C) (Alberti et al., 2009). Il est lié à des facteurs de risque, les plus fréquents sont: la sédentarité, la nourriture hypercalorique et les problèmes liés aux tissus adipeux. Des études récentes montrent que ces facteurs sont responsables d'un changement fonctionnel de signalisation hormonal par l'activation ou l'inactivation de cytokine adipocytaires, la leptine, l'adiponectine, la résistine et la protéine de liaison aux acides gras adipocytaires (*A-FABP*) (Salari et al., 2014).

L'hypertension et les maladies rénales sont corrélées fortement à l'obésité et par conséquent au diabète de type 2. Des études montrent que la prise de poids augmente la probabilité d'avoir une hypertension par une élévation de la pression artérielle chaque 10 kg de prise de poids. De plus, 2,5 fois des sujet hypertendus sont plus exposés au diabète de type 2 (Gallagher et *al.*, 2011).

Récemment, des formes graves de Coronavirus ou COVID-19 sont associées à la présence de diabète, cette association est confirmée premièrement en Chine, et elle est liée majoritairement à un risque de décès dans la plupart des cas. L'obésité et le surpoids sont considérés comme facteur létal chez des patients diabétiques atteints de COVID-19 (Halimi et Sultan, 2020).

L'hypothèse proposée sur le mécanisme de la forme grave de COVID-19 en présence de diabète est l'augmentation d'une inflammation. Les résultats des analyses sanguines des patients diabétiques atteints de coronavirus, en comparaison avec ceux non-diabétiques, ont présenté des taux élevés des marqueurs inflammatoires (interférons type 1), un taux réduit de monocytes sanguins et un changement morphologique des cellules immunitaires ce qui a expliqué la relation de cette maladie métabolique et la forme létale de ce virus. De plus, le virus peut empêcher la sécrétion d'insuline par la destruction des cellules β pancréatiques via un système qui implique l'enzyme de conversion d'angiotensine qui est très riche dans les organes régulateurs de la glycémie, ou par un système de déclenchement d'une réponse immunitaire qui joue un rôle crucial dans la destruction des cellules pancréatiques induit par l'entrée de virus (Alzaid et *al.*, 2020).

L'insuline est une hormone peptidique de 51 acides aminés, présentée en deux chaînes A et B, liées entre elles par deux liaisons disulfures. Cette molécule est synthétisée puis sécrétée par les cellules β des îlots de Langerhans au niveau du pancréas. La libération d'insuline dans la circulation sanguine est suivie d'un stimulus par exocytose dans des vésicules sécrétoires, (Wilcox, 2005).

La biosynthèse et la sécrétion de l'insuline est influencée par plusieurs éléments majoritairement le glucose, les acides aminés, les acides gras, l'acétylcholine et le glucagon-like peptide-1 (Fig. 02). Des altérations dans la transcription, la traduction ou des modifications post-traductionnelles sont responsables de la structure d'insuline mature, où les altérations au niveau des cellules β sont les plus endommageantes (Dodson et Steiner, 1998; Wilcox, 2005).

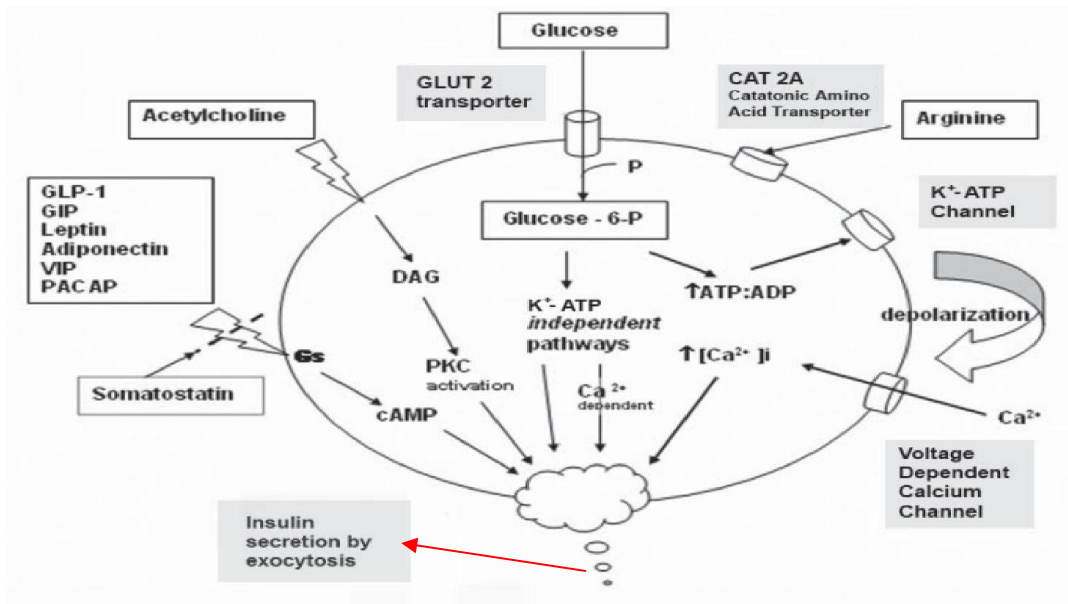


Figure 02: Les stimulateurs de la sécrétion d'insuline (Bratanova-Tochkova et *al.*, 2002; Wilcox, 2005)

La détection de glucose au niveau des cellules β suivie par une génération d'ATP et l'activation des canaux K^+ , cause un changement du potentiel membranaire et une augmentation de la concentration de Ca^{+2} intracellulaire, conduisant à une sécrétion d'insuline (Wilcox, 2005).

Le récepteur d'insuline est un hétérotétramère constitué de 2 sous unités glycoprotéiques α et 2 β liées entre elles par des liaisons disulfures. Il est situé sur la membrane cellulaire des muscles, foie, tissus adipeux, cerveau, rein...etc. (Kido et *al.*, 2001). L'insuline se lie à la sous unité α permettant l'activation de l'ATP et un changement de conformation de la sous unité β , ce qui déclenche une cascade de signalisation enzymatique présentée par l'activation de la tyrosine kinase. Ce dernier phosphoryle des protéines de substrat intracellulaire sensible à l'insuline (IRS) (Wolever, 1999; Kido et *al.*, 2001). L'IRS se lie à d'autres molécules de signalisation cellulaire selon l'action cellulaire de l'insuline. L'activation des protéines IRS phosphoryle des enzymes telles que le phosphatidylinositol 3-kinase (PI3-kinase) qui favorise la translocation des protéines transporteur du glucose et la synthèse du glycogène, des lipides et des protéines (Burks et White, 2001; Kido et *al.*, 2001). Plus spécifiquement la liaison d'insuline à son récepteur active deux voies de signalisation, la voie métabolique activée par la protéine kinase B (voie d'AKT), et la voie mitogénique responsable de la régulation et l'expression génétique d'insuline par la MAPK *mitogene-activated proteine kinase* (Fig. 03) (voie de RAS) (White, 2003).

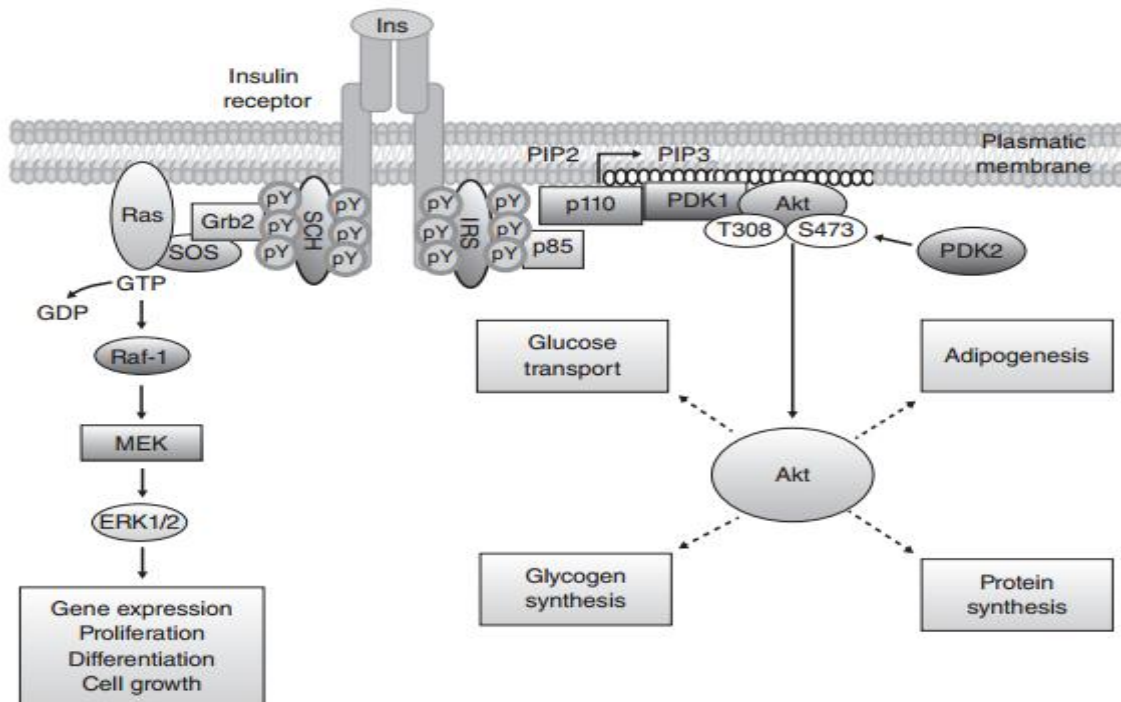


Figure 03: Les voies de signalisation d'insuline (Bratanova-Tochkova et al., 2002; Wilcox, 2005)

La résistance à l'insuline est le problème le plus grave caractérisant le diabète sucré et ses complications (Gutiérrez-Rodelo et al., 2017). Les cellules des tissus périphériques sont incapables de réduire la quantité du glucose élevée à cause de l'incapacité d'insuline à se lier à leurs récepteurs, ce qui entraîne un état d'hyperinsulinisme compensatoire pour atteindre l'euglycémie. L'efficacité des récepteurs (la sensibilité à l'insuline) est diminuée à cause des mutations ou des modifications post-traductionnelles des récepteurs ou des protéines effectrices (Reaven, 1993; Brown et Goldstein, 2008; Olivares-Reyes et Arellano-Plancarte, 2008).

Le mécanisme de la résistance à l'insuline est causé par des défauts au niveau des récepteurs, sur le site catalytique ou au niveau d'IRS, ce qui diminue le nombre de récepteurs exposé par la cellule sur la membrane cellulaire. Comme elle se manifeste, aussi, par des altérations au niveau des protéines effectrices causé par une phosphorylation de Ser/Thr au lieu de Tyr, conduisant à une mauvaise signalisation et donc une réduction de récepteurs de glucose (GLUT-4). Cet effet négatif conduit à une inhibition soit d'une action métabolique ou d'une expression génétique. Dans ce cas, les cellules β déclenchent un état d'hyperinsulinémie compensatoire, mais il reste insuffisant, ce qui conduit à une activation des voies de régulation d'insuline (Gutiérrez-Rodelo et al., 2017).

Une autre altération est au niveau des protéines AKT; l'activité de phosphoprotéine phosphatase 2A (PP2A) est altérée par une surproduction des céramides (métabolisme des SFA; comme le palmitate). Ce dernier déphosphoryle et inactive la protéine AKT, et phosphoryle la protéine kinase C en Ser, inhibant son déplacement vers la membrane, permettant une mauvaise modulation de signalisation hormonale (Gutiérrez-Rodelo et *al.*, 2017).

L'action métabolique dans le corps est liée principalement à l'insuline. Une carence ou une résistance à cette hormone, cause une réduction ou un dysfonctionnement fonctionnel selon les organes cibles. Les muscles et les tissus adipeux sont insulino-dépendant, alors que le foie, le tissu endothélium, le cerveau, le pancréas, les gonades, l'os et les reins sont non insulino-dépendants, mais ils sont concernés par les effets de l'insuline et par la résistance à l'insuline (Wilcox, 2005), (Tableau 01).

Tableau 01: le rôle d'insuline dans quelques organes et tissus, et les altérations affectées en cas d'une carence et/ou une résistance à l'insuline (Wilcox, 2005; Trout et *al.*, 2007; Gutiérrez-Rodelo et *al.*, 2017).

Organes	Présence d'insuline	Carence/résistance à l'insuline
Tissus adipeux	<ul style="list-style-type: none"> - Absorption de glucose par les GLUT-4 - Favorisant la lipogenèse et inhibition de la lipolyse - Oxydation des acides gras pour fournir l'énergie intracellulaire - Transformation des acides gras libres en corps cétoniques 	<ul style="list-style-type: none"> - Transformation des acides gras libres sous forme de lipoprotéines VLDL - Suppression de céto-genèse - Diminution d'absorption de triglycérides responsable d'une hypertriglycéridémie - Production et sécrétion des cytokines comme les interleukines (IL-6) - Une intolérance au glucose provoqué par la diminution d'exposition des récepteurs de glucose
Muscles	<ul style="list-style-type: none"> - Absorption de glucose par l'insuline - Activation de glycogène synthase ce qui favorise la synthèse de glycogène - Synthèse de protéines est activée en présence d'insuline, hormone de croissance et acides aminés 	<ul style="list-style-type: none"> - Stimulation de catabolisme protéique et libération des acides aminés utilisés dans la gluconéogenèse - Mauvaise translocation de glucose cause une altération de synthèse de glycogène - Une intolérance au glucose provoqué par la diminution d'exposition des récepteurs de glucose
Foie	<ul style="list-style-type: none"> - Absorption et élimination de glucose du corps est une action non-insulinodépendante - Stimulation de la synthèse de glycogène et inhibition de la gluconéogenèse et la production des 	<ul style="list-style-type: none"> - Dissociation des processus affectés soit par une carence, résistance à l'insuline ou une hyperinsulinémie compensatoire - Production de glucose via une gluconéogenèse en cas de famine - Diminution de production de SHBG et

	<p>corps cétoniques</p> <ul style="list-style-type: none"> - Modulation de la synthèse des protéines et le métabolisme des lipoprotéines - Régulation des effets mitogène de l'insuline et suppression de production des globulines liant l'hormone sexuelle (SHBG) 	<p>favorisant les effets mitogènes de l'insuline en cas d'une hyperinsulinémie compensatoire</p> <ul style="list-style-type: none"> - Augmentation de la teneur en triglycérides et de la sécrétion de VLDL - Induction de la synthèse hépatique de fibrinogène et PAI-1 - Une intolérance au glucose provoqué par la diminution d'exposition des récepteurs de GLUT-4
Endothélium et vasculaire	<ul style="list-style-type: none"> - Assure la fonction plaquettaire, la coagulation sanguine et la fibrinolyse - Amélioration de la production de l'oxyde nitrique (ON) via l'activation de l'oxyde nitrique synthase - Production de l'ON responsable de la prolifération cellulaire des muscles lisses - Favorisant la libération de l'endothéline vasoconstricteur 	<ul style="list-style-type: none"> - Dysfonctionnement endothélial est associé à un développement de l'athérosclérose - Réduction de la production de tétrahydrobioptérine et l'oxyde nitrique synthase - Altération de la fonction vasodilatatrice - Inhibition de l'activité de l'ON et diminution de sa production à cause de la présence des acides gras libres - Augmentation de l'agrégation plaquettaire liée à une surproduction des facteurs procoagulants comme le PAI-1 stimulé par l'hyperinsulinémie compensatoire - Elévation de la sécrétion d'endothéline1 inhibant la signalisation de l'insuline et entre en compétition avec l'ON - Développement de l'athérosclérose est associé probablement à une action mitogénique affecté au niveau de MAP kinase
Cerveau	<ul style="list-style-type: none"> - Absorption non-insulino-dépendante de glucose - Localisation vaste dans des parties de cerveau comme l'hypothalamus, l'hypocampe et la rétine...etc. - Ses actions multiple, il agit tant qu'un neuropeptide, il a un rôle dans l'olfaction, la satiété, le mémoire et la régulation de l'appétit...etc. 	<ul style="list-style-type: none"> - Dysfonctionnement lié à une régulation de la protéine précurseur amyloïde, ce qui partage un lien avec la maladie d'Alzheimer - Dérégulation de l'appétit et le poids corporel au niveau du cerveau peut être une source causal qui contribue à une obésité et un diabète de type 2
Pancréas	<ul style="list-style-type: none"> - Régulation de la sécrétion d'insuline stimulée par le glucose - Stimulation de la croissance des cellules β 	<ul style="list-style-type: none"> - Surexpression de PTP-1B dans la lignée cellulaire INS-1 des cellules B : - Réduire la stimulation des récepteurs IRS-1 stimulateur d'insuline et de phosphorylation de Tyr - Stimulation de la phosphorylation d'AKT et la sécrétion d'insuline stimulée par le glucose

Plusieurs mécanismes sont responsables de la régulation de l'action d'insuline. Ils peuvent être soit extrinsèques ou intrinsèques. Le stress oxydatif, le dysfonctionnement mitochondrial

et le stress du réticulum endoplasmique présentent les mécanismes intrinsèques. Tandis que la présence d'inflammation et les modifications au niveau des adipokines et des acides gras présentent les mécanismes extrinsèques (Odegaard et Chawla, **2013**).

L'insulino-résistance apparaît clairement par une inflammation déclenchée en cas d'une perturbation et altération de la signalisation cellulaire en cas d'une glucotoxicité et une lipotoxicité caractérisée par un stress oxydatif (Kim et al., **2006**). Les produits finaux d'une glycation AGE (*advanced glycation end-products*) en cas d'hyperglycémie et les acides gras libres augmentent la production des ROS (*reactive oxygene species*) et donc des concentrations élevées de l'anion O^{2-} conduisent à une intolérance au glucose et donc le diabète (Fève, **2008**).

Le dysfonctionnement tissulaire des adipocytes provoqué par une surcharge de poids conduit à une libération incontrôlée des acides gras saturés (SFA: *saturated fatty acids*), d'une augmentation de l'infiltration des macrophages, suivi d'une sécrétion incontrôlée des adipokines et des cytokines pro-inflammatoires, ce qui entraîne une réponse inflammatoire chronique responsable du changement négatif de signalisation cellulaire (Weisberg et al., **2003**), induisant une résistance à l'insuline caractérisée par une libération des cytokines inflammatoires où figurent le facteur TNF α (*tumor necrosis factor α*), IL-1 β (*interleukine-1 β*) et IL-6 (*interleukine-6*) (Ouchi et al., **2011**).

Autrement, l'activation de l'inflammation en cas d'un stress de réticulum endoplasmique (RE) peut être stimulée par quelques facteurs comme: la surcharge des protéines synthétisées et anormalement repliées, une perturbation de la charge calcique, la déprivation en glucose...etc. Ces conditions mettent une certaine pression sur le RE, ce qui provoque une accumulation des protéines anormalement repliées en induisant l'activation d'UPR (*Unfolded protein response*) (Hotamisligil, **2010**).

L'insulinopénie qui caractérise la maladie de diabète type 2 est une conséquence de l'incapacité des cellules β à produire et à sécréter une quantité suffisante d'insuline en réponse de glucose suite à une demande corporelle. Cette situation est causée par l'insulino-résistance qui s'accompagne d'une perte progressive du nombre des cellules β pancréatiques. De plus, une diminution massique de 65% des cellules β est associée à un effet réduit d'insulinosécrétion liée au diabète. Cette diminution cellulaire est liée probablement à un mort programmé par apoptose. Des facteurs génétiques, l'excès lipidique associés à l'obésité et l'inflammation, des modifications intracellulaires causées par un stress de réticulum

endoplasmique, ou une altération des gènes sont les facteurs possibles dans la perturbation de la masse et la fonction cellulaire et qui ne permettent pas la différenciation et la prolifération cellulaire (Butler *et al.*, **2003**; Eguchi et Nagai, **2017**). De plus, une imperméabilité intestinale causé par une inflammation et des changements des microbiotes suggèrent qu'une amélioration d'insulino-résistance est liée à une flore intestinale saine (Tenenbaum *et al.*, **2018**).

Dans le but de minimiser les complications du diabète sucré et de contrôler le niveau glycémique des malades, les personnes diabétiques sont obligées de suivre des traitements qui se résument par des mesures hygiéno-diététiques, les antidiabétiques oraux ou l'insulinothérapie pour les diabétiques de type 2, et seulement par l'insulinothérapie dans le cas des diabétiques de type 1 (OMS, **2016**).

Dans la plupart des cas, les mesures hygiéno-diététiques sont considérées comme des éléments importants de la stratégie de traitement des adultes atteints de diabète de type 2. Une pratique appropriée de régime alimentaire et de l'exercice physique peut améliorer la sensibilité à l'insuline et le contrôle de la glycémie et peut diminuer le besoin en médicaments oraux ou d'insuline (Nelson *et al.*, **2002**)

Les cliniciens disposent aujourd'hui un large choix de médicaments antidiabétiques oraux pour le diabète de type 2. Les principales classes sont hétérogènes quant à leurs modes d'action, leurs profils de sécurité et leurs tolérabilité (krentz et Bailey, **2005**).

La Metformine est un agent pharmacologique des biguanides qui diminue la résistance d'insuline et la progression de diabète. Son effet repose sur l'activation de l'adénosine monophosphate kinase hépatique pour réduire la production glucidique et l'amélioration de la fonction des cellules β pancréatiques (Imam, **2015**).

Les Thiazolidinediones sont des sensibilisateurs d'insuline, connus par la Pioglitazone et Rosiglitazone. Ce sont des agonistes qui se lient sur des récepteurs nucléaires activés par des peroxyosomes, qui stimulent l'expression génétique des gènes métaboliques. Ils augmentent la transcription des transporteurs de glucose et diminuent sa production. Malheureusement, ils ont des effets cardiovasculaires indésirables (Imam, **2015**).

Les Sulfonylurées et les Glinides sont des sécrétagogues d'insuline. Ils ont un effet très court et rapide. Ils se lient à des récepteurs sur les cellules β stimulant la sécrétion d'insuline. Leurs utilisations sont corrélées avec un régime alimentaire et des exercices physiques. Ils ont

un effet hypoglycémiant et ils peuvent être administrés seuls ou en association avec les Thiazolidinediones ou les Biguanides (Imam, **2015**; Archambeaud et Fougere, **2017**). Il existe deux générations des sulfonylurées, la première stimule l'insulinosécrétion par liaison avec des récepteurs SUR1 (*sulfamide receptor 1*) et fermeture des canaux potassiques K_{ATP} des membranes des cellules β , et la deuxième génération est caractérisée par un effet antioxydant. Une étude a montrée que l'effet d'administration de Gliclazide chez des souris, augmente la défense antioxydante et diminue l'apoptose des cellules β par liaison à des récepteurs SUR1 (Ashcroft et Gribble, **1999**).

L'Acarbose, le Miglitol et le Viglibose sont des médicaments oraux de la classe des inhibiteurs enzymatiques, prise par des patients diabétiques dont le but d'inhiber l'action des enzymes responsables de la digestion glucidique comme l' α -glucosidase et l' α -amylase; soit salivaire ou pancréatique. L' α -amylase hydrolyse les liaisons α (1-4) des glucides qui donne comme produits: les maltoses, maltotrioses et les α -dextrines. Alors que, l' α -glucosidase hydrolyse des disaccharides comme la saccharose (sucrase) et la lactose, libérant des unités de glucose et d'autres produits selon la digestion enzymatique (Blicklé et *al.*, **1999**). Les inhibiteurs d' α -glucosidase sont très connus depuis plusieurs années, ils ont un effet rapide et moyennement efficace dans la diminution de la glycémie postprandiale. Ils agissent sur les enzymes de la bordure de la brosse des anthérocytes (Imam, **2015**). L'Acarbose est un pseudotetrasaccharide, extrait à partir des actinomycètes comme *Actinoplanes sp* (Tuyen et *al.*, **2020**). Cette poudre blanche a un effet faible vis-à-vis des amylases, son action est principalement d'inhiber l'activité des α -glucosidases par ordre décroissant d'activité (Fujimoto et *al.*, **1998**). Son action est limitée pour les personnes aux problèmes gastro-intestinaux et qui souffrent d'une insuffisance rénale. Mais actuellement, il suffit d'associer ce principe actif à un adjuvant améliorant son action, ce qui présente une performance dans la glycémie sanguine très important (Li et *al.*, **2020**).

Les inhibiteurs de dipeptidyl dipeptidase 4, responsable de la dégradation des GLP-1 (*Glucagon-like peptide-1*), sont des insulino-sécrétagogues et gluco-dépendants (la Sitagliptine, la Saxagliptine et la Vildagliptine). Ce sont des enzymes DPP-4 qui prolongent l'action des hormones incrétines et par conséquent prolongent et renforcent l'effet d'insuline pour diminuer la glycémie en cas d'hyperglycémie (Imam, **2015**; Charbonnel, **2018**).

Les analogues de récepteurs du GLP-1 (AR GLP-1) sont des médicaments injectables, connus par l'Exénatide, Dulaglutide, Sémaglutide. Ils peuvent agir sur les cellules β en tant

qu'insulino-sécréteurs et gluco-dépendant, au niveau cervical en tant qu'agent anorexique, dans le foie en diminuant la synthèse de glucose ou l'estomac en diminuant la vidange gastrique. Ils résistent à l'action de l'enzyme DPP-4 ce qui prolonge l'effet de l'insuline (Charbonnel, **2018**; Bauduceau et Monnier, **2019**).

Les inhibiteurs SGLT 2 (*Sodium-Glucose Co-Transporter Inhibitors*), connus par la Canagliflozine, l'Empagliflozine et la Dapagliflozine (Imam, **2015**), ont un mode d'action qui est basé sur l'élimination de glucose par les reins. Ils agissent sur des transporteurs SGLT 2 qui se trouvent dans le tubule proximal des reins. Cette action inhibe la réabsorption de glucose entraînant une inactivation de sa filtration par les glomérules et une perte de glucose par les reins, et par conséquent, elle entraîne une diminution de la glycémie sanguine. L'effet de ces médicaments est efficace sauf dans des cas d'une altération rénale. Cette inhibition est accompagnée d'une perte de sodium. Il est possible de les associer à d'autres traitements antidiabétiques, prise en trithérapie avec le DPP-4 et la Metformine ou l'insuline basal comme exemple (Charbonnel, **2018**).

L'Amyline est un peptide sécrété par les cellules β pancréatiques, qui retarde la vidange gastrique, réduit l'appétit et diminue la libération de glucagon et la production de glucose hépatique, ce qui régule la glycémie sanguine. Les analogues d'Amyline comme le Pramlintide sont utilisés dans le traitement de diabète de type 2 sous forme d'injection (Riddle *et al.*, **2007**).

L'insulinothérapie sert à utiliser l'insuline injectée comme traitement basal seul ou en association à des antidiabétiques oraux. Il est dirigé plus spécifiquement aux patients diabétiques de type 1, mais il peut être pris par des patients diabétiques de type 2 pour mieux contrôler la glycémie sanguine (Imam, **2015**).

D'autres formes de traitement de diabète présentent une nouvelle modalité dans la gestion de diabète comme, l'insuline inhalée (Afrezza) approuvée par la FDA (*Food and Drug Administration*) en avril 2014. Des nouveaux analogues d'insulines sont en cours de développement avec une action longue dans le but d'améliorer la fonction basale de l'insuline comme, le Dégludec et Linjeta (Imam, **2015**).

L'installation d'un pancréas artificiel est une nouvelle stratégie thérapeutique. Il s'agit d'un système de moniteur de glucose combiné à une pompe d'insuline, capable de calculer la quantité d'insuline qui doit être administrée au patient. Ces transplantations de pancréas et des

ilots de Langerhans sont effectués généralement pour celui qui souffrent de diabète de type 1 (Imam, 2015).

Dans une étude récente, l'effet d'enzyme PCSK9 (*proprotein convertase subtilisin/kexin type9*) a été évalué. Cette enzyme joue un rôle dans l'augmentation des concentrations lipidiques circulantes par la dégradation du récepteur de LDL provoque une hypertriglycémie et une hypercholestérolémie. Les inhibiteurs de PCSK9 peuvent réduire les concentrations circulantes de cholestérol en bloquant la forme extracellulaire de PCSK9 et favorisant le catabolisme de LDL (Dijk et al., 2019).

L'Alirocumab et l'Avolocumab sont des anticorps monoclonaux très commercialisés qui exercent des effets inhibiteurs suggérés comme une nouvelle classe sans risque cardiovasculaire (Dijk et al., 2019). Le Tableau 02 présente quelques classes médicamenteuses utilisées dans le traitement de diabète).

Tableau 02: Les principaux médicaments utilisés dans le traitement du diabète sucré (Guillausseau et al., 2012; Imam, 2015; Archambeaud et Fougere, 2017; David et Boinet, 2017; Charbonnel, 2018; Bauduceau et Monnier, 2019).

Les médicaments antidiabétiques	Classes	Exemples	Caractères généraux
Sensibilisateurs d'insuline	- Biguanides. - Thiazolidinediones.	- Metformine. - Pioglitazone et Rosiglitazone.	- Améliore l'insulino-résistance - Traitement de première - Réduction de HbA _{1c} de 1-1,5% - Sans effet hypoglycémiant - Réduction de risque cardiovasculaire - Prise de poids
Sécrétagogues d'insuline	- Sulfonylurées - Glinides	- Tolbutamide, Glyburide, Glipizide et Glimepiride. - Gliclazide, Répaglinide et Natéglinide.	- Caractères insulinosécréteurs - Traitement de deuxième ligne - Réduction de HbA _{1c} de 1-2% - Effet hypoglycémiant remarquable - Aucun effet sur le risque cardiovasculaire - Prise de poids
Inhibiteurs d'α-glucosidase		- Acarbose, Miglitol et Voglibose	- Ralentissement de l'absorption intestinal de glucose - Sans effet hypoglycémiant - Réduction de risque cardiovasculaire - Réduction de HbA _{1c} de 0,5-1%
Inhibiteurs dipeptidyl diptidase 4 (IDPP4)		- Sitagliptine, Vildagliptine, Saxagliptine Linagliptine	- Des effets insulinosécréteurs - Agent anorexique - Réduction de glucagon - Diminuant la vidange gastrique - Sans effet hypoglycémiant

			<ul style="list-style-type: none"> - Une sécurité cardiovasculaire - Réduction de HbA_{1c} de 0,5-0,8% - Neutre en vue de prise de poids
Inhibiteurs de sodium-glucose co-transporteurs		<ul style="list-style-type: none"> - Canagliflozine, - Empagliflozine - Dapagliflozine - Ertugliflozine 	<ul style="list-style-type: none"> - Induction de glycosurie - Diminuant l'hyperglycémie - Sans effet hypoglycémiant - Effet favorable sur la pression artérielle - Protecteur contre la dégradation rénal - Entraîne des bénéfices cardiovasculaires - Réduction de HbA_{1c} de 0,57-0,7% - Perdre de poids
Insuline	<ul style="list-style-type: none"> - Insuline basale - Insuline rapide - Les analogues d'insuline - Insuline prémélangés 	<ul style="list-style-type: none"> - NPH, Asparté, - Glulisine, Lispro, - Glargine et Létémir. 	<ul style="list-style-type: none"> - Réduction de la gluconéogenèse, la lipolyse et la protéolyse - Risque moindre d'hypoglycémie - Effet neutre sur les risques cardiovasculaires - Une modeste prise de poids - Réduction de HbA_{1c} de 1.5-3.5%
Agonistes de récepteurs de GLP-1	<ul style="list-style-type: none"> - Courts - Longs 	<ul style="list-style-type: none"> - Exenatide - Exendine-4, - Liraglutide, Dulaglutide 	<ul style="list-style-type: none"> - Effet insulino-trope et glucagonostatique - Diminuant la vidange gastrique - Diminuant l'appétit - Effet bénéfique sur les risques cardiovasculaires - Sans effet hypoglycémiant - Traitement de troisième ligne - Réduction de HbA_{1c} de 0.5-1% - Prise de poids
Analogues d'Amyline		<ul style="list-style-type: none"> - Pramlintide 	<ul style="list-style-type: none"> - Agent gluco-dépendent - Retardement de la vidange gastrique - Diminution de la production de glucose hépatique - Inhibition de la sécrétion de glucagon - Réduction d'appétit - Améliore la prise de poids - Régulateur de la glycémie sanguine - Réduction de HbA_{1c} de 0.5-0.7%

Les antidiabétiques oraux ont des inconvénients comme toute molécule synthétique. La plupart d'entre eux sont responsables d'hypoglycémie, de perturbations gastro-intestinales et des risques cardiovasculaires. Ces médicaments sont parfois très coûteux et non disponibles (Imam, 2015).

Depuis longtemps, les diabétiques utilisent la médecine traditionnelle comme traitement de diabète. Les remèdes à base des plantes médicinales ont acquis de nouveau une place importante dans l'arsenal thérapeutique du diabète sucré partout par le monde.

Selon les estimations de l'OMS, plus de 80 % de la population mondiale, surtout dans les pays en voie de développement, ont recours aux traitements traditionnels pour satisfaire leurs besoins en matière de santé et de soins primaires (Agisho et *al.*, 2014).

Environ 35 000 espèces de plantes sont utilisées dans le monde à des fins médicinales, ce qui constitue un large éventail de biodiversité utilisé par l'être humain. Environ 800 plantes entre eux ont un potentiel antidiabétique connu (Kayarohanam et Kavimani, 2015; Gurjar et *al.*, 2016).

Ces propriétés sont issues à la richesse du contenu phytochimiques en composés bioactifs tels que les composés phénoliques (acide phénolique, les coumarines, les flavonoïdes, les tanins, ...), les composés azotés (les alcaloïdes), les composés terpéniques (les terpénoïdes, les saponines...). Ces composés, appelés aussi métabolites secondaires, sont synthétisés par les plantes comme moyen de défense contre les rayons UV, la résistance contre les herbivores et les carnivores. Ils protègent les chloroplastes contre les électrons de haute énergie tout en piégeant les espèces réactives d'oxygène et les radicaux libres (Gould, 2004; Arumugama et *al.*, 2013; Al Disi et *al.*, 2016). Ces phytoconstituants sont structurellement très diversifiés, et présentent un nombre important de fonctions biologiques (antioxydantes, anticancéreuses ou antidiabétiques...etc.) (Parikh et *al.*, 2014).

Les composés phénoliques constituent les éléments de base de plusieurs composants végétatifs. Ce sont des métabolites secondaires produits par les plantes, caractérisés par la présence d'un ou plusieurs noyaux benzéniques, portant un ou plusieurs groupements hydroxyle libre ou engagé dans une fonction ester, éther ou hétéroside. Ils dérivent soit de la voie du Shikimate soit de la voie de l'Acétate (Krief, 2004).

Les acides phénoliques sont des dérivés des acides benzoïques (C₆-C₁) ou cinnamiques (C₆-C₃). Ces composés phénoliques sont caractérisés par la présence d'un anneau phénolique et des substituants hydroxyle comme l'acide gallique, le propyl gallate, l'acide sinapique...etc. Généralement, ils se lient à des constituants végétaux comme la cellulose, les flavonoïdes et les terpènes (Andreasen et *al.*, 2000). Ils peuvent avoir des effets antioxydants,

antimicrobiens, antiprolifératifs, anticancéreux et antidiabétiques (Rouhani et Watson, 2014; Lorigooini, 2020).

Les flavonoïdes sont la classe des polyphénols la plus représentée et la plus étudiée (Ksouri et *al.*, 2011). Ils sont organisés en C₆-C₃-C₆ (Fig. 04). Ils sont responsables de la coloration des fruits, des fleurs et parfois des feuilles (Kreif, 2003). Ils sont divisés en plusieurs familles tels que: flavones, flavonols, flavanones, flavanonols, isoflavones, flavan-3-ols, anthocyanidines...etc. Ils sont trouvés plus souvent attachés à un hétéroside. Généralement les flavonoïdes sont des antioxydants puissants, ils exercent aussi des effets antimicrobiens, antihyperlipidimiques et antidiabétiques (Unnikrishnan et *al.*, 2014).

La quercétine, la kaempferole, la luteoline, l'apigénine, la diosmétine et la naringénine sont des flavonoïdes qui ont un effet antidiabétique par excellence (Mukherjee et *al.*, 2006). Elles sont rapportées comme agents réduisant d'une façon significative le taux de cholestérol et de triglycéride sanguin par l'augmentation de l'activité glucokinase et comme stimulateur de la sécrétion d'insuline (Bhushan et *al.*, 2010).

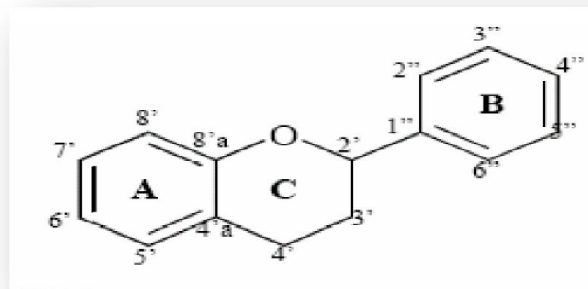


Figure 04: Structure de base des flavonoïdes

Les tanins sont la forme polymérisée des unités phénoliques, caractérisés par un poids moléculaire élevé. Ils sont capables de se lier à des protéines empêchant leur dégradation. Ils sont subdivisés en tanins hydrolysables (polyesters de glucides et d'acide phénolique comme les tanins galliques et les tanins ellagiques) (Fig. 05) et tanins condensés ou proanthocyanidols (formés par une polymérisation des flavonoïdes aglycones (flavan-3-ols)) (Fig. 06) (Krief, 2004; Espitalier, 2010).

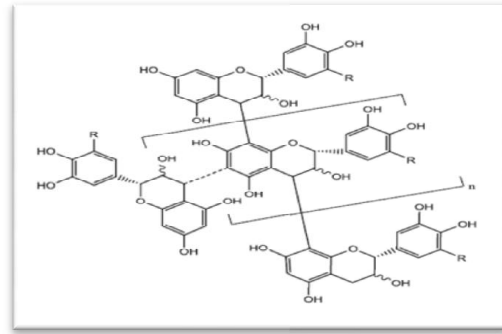
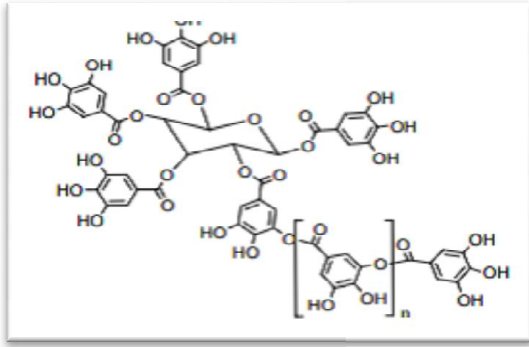


Figure 05: Structure des tanins hydrolysables **Figure 06:** Structure des tanins condensés

Les coumarines sont des hétérocycles qui appartiennent à la famille des benzopyrones, qui consiste en un cycle benzénique relié par un cycle pyrone (Fig. 07) (Srikrishna et *al.*, 2016).

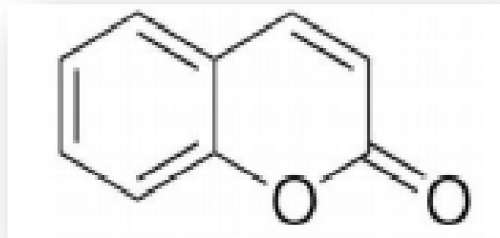


Figure 07: Structure de base des coumarines

Les composés azotés (les alcaloïdes) sont des substances organiques d'origine végétale, à caractère alcalin qui présentent une structure complexe hétérocyclique ayant un atome d'azote (Gupta et *al.*, 2015).

Selon la présence ou l'absence d'un précurseur de synthèse (acide aminé), et l'inclusion ou non d'un atome d'azote dans un système hétérocyclique, on distingue trois classes d'alcaloïdes: les Alcaloïdes vrais (formés à partir des acides aminés dont l'atome azote est inclus dans un système hétérocyclique), les Proto alcaloïdes (formés à partir des acides aminés dont l'atome d'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique) et les pseudo alcaloïdes (présentent tous les caractères des alcaloïdes vrais mais qui ne sont pas des dérivés des acides aminés) (Gupta et *al.*, 2015).

Les alcaloïdes sont connus par leurs effets antidiabétiques (inhibitrice d'action enzymatique d' α -glucosidase) (Bhushan et *al.*, 2010) et leurs effets antioxydants (Saed-Moucheshi et *al.*, 2013). Mais malheureusement, des études ont montré ses effets toxiques à l'homme (Makkar et *al.*, 2007).

Les composés terpéniques se sont des métabolites secondaires de nature organique, dérivés des unités d'isoprène (C_5H_8) (Fig. 08). Selon le nombre de ces unités de base, les terpénoïdes peuvent être classés en monoterpènes (C_{10}), sesquiterpènes (C_{15}), diterpènes (C_{20}), sesterpènes (C_{25}), triterpènes (C_{30}), tetraterpènes (C_{40}) et polyterpènes (Wang et *al.*, 2005).

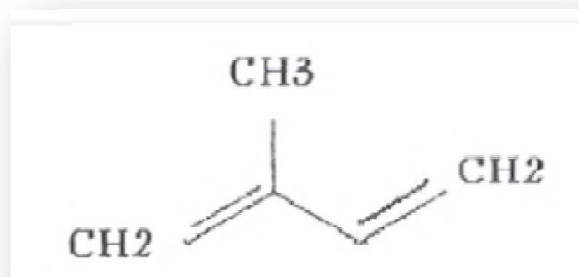


Figure 08: Structure de l'isoprène

Cette collection très diversifiée de constituants bioactifs des plantes médicinales fait l'objet de plusieurs études ethnopharmacologiques et ethnobotaniques, où les chercheurs s'orientent vers la recherche de nouvelles plantes endémiques pour identifier et valider leurs effets biologiques bénéfiques (Petropoulos et *al.*, 2018).

La plupart des plantes médicinales possèdent des propriétés antihyperglycémiantes, elles peuvent agir par plusieurs mécanismes en stimulant la sécrétion d'insuline via les cellules β pancréatiques, en améliorant la sensibilité à l'insuline par stimulation de la captation de glucose par les tissus périphériques, en diminuant la tolérance au glucose, en inhibant des enzymes intestinales (α -amylase et α -glucosidase) ou en piégeant des radicaux libres grâce à ses effets antioxydants (Baskaran et *al.*, 1999).

Une des approches thérapeutiques utilisées pour la réduction de l'hyperglycémie postprandiale consiste à l'inhibition de α -amylase et α -glucosidases, hydrolysant les glucides alimentaires complexes en sucres simples, retardant ainsi leurs absorptions au niveau de l'intestin grêle et par conséquent l'hyperglycémie.

L' α -glucosidase (EC: 3.2.1.20, α -D-glucosidase \rightarrow gluco-hydrolase) est une enzyme sécrétée par les animaux et les levures. Elle est fréquemment localisée à la surface du bord en brosse des cellules intestinales. C'est une enzyme cruciale pour la digestion des glucides: d'oligosaccharides, polysaccharides et disaccharides en monosaccharides qui sont facilement absorbés par l'intestin (Han et *al.*, 2018).

L' α -amylase (EC: 3.2.1.1, α -1-4 D-glucane glucanohydrolase,) est une enzyme ubiquitaire de différentes sources : animales, végétales et microbiennes (Sales et *al.*, **2012**). Elle catalyse des composants de l'amidon (amylose et amylopectine), de glycogène par clivage spécifique des liaisons α -D-(1-4) glucosidiques pour donner des simples unités du glucose, du maltose et surtout d' α -dextrines (Ait Kaki et *al.*, **2012**). Elle est présente dans la salive produite par les glandes salivaires et dans le suc pancréatique issu du pancréas (Balan et *al.*, **2017**).

En se liant de manière compétitive aux enzymes digestifs (α -amylase pancréatiques et α -glucosidase intestinales), les inhibiteurs tels que l'Acarbose et les composés phénoliques s'opposent à la dégradation de l'amidon et des disaccharides en monosaccharides assimilables, ralentissant l'absorption intestinale de ces derniers.

Toutefois, les inhibiteurs d' α -glucosidase commercialisés (Acarbose et Miglitol) possèdent certains effets secondaires gastro-intestinaux (flatulence, douleur abdominale et diarrhée) due à la fermentation des sucres non absorbés (Ducobu, **2003**; Bellesia et *al.*, **2015**).

Les composés phénoliques jouent un rôle très important dans le traitement du diabète sucré par inhibition des enzymes intestinales (α -amylase et α -glucosidase) et donc la régulation glucidique (Papoutsis et *al.*, **2021**). L'utilisation des flavonoïdes en tant que molécules antioxydantes et hypoglycémiantes par des patients diabétiques souffrant de la surproduction des espèces réactives d'oxygènes présentent un bénéfice très important par rapport à l'utilisation des médicaments seuls (Ksouri et *al.*, **2013**).

L'Algérie est un pays très riche en ressource naturelle, grâce à sa situation géographique du nord d'Afrique, son climat méditerranéen, ses montagnes d'Atlas en milieu et son désert du Sahara au sud. Elle possède une flore très diversifiée présentant un trésor mal exploité qui nécessite des études très profond pour être identifier (Ouelbani et *al.*, **2016**; Hamza et *al.*, **2019**; Miara et *al.*, **2019**).

Plusieurs enquêtes ethnobotaniques et ethnopharmacologiques ont été menées dans des régions multiples pour recenser les plantes médicinales utilisées dans le traitement des différentes maladies y compris le diabète sucré (Azzi et *al.*, **2012**; Boudjelal et *al.*, **2013**; Sarri et *al.*, **2014**; Benarba et *al.*, **2015**; Ouelbani et *al.*, **2016**, Telli et *al.*, **2016**; Chukwuma et *al.*, **2019**; Hamza et *al.*, **2019**; Miara et *al.*, **2019**). Ces enquêtes ont permis le recensement de plus de 67 plantes médicinales utilisées dans le traitement de diabète, parmi elles, on trouve *Globularia alypum* et *Zygophyllum album*.

Globularia alypum L. ou «Turbith», localement appelée «Tasselgha», «Ain Larneb», «Zeriga» et «Chebra» est une plante qui appartient à la famille des *Globulariacées* (regroupée, récemment, à la famille des *Plantaginacées*) (Boussoualim et al., 2016; Miara et al., 2019). Son nom *Globularia* indique la forme globuleuse de son inflorescence et *alypum* provient du mot grec «alypon» qui signifie «calmer les douleurs». C'est une plante spontanée de 0,4 à 1m de hauteur. Elle est généralement distribuée sur le bassin méditerranéen, en Europe, Maroc, Tunisie et en Algérie dans les régions subhumides comme Constantine, Mila, Tlemcen, Bordj Bou Arreridj, M'sila, Tiaret et Batna...etc. (Hamza et al., 2019).

Globularia alypum est citée comme une plante antidiabétique dans différentes enquêtes ethnobotaniques menées dans les régions de Tiatert (Miara et al., 2013), M'sila (Boudjelal et al., 2013) la région nord-est algérien (Bouasla et Bouasla, 2017; Hamza et al., 2019), nord ouest algérien (Azzi et al., 2012). Elle est aussi classée parmi les plantes les plus utilisées au Maroc dans le traitement du diabète sucré (Jouad et al., 2002).

Les parties aériennes (fleurs, tiges et feuilles) de cette plante, préparées par décoction, infusion ou cataplasme, sont généralement les plus utilisées par les diabétiques (Hamza et al., 2019).

En plus du diabète, cette plante est utilisée pour traiter les maladies cardiovasculaires, les infections rénales, l'estomac, les troubles digestifs, le côlon, le foie, l'œsophage, la fièvre, l'eczéma et de quelques lésions cancéreuses (Djeridane et al., 2006; Taleb-Dida et al., 2011). Elle peut avoir des propriétés antioxydants, antiseptiques, antifongiques, laxatif et hypoglycémique...etc. (Ouelbani et al., 2016). Elle peut exercer un effet anti-inflammatoire et anti-ulcère. Comme elle peut contribuer à l'homéostasie calcique via sa richesse en composés bioactifs (Haji et al., 2018).

Selon l'étude de Jouad et al., 2002, l'extrait aqueux des feuilles de *Globularia alypum* a montré un effet hypoglycémiant chez des rats rendus diabétiques par la Streptozotocine. Une autre étude décrite par Ghilissi et al., 2016, a montré que l'extrait méthanolique de cette plante présente un pouvoir antioxydant, antimicrobien, anti-infectieux et anti-cicatrisant, justifiant son utilisation contre les blessures et les infections.

Zygophyllum album, communément appelée: «Aggaya», «Bougriba» ou «Agga», est une plante médicinale halophyte de la famille des zygophyllacées. Elle se trouve dans la région méditerranéenne et largement répandue dans les régions arides comme Tassili N'ajjer, Hoggar

(Tamanrasset) et Biskra...etc (Bouzabata, **2013**; Telli et *al.*, **2016**; Petropoulos et *al.*, **2018**; Hamza et *al.*, **2019**). C'est un arbuste nain succulent comestible bien adapté à la salinité.

En médecine traditionnelle, elle est utilisée contre plusieurs maladies y compris: le rhumatisme, l'asthme, le cancer pulmonaire, l'eczéma, les troubles gastriques et le diabète. Elle a une importance dans le domaine pharmaco-cosmétique et économique, car elle est utilisée pour laver les vêtements, les cheveux, et pour soigner les plaies et le traitement des caries dentaires (Ksouri et *al.*, **2013**; Chukwuma et *al.*, **2019**).

Elle est généralement étudiée sous forme d'huile essentielle présentant une activité antimicrobienne (Kchaou et *al.*, **2016**). Elle présente aussi des propriétés antidiabétiques où elle retarde l'absorption et la digestion glucidique et lipidique, et des effets antioxydants, anti-inflammatoire et anti-acétylcholinestérase (Mnafgui et *al.*, **2014** et Ksouri et *al.*, **2013**).

Il a été démontré que l'extrait éthanolique de *Zygophyllum album* présente des effets antihyperglycémique après son administration chez des rats rendus diabétiques. De plus, l'huile essentielle de cette plante a montré des effets inhibiteurs des enzymes digestifs tels que l' α -amylase et l' α -glucosidase (El Ghoul et Ben Attia, **2014**; Mnafgui et *al.*, **2016**).

Matériel

et

Méthodes

Ce travail a été réalisé au laboratoire de recherche LAP-SAB « Antibiotiques, Antifongiques, Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique », Faculté des sciences de la nature et de la vie, des sciences de la terre et de l'univers (SNV-STU), Université Abou Bekr Belkaïd (Tlemcen)

1. Matériel végétal

Les parties aériennes de *Globularia alypum* (Fig. 09) et *Zygophyllum album* (Fig. 10) ont été récoltées durant le mois de janvier 2016 dans les communes d'Arif (Batna) et d'Elhajeb (Biskra), respectivement.

Les plantes ont été identifiées par Pr MEDJAHDI Boumediene, botaniste au niveau du département des ressources forestières, Faculté SNV-STU, Université de Tlemcen.

Les spécimens LAPSAB-58 pour *Globularia alypum* et LAPSAB-72 pour *Zygophyllum album* ont été déposés dans l'herbier du laboratoire LAP-SAB, Université de Tlemcen.



Figure 09: La partie aérienne *Globularia alypum* après récolte (photo personnelle)



Figure 10: La partie aérienne de *Zygophyllum album* après récolte (photo personnelle)

1.1 Préparations des extraits bruts aqueux et leurs fractions

Les parties aériennes (feuilles, fleurs et tiges) de chaque plante (*Globularia alypum* et *Zygophyllum album*) ont été lavées, découpées et laissées sécher à une température ambiante et à l'abri de la lumière. Ensuite, elles ont été broyées en poudre fine.

Les extraits bruts aqueux des deux plantes séchées et broyées ont été préparés dans l'eau distillée (50g de poudre dans 500ml de solution) par infusion (I), à l'ébullition d'eau distillée, la poudre végétale est ajoutée, après refroidissement la solution est filtrée. Par décoction (D) sous reflux, la poudre végétal et l'eau distillée sont met en contact pendant 1h et 30min sous agitation à chaud. Par macération (M), la poudre végétale et l'eau distillée sont en contacte sous agitation pendant 24h, à une température ambiante et à l'abri de la lumière.

Les extraits bruts aqueux, préparés par décoction, infusion ou macération, des parties aériennes de *Globularia alypum* ou *Zygophyllum* sont respectivement: EG-D, EG-I et EG-M pour les extraits bruts de *Globularia alypum* et EZ-D, EZ-I et EZ-M pour les extraits bruts de *Zygophyllum album*.

Une extraction liquide-liquide à l'aide d'une ampoule à décanter de l'extrait brute aqueux avec l'éther de pétrol a été effectuée à fin d'éliminer les graisses (dégraissage). Les fractions de chaque extrait ont été préparées par une extraction liquide-liquide, à l'aide d'une ampoule à décanter, des extraits bruts obtenus par macération ou décoction, en présence des solvants à polarité différentes (croissantes): éther diéthylique, l'acétate d'éthyle et le n-butanol, respectivement (Fig. 11) (Markham 1982; Bruneton, 1993).

Les factions récupérées sont:

- Pour les fractions d'extraits bruts de *G. alypum* préparées par décoction : Fraction éther diéthylique (FG-D-ED), fraction acétate d'éthyle (FG-D-AE), Fraction n-butanol (FG-D-nB) et phase résiduelle aqueuse (PRG-D);
- Pour les fractions d'extraits bruts de *Z. album* préparées par macération: Fraction éther diéthylique diéthylique (FZ-M-ED), fraction acétate d'éthyle (FZ-M-AE), Fraction n-butanol (FZ-M-nB) et phase résiduelle aqueuse (PRZ-M).

Les extraits bruts obtenus et les phases résiduelles ont été séchés à sec dans une étuve à 35°C. Tandis que, les solvants des différentes fractions obtenues ont été évaporés à sec à l'aide d'un Rotavapor sous pression réduite (40 à 60°C).

Les extraits et les fractions ainsi récupérés ont été conservés dans des tubes secs à 4°C et à l'abri de la lumière.

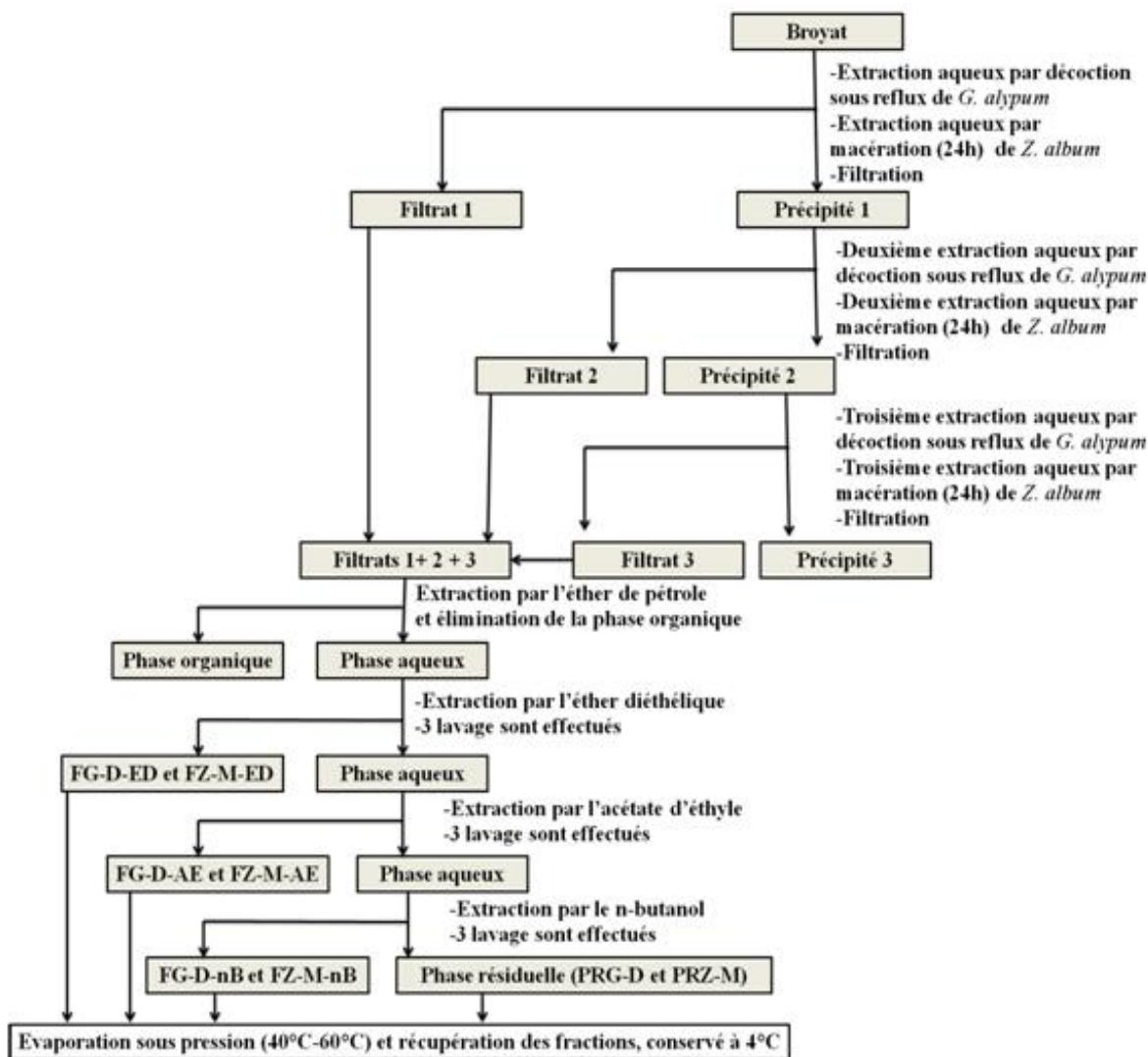


Figure 11 : fractionnement d'extrait brut de la partie aérienne de *G. alypum* préparé par décoction et de l'extrait brut de la partie aérienne de *Z. album* préparé par macération

1.2 Calculs des Rendements (R%)

Le rendement d'extraction de chaque extrait et fraction a été calculé selon la formule suivant: $R(\%) = (M/M_0) \times 100$

R (%): rendement en pourcentage.

M: masse en gramme de résidu sec après évaporation du solvant.

M₀: masse en gramme de matière végétal initial.

2. Analyse phytochimiques

2.1 Screening phytochimique

Les extraits bruts aqueux ont été soumis à des tests phytochimiques qualitatifs afin de mettre en évidence les différentes familles des métabolites secondaires présentes dans la partie aérienne des deux plantes étudiées. Ils ont subi un ensemble de réaction chimique de coloration, précipitation, de mousse ou bien de fluorescence. Ces tests ont été réalisés selon les méthodes décrites par Harborne, 1998 et Bruneton, 1999.

Les résultats ont été évalués comme suit: +++: Fortement positif; ++: Moyennement positif; +: Faiblement positif; -: absence.

2.1.1 Composés phénoliques

• Tanins

Ajouter 0,25 ml de la solution aqueuse FeCl₃ (1%) à 1 ml d'extrait et incuber le mélange 15 min à une température ambiante. L'apparition d'une coloration verdâtre ou bleu-noirâtre révèle la présence des tanins.

• Flavonoïdes

Ajouter à 1 ml d'extrait, 1ml de HCl concentré et quelques copeaux de magnésium. L'apparition d'une couleur jaune, orange ou rose indique la présence des flavonoïdes.

• Coumarines

Mettre 1ml de l'extrait à analyser dans deux tubes, le premier est considéré comme témoin, ajouter 0,1 ml de NH₄OH (10%) au deuxième. Mettre deux taches sur un papier filtre et examiner sous la lumière UV à 366 nm. Une fluorescence intense indique la présence des coumarines.

- **Quinones libres**

Ajouter à 1 ml d'extrait, 0,1 ml d'hydroxyde de sodium NaOH (1%). L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones libres.

- **Anthraquinones**

Ajouter 1 ml de NH₄OH (10%) à 1 ml d'extrait puis agiter. L'apparition d'une coloration violette révèle la présence des anthraquinones.

2.1.2 Composés terpéniques

- **Saponines: test de mousse**

Dans un tube à essai, introduire 10ml de l'extrait à analyser, agiter pendant 15 secondes et laisser le mélange au repos pendant 15min. Une hauteur persistante supérieure à 1cm de mousse indique la présence de saponines.

- **Terpénoïdes**

Test de Slakowski: Ajouter 0,4ml de chloroforme et 0,6ml d'acide sulfurique concentré à 1ml d'extrait à analyser. La formation de deux phases et une couleur marron à l'interphase indique la présence des terpénoïdes.

2.1.3 Composés azotés

- **Alcaloïdes**

Dans deux tubes à essai, introduire 0,5ml de l'extrait à analyser. Acidifier le milieu par quelques gouttes d'HCl (1%) et ajouter 0,5ml de réactif de Mayer dans le premier tube et 0,5ml de réactif de Wagner dans le second tube. L'apparition d'un précipité blanc ou brun respectivement, révèle la présence d'alcaloïdes.

2.1.4 Composés réducteurs

A 1ml d'extrait, ajouter 2ml de solution de Fehling (A et B). Incuber les tubes au bain marie pendant 8min, l'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs.

2.2 Dosage des composés phénoliques

2.2.1 Dosage des polyphénols totaux

➤ Principe

Les teneurs en polyphénols totaux des différents extraits bruts aqueux et leurs fractions, éther diéthylique, acétate d'éthyle, n-butanol et phase résiduelle, de la partie aérienne de *G. alypum* et de *Z. album* ont été déterminées selon la méthode de Folin-Ciocalteu décrite par Li et al., 2007.

Cette méthode est basée sur la réduction en milieu alcalin de la mixture d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique du réactif de Folin-Ciocalteu de couleur jaune par les groupements oxydables des composés phénoliques, conduisant à la formation de produits de réduction de couleur bleu. Ces derniers présentent un maximum d'absorption à 765 nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon.

➤ Mode opératoire

1ml de réactif de Folin-Ciocalteu (1/10) est ajouté à 200µl d'extrait/fraction (1mg/ml). Après 4 min, 800µl d'une solution de carbonate de sodium (75mg/ml) sont additionnés au milieu réactionnel. Après incubation de 2h à une température ambiante, l'absorbance est mesurée à 765nm.

Dans les mêmes conditions opératoires, une courbe d'étalonnage a été réalisée en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif à différentes concentrations de (10–100µg/ml).

➤ Expression des résultats

La teneur en polyphénols totaux est déterminée à partir de l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage d'acide gallique ($y = 0,0113x$, $R^2 = 0,9994$) (Fig. 12).

Les résultats sont exprimés en microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG/mg d'extrait).

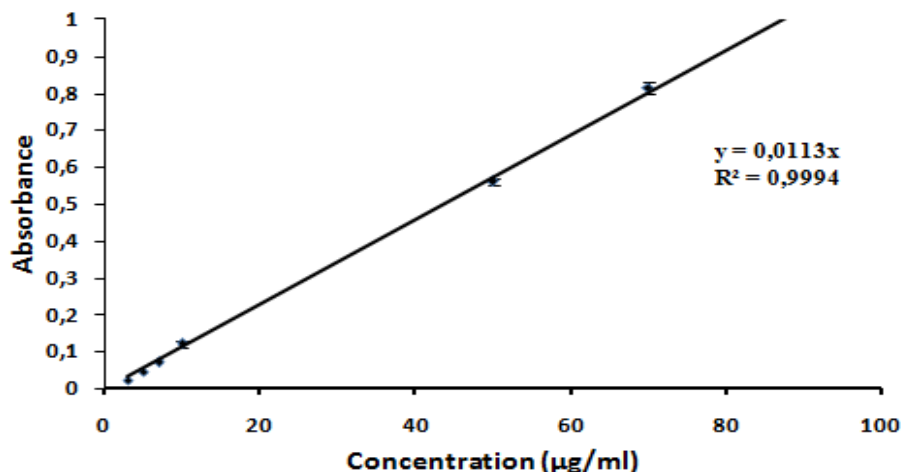


Figure 12: Courbe d'étalonnage d'acide gallique utilisée pour le dosage des polyphénols totaux

2.2.2 Dosage des flavonoïdes

➤ Principe

Les teneurs en flavonoïdes des différents extraits bruts aqueux et leurs fractions préparées à partir de la partie aérienne de *G. alypum* et de *Z. album* ont été déterminées selon la méthode décrite par Ardestani et Yazdanparast, 2007.

Le principe de cette méthode repose sur l'oxydation des flavonoïdes en milieu alcalin par le nitrite de sodium (NaNO_2) et le chlorure d'aluminium (AlCl_3) en composant un complexe de couleur rose absorbant à 510 nm.

➤ Mode opératoire

250 µl d'extrait/ fraction (1mg/ml) sont ajoutés à 1ml d' H_2O et 75 µl de NaNO_2 (15%). Après 6 min d'incubation, 75 µl de chlorure d'aluminium AlCl_3 (10%) sont ajoutés. Après une deuxième incubation de 6min, 1ml d'hydroxyde de sodium NaOH (4%) est ajouté. L'ensemble est complété à 2,5ml par l'eau distillée. Après agitation et incubation pendant 15min, l'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde de 510nm.

Dans les mêmes conditions opératoires, une courbe d'étalonnage a été réalisée en utilisant la catéchine comme contrôle positif à différentes concentrations de (10–400 µg/ml).

➤ Expression des résultats

La teneur en flavonoïdes est déterminée à partir de l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage de la catéchine ($y=0,0028x$, R^2 0,9977) (Fig. 13).

Les résultats sont exprimés en microgramme équivalent de la catéchine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EC/mg d'extrait}$).

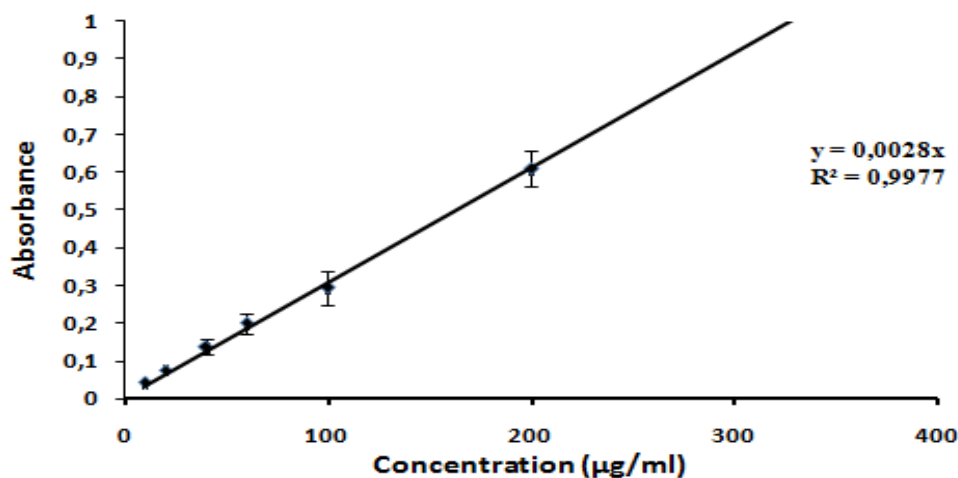


Figure 13: Courbe d'étalonnage de Catéchine utilisée pour le dosage des flavonoïdes

2.2.3 Dosage des Tanins

➤ Principe

Les tanins condensés sont déterminés par la méthode de Price et *al.*, 1978 en présence de vanilline en milieu acide. Cette méthode est basée sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tanins condensés en présence d'acide pour produire un complexe de couleur rouge mesurable à 550nm.

➤ Mode opératoire

1,5 ml de la solution vanilline/méthanol (4%) et 750 μl d'HCl concentré sont ajoutés à 50 μl d'extrait ou fraction (1mg/ml). La lecture est effectuée à 550nm.

Dans les mêmes conditions opératoires, une courbe d'étalonnage a été réalisée en utilisant la catéchine comme contrôle positif à différentes concentrations de (10–600 $\mu\text{g/ml}$)

➤ Expression des résultats

La teneur en tannins condensés est déterminée à partir de l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage de la catéchine ($y=0,0002x$, R^2 0,986) (Fig. 14).

Les résultats sont exprimés en microgramme équivalent de catéchine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EC/mg d'extrait}$)

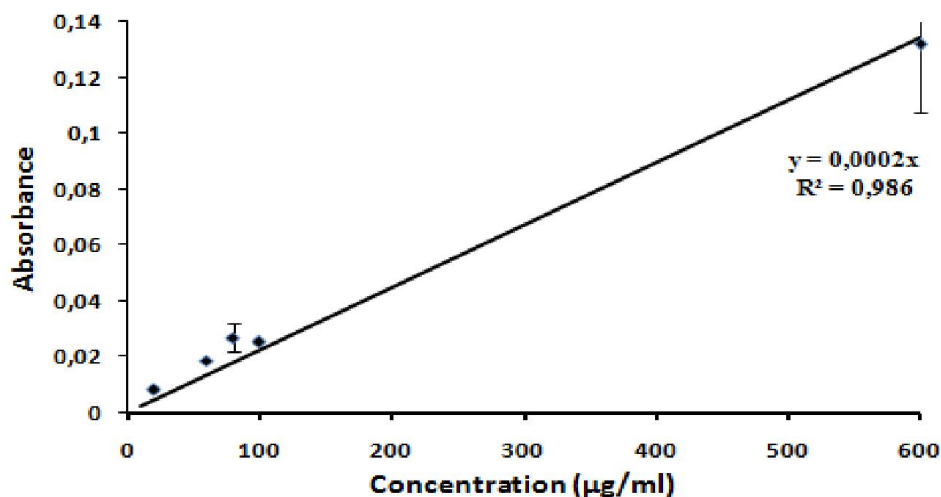


Figure 14: Courbe d'étalonnage de Catéchine pour le dosage des tanins condensés

2.3 Séparation et identification des composés phénoliques par une analyse HPLC (RP-HPLC-PDA)

➤ Principe

L'analyse d'HPLC a été effectuée pour les fractions de FG-D-ED, FG-D-AE, FZ-M-ED et FZ-M-AE. Une analyse RP-HPLC-PDA (*Reversed Phase-High Performance Liquid Chromatography-Photo Diode Array*). Elle a été réalisée dans le but d'identifier les composés phénoliques des échantillons testés (El Haci et *al.*, 2019), utilisant un système de **Perkin Elmar Flexar** équipé d'une pompe binaire et une colonne Eclipse ODS Hypersil RP-C18 (150mm*4.6µm).

➤ Mode opératoire

L'analyse a été réalisée par Dr **EL HACI Imad Abdelhamid**, maitres de recherche classe A au centre de recherche scientifique et technique en analyse physico-chimique C.R.A.P.C.

Le système de distribution est constitué d'une phase mobile d'acide acétique (2%) (A) et d'acétonitrile (B).

Le système d'éluion en gradient est: 5 min avec 10% de B; 25 min avec 90% de B et 15 min de gradient linéaire de 90 à 100% de même solvant (B). Ensuite, 20 min suffit pour l'équilibrage. 1 ml/min est le débit de l'éluion.

➤ Expression des résultats

Les résultats sont obtenus sous forme de chromatogrammes lus à 280nm, et l'identification des composés et des pics a été effectué en fonction de leurs temps de retention, des spectres UV-Vis en les comparants aux normes choisies comme standard.

3. Analyses biologiques

Les extraits et les fractions de la partie aérienne de *G. alypum* et *Z. album* ont été utilisés pour évaluer leur capacité antioxydante, anti hémolytique et antidiabétique.

3.1 Recherche d'activité antioxydante

Les extraits bruts aqueux et leurs fractions préparées des deux plantes sont utilisés pour rechercher leurs pouvoirs antioxydant, utilisant deux méthodes: le piégeage du radical DPPH et le pouvoir réducteur du fer (FRAP)

3.1.1 Piégeage du radical DPPH

➤ Principe

L'activité antiradicalaire des différents extraits/fractions a été déterminée en utilisant le DPPH (1,1-diphényl-2-picryl-hydrazyl), selon le protocole décrit par Boumerfeg et *al.*, **2009**. Les antioxydants réduisent le diphénylpicryl-hydrazyl ayant une couleur violette en diphénylpicryl-hydrazine avec une couleur jaune, dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants (donneurs de protons) présents dans le milieu.

➤ Mode opératoire

50 µl des solutions d'extraits ou fractions, à différentes concentrations, ont été ajoutés à 1250 µl DPPH (une concentration de 0,00 25 % fraîchement préparé dans le méthanol). Le mélange est laissé incuber pendant 30 min à l'obscurité.

Un contrôle négatif est préparé en mélangeant 50 µl du méthanol avec 1250 µl de la solution méthanolique de DPPH.

Les différentes concentrations (0-500 µg/ml) d'acide ascorbique (AA) sont utilisées comme contrôle positif (standard), dans les mêmes conditions opératoires.

La lecture des absorbances est effectuée à 517nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions, pour chaque concentration d'extrait/ fractions ou standard.

➤ Expression des résultats

Pour chaque concentration d'échantillon, le pourcentage d'inhibition a été calculé en utilisant la formule suivante :

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

La valeur de CI_{50} est définie comme étant la concentration de l'extrait qui provoque l'inhibition de 50% du radical libre DPPH. Elle est déterminée graphiquement à partir des courbes de régressions logarithmiques des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations des extraits étudiés. La concentration inhibitrice de 50% de l'activité du DPPH (CI_{50}) est exprimée en $\mu\text{g/ml}$.

3.1.2 Pouvoir réducteur du fer (Ferric Reducing Antioxidant Power: FRAP)

➤ Principe

Le pouvoir réducteur d'une molécule est relatif à sa capacité de transfert des électrons et peut servir comme indicateur significatif de son activité antioxydante. C'est le cas du test de FRAP (*Ferric reducing antioxidant power*).

L'activité réductrice d'un extrait a été évaluée par la réaction d'oxydo-réduction entre l'extrait et les ions métalliques qui sont fournis par le ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$. Ce dernier assure les ions ferriques (Fe^{+3}) qui seront réduits en ions ferreux (Fe^{+2}). Ces ions vont réagir avec $FeCl_3$ donnant une couleur vert/bleu selon la capacité de réduction des extraits, mesurable à 700nm. Ce test a été déterminé selon la méthode d'Oyaizu **1986**.

➤ Mode opératoire

200 μl d'extrait/fraction ou standard sont ajoutés à 500 μl de tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et 500 μl de ferricyanure de potassium (1%). Après une incubation de 20 min à 50°C, 500 μl de Trichloroacétate (10%) sont ajoutés. Les tubes sont ensuite centrifugés (10 min, 2100 rpm). 500 μl de surnageant sont ajoutés à 500 μl d'eau distillée et 100 μl de $FeCl_3$ (0,1%). L'absorbance du milieu réactionnel est mesurée à 700nm contre un blanc.

L'acide ascorbique (0 à 500 $\mu\text{g/ml}$), a été utilisé comme contrôle positif (standard), dans les mêmes conditions opératoires.

➤ Expression des résultats

Les résultats obtenus sous forme de courbe de régression linéaire permettent de calculer CE_{50} qui correspond à une absorbance égale à 0,5.

CE₅₀ est la concentration efficace de l'extrait/ fraction ou standard qui donne une réponse demi-maximale.

La concentration efficace de 50% de la réduction ferrique (CI₅₀) est exprimée en mg/ml.

3.2 Recherche d'activité anti-hémolytique

La recherche d'effet anti-hémolytique des extraits bruts aqueux et leurs fractions préparées des parties aériennes de *G. alypum* et *Z. album* a été réalisée *in vitro* sur une suspension érythrocytaire du sang humain, incubée dans un tampon phosphate saline (PBS) à pH 7,4; en présence d'un attaque radicalaire d'AAPH (2,2'-azobis(2-aminodipropane) dihydrochloride).

➤ Principe

L'AAPH (2,2'-azobis(2-aminodipropane) dihydrochloride) est un composé azoïque dont sa structure est C₈H₂₀Cl₂N₆. Il a une grande importance en tant qu'un modèle oxydant des micros ou des macromolécules. Il est utilisé dans le domaine thérapeutique pour sa capacité à initier des réactions d'oxydation via des mécanismes à la fois nucléophiles et générateurs des radicaux libres (Werber et al., 2011).

Les globules rouges (GRs), en présence des extraits, vont subir une hémolyse oxydative induite par ce radical.

L'action protectrice (antihémolytique) des différents extraits/fractions a été étudiée selon le protocole décrit par Niki et al., 1988 et Takebayashi et al., 2010.

➤ Préparation

• Solution PBS (pH 7,4)

Une solution de NaH₂PO₄ (1,9mM) est mélangée avec une solution de Na₂HPO₄ (8,1mM), pour obtenir un pH de 7,4. Ensuite, une solution du NaCl (150mM) est ajoutée au mélange, afin d'obtenir une concentration finale du tampon phosphate saline (PBS) égale à 300mOsm.

• La suspension érythrocytaire

L'échantillon du sang prélevé à partir d'un donneur sain est recueilli dans un tube hépariné, puis centrifugé à 3000rpm pendant 5min.

Le culot récupéré après élimination de surnageant est lavé 3 fois par le tampon phosphate saline PBS (300mOsm, pH 7.4)

Les érythrocytes ainsi obtenus sont dilués pour obtenir un hématocrite de 1%.

- **Préparation des extraits**

Les différents extraits ou fractions sont préparés dans du PBS pour obtenir des concentrations finales de 10, 20, 40, 80 et 160 μ g/ml.

L'acide ascorbique (AA) est utilisé comme control positif avec des concentrations de 10, 20, 40, 80 et 160 μ g/ml.

Préparation de l'AAPH

La solution d'AAPH est préparée dans le tampon PBS pour obtenir une concentration de 50mM.

➤ **Mode opératoire**

Dans une microplaque, l'attaque radicalaire est induite par l'addition de 200 μ l du radical AAPH (50mM) à 20 μ L de la suspension érythrocytaire préalablement incubée (10min) avec 20 μ l de chaque concentration d'extrait/ fraction.

La cinétique de disparition des globules rouges a été suivie pendant 5h. Une lecture d'absorbance a été réalisée à 620nm, chaque 15min, sur un lecteur de microplaque.

➤ **Expression des résultats**

La résistance d'érythrocytes à l'attaque radicalaire a été exprimée en absence et en présence des extraits/standards par le temps nécessaire à la lyse de 50 % des érythrocytes (Half-Hemolysis time; HT₅₀). Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne HT₅₀ \pm SD (n= 3).

3.3 Recherche d'activité antidiabétique

3.3.1 Recherche d'effet inhibiteur vis-à-vis l'enzyme l' α -amylase

➤ **Préparation des solutions**

L'origine de l' α -amylase utilisée dans notre étude est le pancréas du porc (E.C.3.2.1.1). Elle se présente sous forme lyophilisée (13000 Da et une activité spécifique de 13UI/ml). L'optimum de l'activité catalytique est mesuré à pH 6,9 pour une température de 37°C. Elle est conservée à +4°C.

L' α -amylase est fraîchement préparée avec une concentration de (1U/ml) dans une solution tampon (0,02M, pH 6,9)

Le substrat utilisé est l'amidon soluble de pomme de terre. 1g d'amidon soluble a été dissout dans 100ml de solution tampon phosphate (0,02M, pH 6,9). L'ensemble a été chauffé à une température de 50-70°C, sous agitation.

Une solution chromogène a été préparée en utilisant le 3,5-dinitrosalicylique (DNSA), le NaOH (2N) et le tartrate double de sodium et de potassium suivant le protocole décrit par Sigma Aldrich :

1g de DNSA est dispersé dans 40ml d'eau distillée. La solution obtenue est de couleur jaune opaque.

En parallèle, une solution de NaOH (2N) et 30g de tartrate double de sodium et de potassium est dissous dans 20ml d'eau distillée, sous agitation.

Une fois les deux solutions sont mélangées, le réactif devient limpide avec une couleur orange.

Le volume final est ajusté à 100ml avec de l'eau distillée. Le réactif obtenu est conservé à l'abri de la lumière et à +4°C.

Une gamme de concentration croissante des extraits/ fractions (0,05 à 2mg/ml) est préparée dans de solution tampon phosphate (0,02M, pH 6,9).

Une solution d'Acarbose (Glucobay 50g), utilisée comme standard à différentes concentrations de 0,00125 à 1mg/ml, est préparée dans la solution tampon phosphate (0,02M, pH 6,9).

➤ **Principe**

Cette méthode consiste à évaluer l'effet inhibiteur des extraits bruts aqueux des deux plantes étudiées et leurs fractions sur l'activité de l' α -amylase pancréatique. En milieu alcalin et à chaud, l'oxydation des groupements aldéhydes et cétones libres des sucres provoque simultanément la réduction de l'acide 3,5-dinitrosalicylique (DNSA) de couleur jaune orange en acide 3-amino 5-nitrosalicylique de couleur rouge orange qui absorbe à 540nm. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de sucres réducteurs présents dans le milieu réactionnel (Heidari et *al.*, 2005; Thalapaneni et *al.*, 2008).

➤ **Mode opératoire**

Le protocole utilisé est celui décrit par Thalapaneni et *al.*, 2008 et Heidari et *al.*, 2005, 200µl de chaque concentration des extraits et des fractions de *G. alypum*, *Z. album* a été placé

en contact avec l'enzyme (1U/ml). Après incubation pendant 10min à 37°C, 200µl de l'amidon soluble (1%) est ajouté. Après 15min d'incubation, la réaction est arrêtée par l'ajout de DNSA (3,5-dinitrosalicylique) et les tubes sont incubés au bain marie pendant 5min. Les absorbances sont mesurées à 540nm.

Dans les mêmes conditions, nous avons préparé un tube de control négatif qui ne contient que l'enzyme et le substrat, le blanc pour le control négatif (substrat et tampon au lieu de l'enzyme) et pour le blanc des extraits (substrat, tampon et les différentes concentrations de chaque extrait).

➤ Expression des résultats

Le pourcentage d'inhibition (I%) est calculé par l'équation suivante :

$$I\% = (A \text{ contrôle négatif} - A \text{ échantillon} / A \text{ contrôle négatif}) * 100$$

Les CI₅₀ (concentration inhibitrice de 50%) pour chaque extrait/ fractions sont calculées à partir des courbes de régressions logarithmiques des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations des extraits.

3.3.2 Recherche d'effet inhibiteur sur l'enzyme α-glucosidase

➤ Préparation des solutions

L'origine de l'α-glucosidase utilisée dans cette étude est une levure *Sccharomyces cerevisiae* (E.C.3.2.1.20). Elle se présente sous forme lyophilisée (une activité spécifique plus de 10UI/mg). A un pH 6,8 et une température de 37°C, l'enzyme peut libérer 1µmol de glucose par min. Il est fraîchement préparé avec une concentration de (0,01U/ml) dans une solution tampon (0,05M, pH 6,8).

Le substrat utilisé est le p-Nitrophenyl α-D-Glucoside avec une concentration de 0,01M.

Une gamme de concentration croissante des extraits/ fractions est préparée dans une solution tampon (0,5 à 15mg/ml pour les fractions de *Z. album* et 0,2 à 3mg/ml pour les fractions de *G. alypum*)

Une solution d'Acarbose (Glucobay 50g), utilisée comme standard à différentes concentrations de 0,01 à 0,5 mg/ml a été préparée dans la solution tampon.

Une solution de quercétine a été utilisée à différentes concentrations de 1 à 0,01mg/ml a été préparée dans la solution tampon.

➤ Principe

Ce test est basé sur l'inhibition de la réaction hydrolase effectuée par les extraits/fractions ou standard sur l'enzyme α -glucosidase. La réaction de libération des D-glucose et des P-nitrophénols (composés chromogènes) est inhibée, en présence de carbonate de sodium une couleur jaune apparaît qui absorbe à une longueur d'onde 405nm.

➤ Mode opératoire

Dans une microplaque de 96 puits, une gamme de concentrations de chaque extraits/fractions et standard a été testé selon le protocole de Pistia-Bruggeman et Hollingsworth, **2003** avec quelques modifications

20 μ l d'échantillon et 50 μ l de tampon phosphate (50mM, pH= 6.8) sont incubés avec 10 μ l l'enzyme (0,01U/ml) pendant 10min à 37 °C. En suite 20 μ l de 4-p-nitrophényl- α -D-glucoside (PNPG) 10mM sont ajoutés à la réaction. Après une deuxième incubation de 30min à 37°C, 100 μ l de NaCO₃ (2M) sont ajoutés à fin de stopper la réaction enzymatique. Une lecture d'absorbance à 405 nm est effectuée à l'aide d'un lecteur de microplaque.

➤ Expression des résultats

Les résultats sont exprimés sous formes de courbes de régressions logarithmiques des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations

Les concentrations inhibitrices des échantillons (CI₅₀) sont calculées à partir de cette formule:

$$I\% = (A \text{ contrôle négatif} - A \text{ échantillon} / A \text{ contrôle négatif}) * 100$$

4. Analyses statistiques

Les différents résultats sont exprimés en moyennes \pm écarts-types des trois mesures parallèles. Les valeurs des CI₅₀ et d'HT₅₀ ont été calculées par un logiciel «Graphpad Prism» version 5.0. Plus la valeur de CI₅₀ ou de CE₅₀ est petite, plus l'activité de l'extrait/fraction testé est grande.

L'analyse statistique des résultats obtenus est déterminée par ANOVA univariée suivie du test de Dunnett ou le test de Tukey's, les taux de signification des comparaisons effectués contre le standard ou les comparaisons multiples sont déterminées.

Les coefficients de corrélation entre les composés phénoliques et les méthodes utilisées comme celle de l'activité antioxydant ont été démontrés en utilisant EXCEL (2010).

Résultats

et

Interprétations

1. Rendement d'extraction des extraits préparés

L'extraction aqueuse des parties aériennes (tiges, feuilles et fleurs) du *Globularia alypum* ou *Zygophyllum album*, par décoction, infusion et macération, suivie d'un fractionnement liquide-liquide de l'extrait brut aqueux préparé par décoction (EG-D) et de l'extrait brut aqueux préparé par macération (EZ-M), par des solvants à polarité différente, nous a permis de récupérer des extraits et des fractions de différentes couleurs, aspects et rendements (Tableau 03 et 04).

Tableau 03: Rendement d'extraction des différents extraits et fractions préparés de la partie aérienne du *Globularia alypum*

Extraits/ fractions	Préparation	Rendement (Par poids total) %
EG-D	Décoction	18,4
EG-I	Infusion	19,6
EG-M	Macération	16,2
FG-D-ED	Décoction	0,2
FG-D-AE	Décoction	1,2
FG-D-nB	Décoction	2
PRG-D	Décoction	1,6

EG-D extrait brut préparé par décoction, **EG-I** extrait brut préparé par infusion **EG-M** extrait brut préparé par macération; Fractions d'extraits bruts de *G. alypum* préparées par décoction (**EG-D**): Fraction éther diéthylique (**FG-D-ED**), fraction acétate d'éthyle (**FG-D-AE**), Fraction n-butanol (**FG-D-nB**) et phase résiduelle aqueuse (**PRG-D**).

D'après les résultats obtenus dans le tableau ci-dessus, nous avons noté que l'extrait brut de la partie aérienne de *G. alypum* préparé par macération (16,2%), a présenté le rendement le plus faible à celui obtenu par les deux autres extraits bruts (EG-D et EG-I). L'extrait préparé par infusion de *G. alypum* a présenté le rendement la plus élevée d'ordre de 19,6%, suivi par l'extrait préparé par décoction (18,4%). La quantité des biomolécules obtenus dans la fraction de FG-D-nB est plus élevée par rapport aux autres fractions. Celui-ci est confirmé par le calcul de rendement obtenu par rapport à la poudre végétale (2%). Le rendement calculé de la fraction d'éther diéthylique (FG-D-ED) est le plus faible par rapport aux autres fractions (0,2%).

Tableau 04: Rendement d'extraction des différents extraits et fractions préparés de la partie aérienne du *Zygodphyllum album*

Extraits/ fractions	Préparation	Rendement (par poids total)%
EZ-D	Décoction	13,6
EZ-I	Infusion	13,6
EZ-M	Macération	12,8
FZ-M-ED	Macération	0,51
FZ-M-AE	Macération	5,2
FZ-M-nB	Macération	2,1
PRZ-M	Macération	9,87

EZ-D extrait brut préparé par décoction, **EZ-I** extrait brut préparé par infusion **EZ-M** extrait brut préparé par macération; Fractions d'extraits bruts de *Z. album* préparées par décoction (**EZ-D**): Fraction éther diéthylique (FZ-M-ED), fraction acétate d'éthyle (FZ-M-AE), Fraction n-butanol (FZ-M-nB) et phase résiduelle aqueuse (PRZ-M).

Le calcul des rendements des extraits bruts de *Z. album* préparés par décoction, infusion ou macération par rapport à la poudre végétale ne présentent pas des pourcentages différents. Un rendement de 13,6% est obtenu par les deux extraits bruts d'EZ-D et EZ-I. Le mode d'extraction n'a pas un grand effet sur la quantité des biomolécules obtenu entre l'extraction par décoction ou infusion. Le calcul des rendements des fractions de *Z. album* a montré que la phase résiduelle aqueuse (PRZ-M) présente le pourcentage élevé par rapport à la poudre végétale (9,87%), suivi par FZ-M-AE (5,2%), FZ-M-nB (2,1%) et FZ-M-ED (0,51%).

2. Analyses Phytochimiques

2.1 Screening phytochimique

Le profil phytochimique des deux plantes étudiées a été établi par des tests phytochimiques réalisés sur les extraits bruts aqueux des deux plantes. Les résultats obtenus sont résumés dans les tableaux **05** et **06**.

Tableau 05: Screening phytochimique des extraits bruts de la partie aérienne de *Globularia alypum*.

	(EG-D)	(EG-I)	(EG-M)
Tanins	++	+	+
Flavonoïdes	+++	+++	++
Coumarines	-	-	-
Quinones libres	++	+	+
Anthraquinones	-	-	-
Terpénoïdes (Test de Slakowski)	++	++	+
Saponines	+ 1,2cm	+ 2cm	-
Alcaloïdes (Réactif de Mayer)	-	-	-
(Réactif de Wagner)	-	-	-
Composés réducteurs	++	++	+++

+++ : Fortement positif ; ++ : Moyennement positif ; + : Faiblement positif ; - : absence

EG-D extrait brut préparé par décoction, EG-I extrait brut préparé par infusion EG-M extrait brut préparé par macération

Tableau 06: Screening phytochimique des extraits bruts de la partie aérienne de *Zygophyllum album*.

	EZ-D	EZ-I	EZ-M
Tanins	-	-	-
Flavonoïdes	-	+	+
Coumarines	+	++	+
Quinones libres	+	+	-
Anthraquinones	-	-	-
Terpénoïdes (Test de Slakowski)	+	+	+
Saponines	+++ 9,5cm	+++ 7,5cm	-
Alcaloïdes (Réactif de Mayer)	-	-	-
(Réactif de Wagner)	-	-	-
Composés réducteurs	++	++	+

+++ : Fortement positif ; ++ : Moyennement positif ; + : Faiblement positif ; - : absence

EZ-D extrait brut préparé par décoction, EZ-I extrait brut préparé par infusion EZ-M extrait brut préparé par macération

Les résultats des tests phytochimiques obtenus ont révélé la richesse des deux plantes en métabolites secondaires. Nous avons enregistré que les flavonoïdes, les tanins, les quinones libres, les terpénoïdes, les saponines et les composés réducteurs sont présents dans les différents extraits préparés des deux plantes étudiées. Les coumarines sont détectées seulement dans les extraits bruts de *Z. album* (extraits obtenus par décoction ou infusion). Par contre, nous avons noté que les alcaloïdes et les Anthraquinones sont absents dans les différents extraits bruts préparés des deux plantes.

2.2 Dosage des composés phénoliques

Les dosages quantitatifs des composés phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés), dans les extraits bruts aqueux et leurs fractions, éther diéthylique, acétate d'éthyle et n-butanol, des deux plantes étudiées, ont été réalisés par méthodes colorimétriques.

Les teneurs sont déterminées à partir des équations de régression linéaire des courbes d'étalonnages d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux ($y= 0,0113x$, R^2 0,9994), de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes ($y=0,0028x$, R^2 0,9977) et de la catéchine pour le dosage des tanins condensés ($y=0,0002x$, R^2 0,986).

Les résultats obtenus sont exprimés en microgramme équivalent acide gallique par milligramme de l'extrait sec ($\mu\text{g EAG/mgE}$) pour le dosage de polyphénols totaux, et en microgramme équivalent catéchine par milligramme de l'extrait sec ($\mu\text{g EC/mgE}$) pour le dosage des flavonoïdes totaux et des tanins condensés. Les résultats sont regroupés dans le Tableau 07.

Tableau 07: Teneurs en composés phénoliques des différents extraits bruts aqueux et leurs fractions, préparés de la partie aérienne du *Globularia alypum* et *Zygophyllum album* (moyenne \pm SD, n=3).

Extraits/ fractions	Taux de polyphénols ($\mu\text{g EAG/mg d'extrait}$)	Taux de flavonoïdes ($\mu\text{g EC/mg d'extrait}$)	Taux de tanins condensés ($\mu\text{g EC/mg d'extrait}$)
EG-D	196,5 \pm 10,76	228,79 \pm 11,71	23,36 \pm 11,71
EG-I	195,50 \pm 2,90	223,82 \pm 9,12	2,15 \pm 0,77
EG-M	134,82 \pm 7,05	47,52 \pm 1,83	7,1 \pm 3,11
FG-D-ED	331,88 \pm 17,80	223,46 \pm 2,37	Nd
FG-D-AE	103,62 \pm 1,09	139,58 \pm 4,08	Nd
FG-D-nB	127,70 \pm 0,82	173,5 \pm 4,71	Nd
PRG-D	47,08 \pm 1,06	35,88 \pm 4,38	Nd
EZ-D	22,88 \pm 6,76	5,11 \pm 1,98	11,15 \pm 5,44
EZ-I	28,47 \pm 1,45	9,56 \pm 3,10	4,45 \pm 5,02
EZ-M	30,41 \pm 2,01	5,65 \pm 0,21	16,73 \pm 8,44
FZ-M-ED	30,41 \pm 2,15	85,42 \pm 1,39	Nd
FZ-M-AE	23,63 \pm 2,27	43,80 \pm 1,12	Nd
FZ-M-nB	12,80 \pm 0,77	3,65 \pm 2,83	Nd
PRZ-M	8,31 \pm 3,83	3,51 \pm 2,60	Nd

EG-D extrait brut préparé par décoction, **EG-I** extrait brut préparé par infusion **EG-M** extrait brut préparé par macération; Fractions d'extraits bruts de *G. alypum* préparées par décoction (**EG-D**): Fraction éther diéthylique (FG-D-ED), fraction acétate d'éthyle (FG-D-AE), Fraction n-butanol (FG-D-nB) et phase résiduelle aqueuse (PRG-D). **EZ-D** extrait brut préparé par décoction, **EZ-I** extrait brut préparé par infusion **EZ-M** extrait brut préparé par macération; Fractions d'extraits bruts de *Z. album* préparées par décoction (**EZ-D**): Fraction éther diéthylique (FZ-M-ED), fraction acétate d'éthyle (FZ-M-AE), Fraction n-butanol (FZ-M-nB) et phase résiduelle aqueuse (PRZ-M).

Les résultats exprimés dans le tableau **07** ont montré la présence des composés phénoliques en quantités variables dans les extraits bruts aqueux des deux plantes étudiées. Les extraits bruts préparés de la partie aérienne du *G. alypum* ont présenté des teneurs élevées en polyphénols totaux (entre $196,5 \pm 10,76$ et $134,82 \pm 7,05\mu\text{g EAG/mg E}$) par rapport aux extraits bruts préparés de la partie aérienne du *Z. album* (entre $30,41 \pm 2,01$ et $22,88 \pm 6,76\mu\text{g EAG/mg E}$).

Par ailleurs, les extraits bruts préparés de la partie aérienne du *G. alypum* ont présenté les teneurs les plus élevées en flavonoïdes, par rapport à celle préparés de la partie aérienne du *Z. album*. L'extrait brut aqueux préparé par décoction du *G. alypum* et celui préparé par infusion de *Z. album* ont enregistré les teneurs les plus élevées en flavonoïdes, d'ordre de $228,79 \pm 11,71$ et $9,56 \pm 3,11\mu\text{g EC/mg E}$, respectivement.

Le même extrait (EG-D) a noté la teneur le plus élevé en tanins condensés d'ordre $23,36 \pm 11,71\mu\text{g EC/mg E}$ pour l'extrait brut préparé du *G. alypum*. Par contre l'extrait brut aqueux de *Z. album* préparé par macération a présenté la teneur la plus élevée en tanins condensés $16,73 \pm 8,44\mu\text{g EC/mg E}$.

Les différentes fractions séparées à partir de l'extrait brut aqueux des deux plantes étudiées, préparées par décoction ou macération ont présenté des teneurs très élevées en composés phénoliques, par rapport à celle obtenues dans les extraits bruts.

Les fractions organiques récupérées après une séparation liquide-liquide avec l'éther diéthylique des deux plantes (FG-D-ED et FZ-M-ED) ont présenté les teneurs plus élevées en polyphénols totaux et en flavonoïdes d'ordre de $331,88 \pm 17,80\mu\text{g EAG/mg E}$ et $223,46 \pm 2,37\mu\text{g EC/mg E}$ et $30,41 \pm 2,15\mu\text{g EAG/mg E}$ et $85,42 \pm 1,39\mu\text{g EC/mg E}$, pour les fractions FG-D-ED et FZ-M-ED respectivement. Tandis que, les teneurs les plus faibles en composés phénoliques (polyphénols totaux et flavonoïdes) sont enregistrées pour celui des fractions obtenues par le solvant n-butanol des deux plantes.

La phase résiduelle restante a présenté des faibles quantités en composés phénoliques, par rapport les autres fractions.

2.3 Estimation et identification des composés phénoliques par une analyse HPLC (RP-HPLC-PDA)

Une analyse par HPLC (RP-HPLC-PDA) des deux fractions obtenues par les solvants d'éther diéthylique et l'acétate d'éthyle de chaque plante a été étudié. Les résultats de chromatogramme sont obtenus sous formes des figures (Fig. **15-16**). L'ensemble des

composés phénoliques est résumé sous forme d'un tableau avec leur structure chimique (annexe)

Selon les résultats des chromatogrammes présentés, les fractions FG-D-ED et FG-D-AE ont présenté quatre à cinq molécules des composés phénoliques détectés par fraction. La quercétine, la rutine et la naringenin sont les principaux flavonoïdes détectés par la fraction d'éther diéthylique.

L'acide gallique est présent dans les deux fractions, contrairement à l'acide *p*-coumarique et la naringenin qui sont détectés seulement dans les fractions FG-D-ED et l'acide ferulique qui est détecté seulement dans le chromatogramme de la fraction FG-D-AE. Les deux fractions FG-D-ED et FG-D-AE ont présenté, aussi, deux pics qui n'ont pas été caractérisés.

Cette analyse explique clairement la richesse des fractions (FG-D-ED et FG-D-AE) en polyphénols et en flavonoïdes (Fig.15).

L'analyse chromatographique des deux fractions FZ-M-ED et FZ-M-AE a permis d'enregistrer un nombre réduit de composés phénolique comparant à celui noté par les fractions de *G. alypum* (deux à trois composés sont représenté). Nous avons remarqué que l'acide gallique et la quercétine sont détectés dans les deux fractions FZ-M-ED et FZ-M-AE, où la quercétine est le flavonoïde dominant dans les deux analyses. A noté que l'acide syringique est seulement détecté après analyse de la première fraction de *Z. album* (FZ-M-ED) (Fig. 16).

En comparant les chromatogrammes des deux figures, nous avons constaté que l'analyse par HPLC des fractions de *Z. album* a révélé que cette plante a moins de composés phénoliques par rapport à *G. alypum*, selon les standards utilisés.

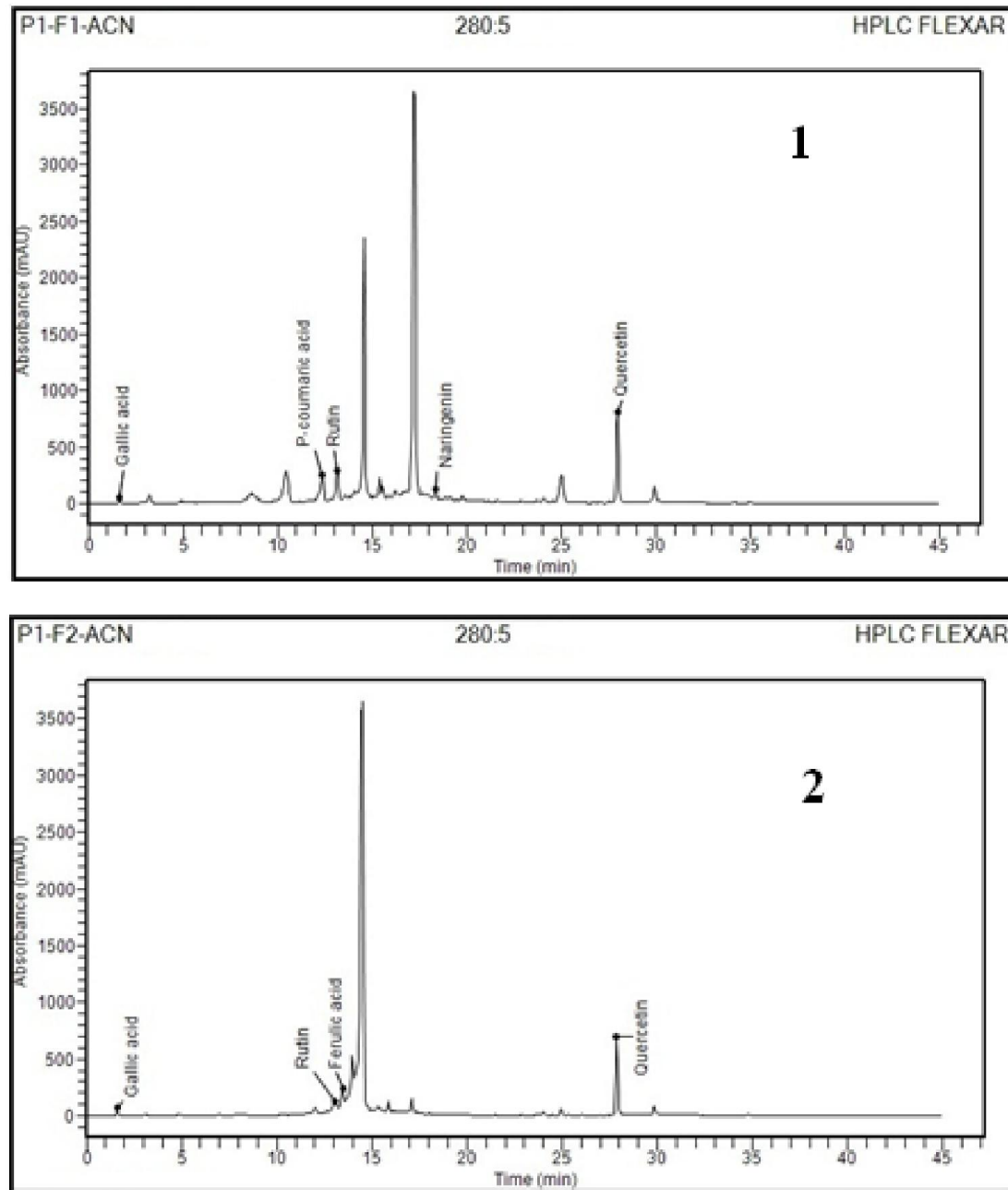


Figure 15: Chromatogramme RP-HPLC-PDA des fractions de *G. alypum* à 280 nm (1: Fraction éther diéthylique (FG-D-ED), 2: fraction acétate d'éthyle (FG-D-AE)).

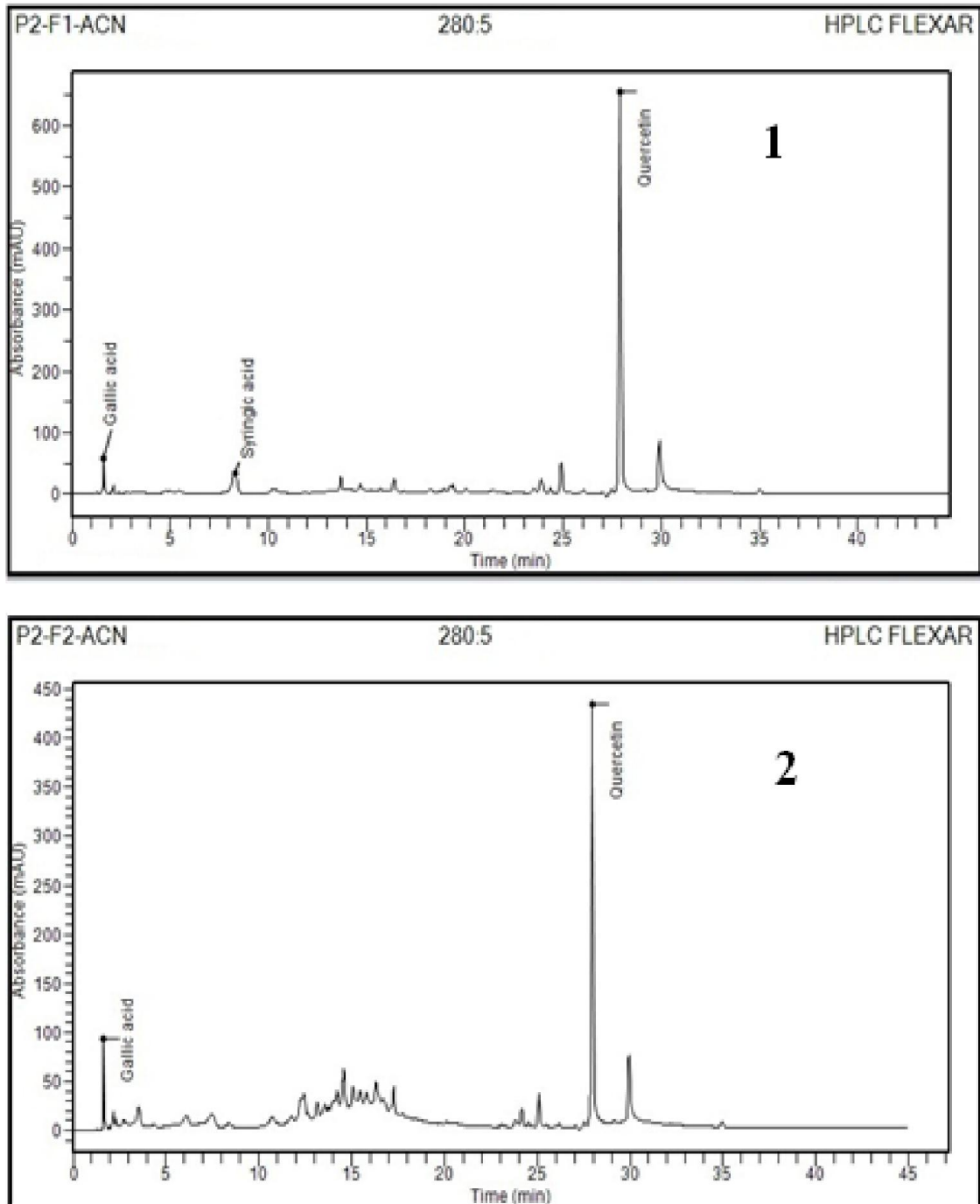


Figure 16: Chromatogramme RP-HPLC-PDA des fractions de *Z. album* à 280 nm (1: Fraction éther diéthylique (FZ-M-ED), 2: fraction acétate d'éthyle FZ-M-AE)).

3. Analyses Biologiques

3.1 Evaluation d'activité antioxydante

3.1.1 Test du piégeage du radical DPPH

La recherche de l'activité antiradicalaire en présence des différentes concentrations des extraits ou fractions préparées de la partie aérienne du *G. alypum* et *Z. album* a été étudiée par la mesure du pouvoir de piégeage du radical libre DPPH. Les résultats obtenus ont été exprimés en pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations d'extraits/ fractions ou acide ascorbique (contrôle positif) (Fig. 17, 18, 19 et 20).

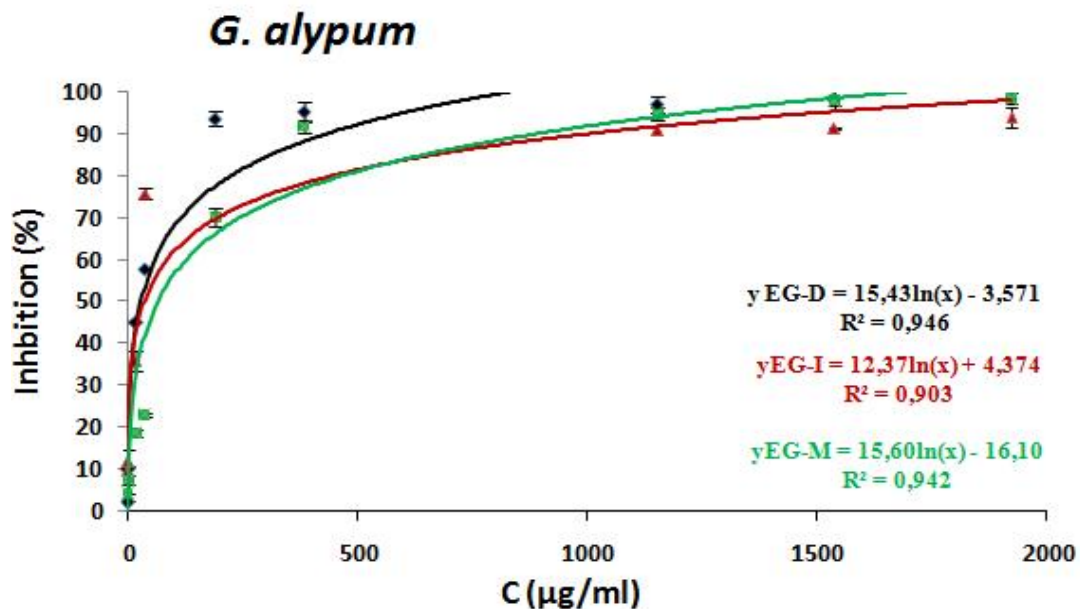


Figure 17: Représentation des pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations des extraits bruts aqueux de la partie aérienne du *G. alypum*. Extraits bruts de *G. alypum*: EG-D extrait brut préparé par décoction, EG-I extrait brut préparé par infusion EG-M extrait brut préparé par macération.

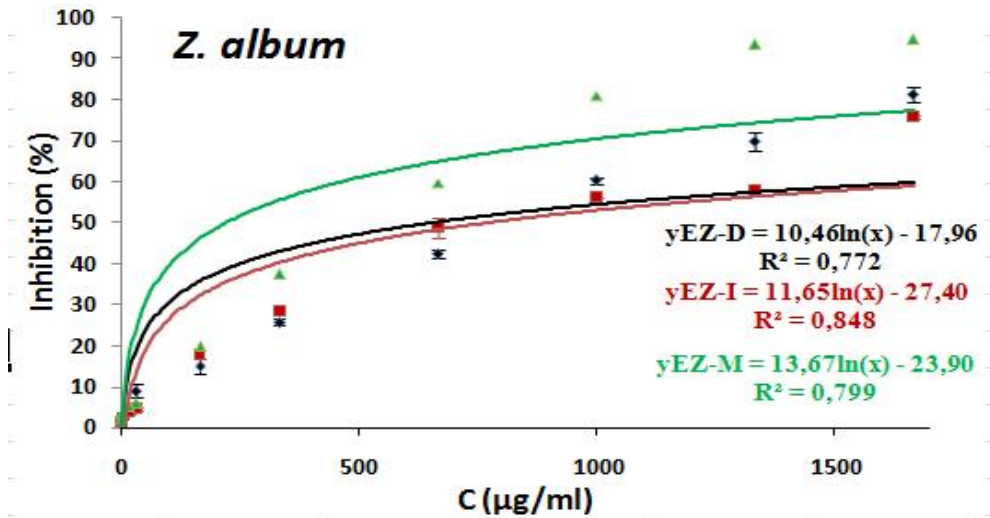


Figure 18: Représentation des pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations des extraits bruts aqueux de la partie aérienne du *Z. album*. Extraits bruts de *Z. album* préparés par décoction : **EZ-D** extrait brut préparé par décoction, **EZ-I** extrait brut préparé par infusion **EZ-M** extrait brut préparé par macération.

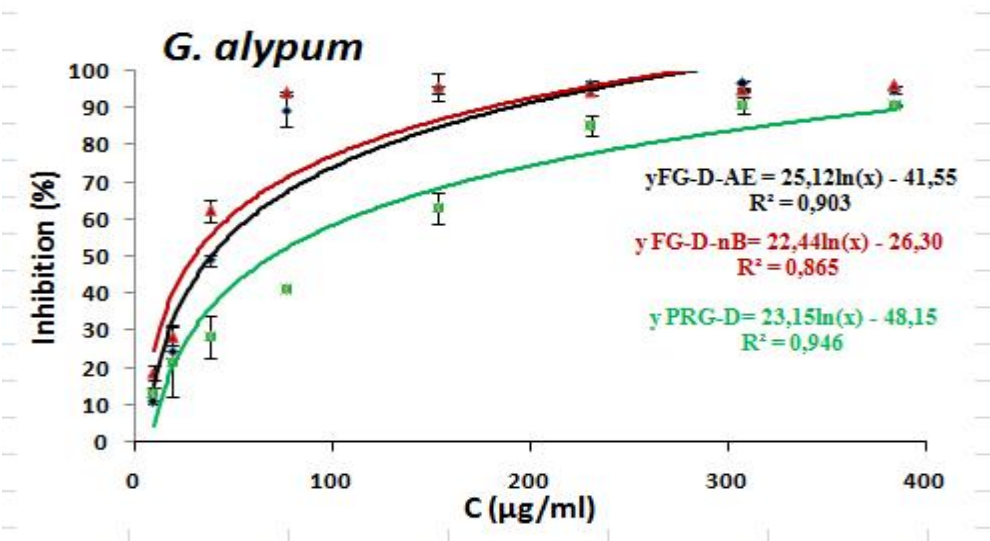


Figure 19: Représentation des pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations des fractions séparées à partir d'extrait brut aqueux préparé par décoction de la partie aérienne du *G. alypum*. Fractions d'extraits bruts de *G. alypum* préparées par décoction (**EG-D**): Fraction éther diéthylique (FG-D-ED), fraction acétate d'éthyle (FG-D-AE), Fraction n-butanol (FG-D-nB) et phase résiduelle aqueuse (PRG-D).

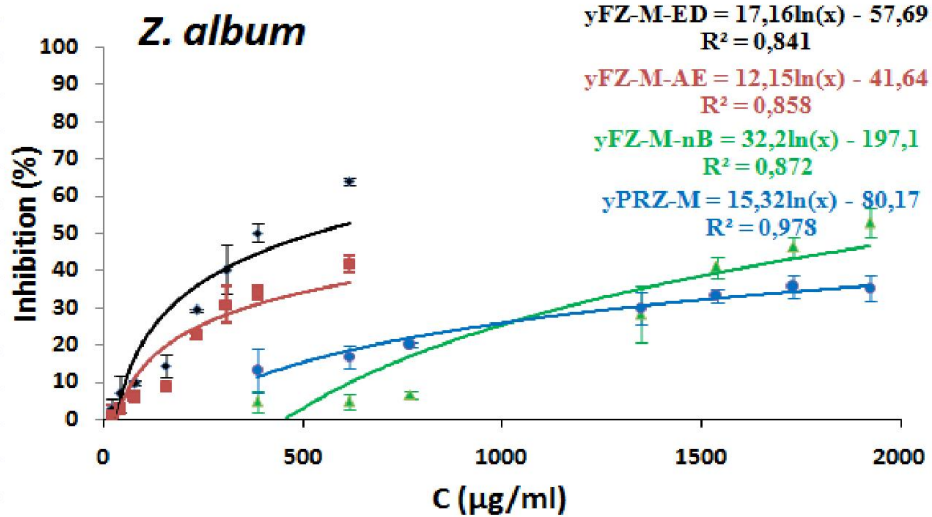


Figure 20: Représentation des pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations des fractions séparées à partir d'extrait brut aqueux préparé par macération de la parie aérienne du *Z. album*. Fractions d'extraits bruts de *Z. album* préparées par décoction (**EZ-D**): Fraction éther diéthylique (FZ-M-ED), fraction acétate d'éthyle (FZ-M-AE), Fraction n-butanol (FZ-M-nB) et phase résiduelle aqueuse (PRZ-M).

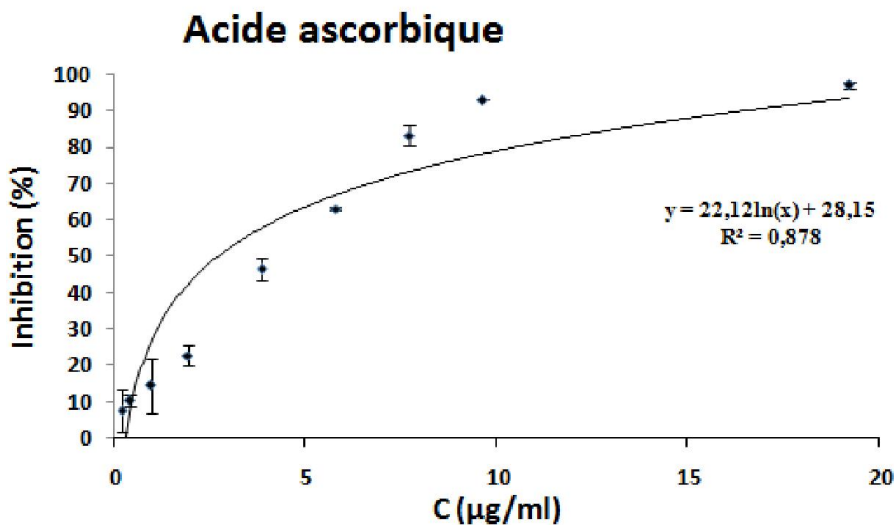


Figure 21: Représentation des pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'acide ascorbique.

A partir des équations des courbes logarithmiques obtenues, nous avons déterminé les CI_{50} (concentration qui inhibent 50% du radical libre DPPH) de chacun des différents extraits ou fractions étudiées, comparées avec celle d'acide ascorbique. Les différents résultats sont regroupés dans le Tableau 08.

Tableau 08: Les valeurs CI_{50} , du piégeage du radical libre DPPH, des extraits bruts et leurs fractions du *G. alypum* et *Z. album*, comparées avec l'acide ascorbique

Témoins, extraits et fractions		CI_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
Acide ascorbique		$3,74 \pm 0,11$
Partie aérienne de <i>Globularia alypum</i>	EG-D	$25,62 \pm 0,34^{**}$
	EG-I	$23,14 \pm 0,49^*$
	EG-M	$85,36 \pm 1,04^{***}$
	FG-D-ED	$20,54 \pm 0,48^{***}$
	FG-D-AE	$35,18 \pm 0,54^{***}$
	FG-D-nB	$28,31 \pm 0,74^{***}$
	PRG-D	$79,40 \pm 4,52^{***}$
Partie aérienne de <i>Zygophyllum album</i>	EZ-D	$719,3 \pm 8,02^{***}$
	EZ-I	$755,7 \pm 6,38^{***}$
	EZ-M	$446,5 \pm 1,60^{***}$
	FZ-M-ED	$289,3 \pm 6,32^{ns}$
	FZ-M-AE	$533,2 \pm 34,31^{ns}$
	FZ-M-nB	$1820 \pm 12,91^{***}$
	PRZ-M	$\approx 3634 \pm 301,8^{***}$

Les valeurs présentent les moyens de 3 mesures \pm SD. *: $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$, ns= non significatif.

EG-D extrait brut préparé par décoction, **EG-I** extrait brut préparé par infusion **EG-M** extrait brut préparé par macération; Fractions d'extraits bruts de *G. alypum* préparées par décoction (**EG-D**): Fraction éther diéthylique (FG-D-ED), fraction acétate d'éthyle (FG-D-AE), Fraction n-butanol (FG-D-nB) et phase résiduelle aqueuse (PRG-D). **EZ-D** extrait brut préparé par décoction, **EZ-I** extrait brut préparé par infusion **EZ-M** extrait brut préparé par macération; Fractions d'extraits bruts de *Z. album* préparées par décoction (**EZ-D**): Fraction éther diéthylique (FZ-M-ED), fraction acétate d'éthyle (FZ-M-AE), Fraction n-butanol (FZ-M-nB) et phase résiduelle aqueuse (PRZ-M).

D'après les résultats des CI_{50} obtenus, les extraits bruts de *G. alypum* et *Z. album* ont présenté des effets antioxydants faible par rapport à celle présenté par l'acide ascorbique. Les extraits bruts EG-I et EG-D ont enregistré une activité antioxydante meilleure par rapport aux autres extraits bruts, avec des CI_{50} de l'ordre de $23,14 \pm 0,49$ et $25,62 \pm 0,34\mu\text{g/ml}$, respectivement.

Par ailleurs, les fractions de *G. alypum* et *Z. album* récupérées après fractionnement par l'éther diéthylique ont présenté un pouvoir d'inhibition de radical DPPH plus important que les autres fractions, avec des CI_{50} de l'ordre de $20,54 \pm 0,48$ et $289,3 \pm 6,32\mu\text{g/ml}$,

respectivement. Ces valeurs sont comparables au CI_{50} de l'acide ascorbique ($3,74 \pm 0,11 \mu\text{g/ml}$)

Généralement la plante *G. alypum* a présenté une activité antiradicalaire meilleure que celle de *Z. album*. Les fractions de *G. alypum*, FG-D-ED, FG-M-nB et FG-M-AE, ont enregistré des CI_{50} faible et un pouvoir de piégeage du radical libre DPPH meilleur, par rapport à celle obtenues des autres fractions de *Z. album* de l'ordre de $20,54 \pm 0,48$, $28,31 \pm 0,74$ et $35,18 \pm 0,54$, respectivement pour les fractions FG-D-ED, FGD-AE et FG-D-nB

Deux courbes de corrélation linéaire des teneurs en polyphénols totaux en fonction des valeurs de CI_{50} de DPPH des différentes fractions préparées des deux plantes étudiées ont été tracées (Fig. 22 et 23).

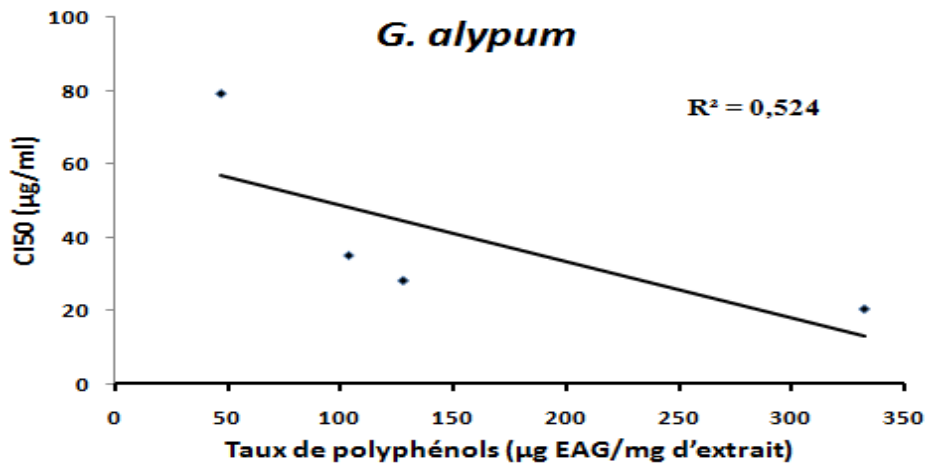


Figure 22: Corrélation entre les teneurs en polyphénols totaux et les CI_{50} du test DPPH des différentes fractions de la partie aérienne du *G. alypum*

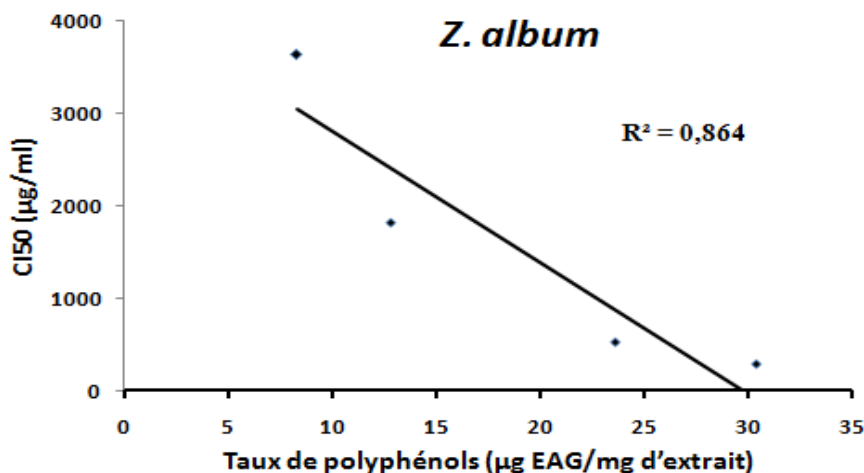


Figure 23: Corrélation entre les teneurs en polyphénols totaux et les CI_{50} du test DPPH des différentes fractions de la partie aérienne du *Z. album*

Nous avons constaté une bonne corrélation entre les teneurs en polyphénols totaux des fractions préparées des extraits bruts aqueux de la partie aérienne de *G. alypum* et *Z. album* et les CI_{50} obtenus du piégeage du radical libre DPPH avec des R^2 d'ordre de 0,524 et 0,864, respectivement.

La fraction éther diéthylique récupérée de l'extrait brut préparé par décoction de la partie aérienne de *G. alypum* (FG-D-ED), qui a présenté la teneur en polyphénols totaux la plus élevée ($331,88 \pm 17,80 \mu\text{g EAG/mg E}$), a enregistré la CI_{50} la plus faible et donc le pouvoir antiradicalaire le plus puissant (CI_{50} d'ordre de $20,5 \mu\text{g/ml}$) (Fig. 19).

De même, la fraction éther diéthylique récupérée de l'extrait brut préparé par macération de la partie aérienne de *Z. album* (FZ-M-ED), qui a présenté la teneur en polyphénols totaux la plus élevée ($30,41 \pm 2,15 \mu\text{g EAG/mg E}$), a enregistré la CI_{50} la plus faible et donc le pouvoir antiradicalaire le plus puissant (CI_{50} d'ordre de $289,3 \mu\text{g/ml}$) (Fig. 20).

3.1.2 Pouvoir réducteur de Fer (FRAP)

La recherche du pouvoir réducteur du fer des extraits ou fractions préparés de la partie aérienne du *G. alypum* ou *Z. album* et d'acide ascorbique a été déterminée par l'évaluation d'absorbance à 700 nm en fonction des différentes concentrations. Les résultats sont représentés sous forme des courbes d'une régression linéaire (Fig. 24 à 28)

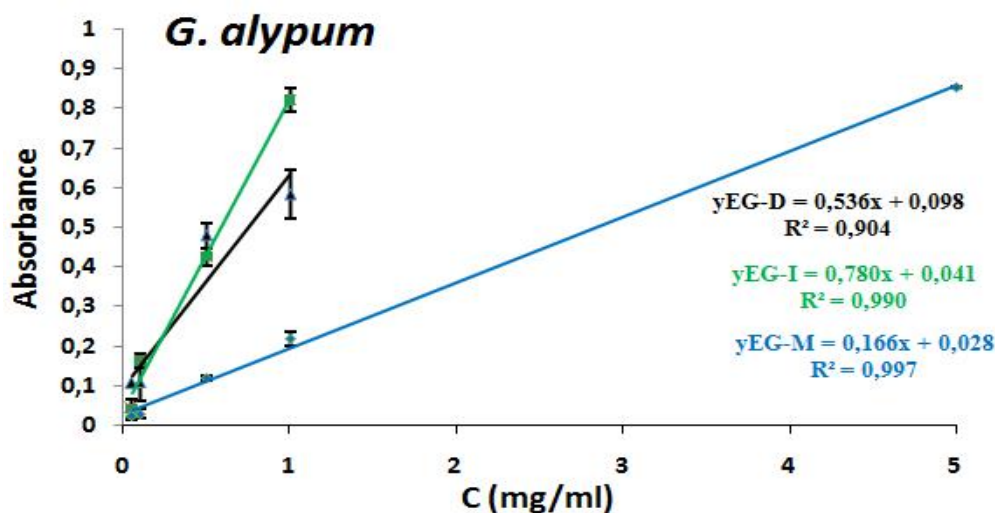


Figure 24: Evaluation du pouvoir réducteur du Fer en présence des différentes concentrations des extraits bruts aqueux de la partie aérienne du *G. alypum*. Extraits bruts aqueux de *G. alypum*: EG-D extrait brut préparé par décoction, EG-I extrait brut préparé par infusion EG-M extrait brut préparé par macération .

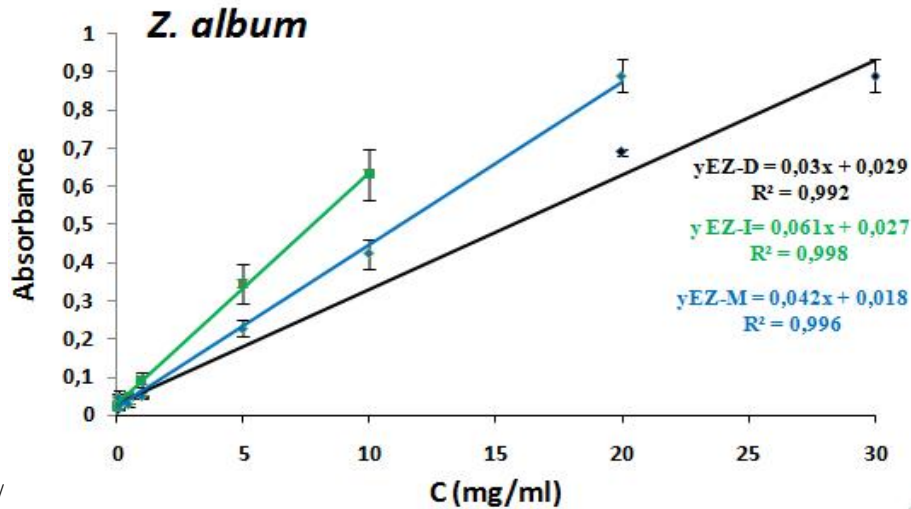


Figure 25: Evaluation du pouvoir réducteur du Fer en présence des différentes concentrations des extraits bruts aqueux de la parie aérienne du *Z. album*. Extraits bruts aqueux de *Z. album*: EZ-D extrait brut préparé par décoction, EZ-I extrait brut préparé par infusion EZ-M extrait brut préparé par macération .

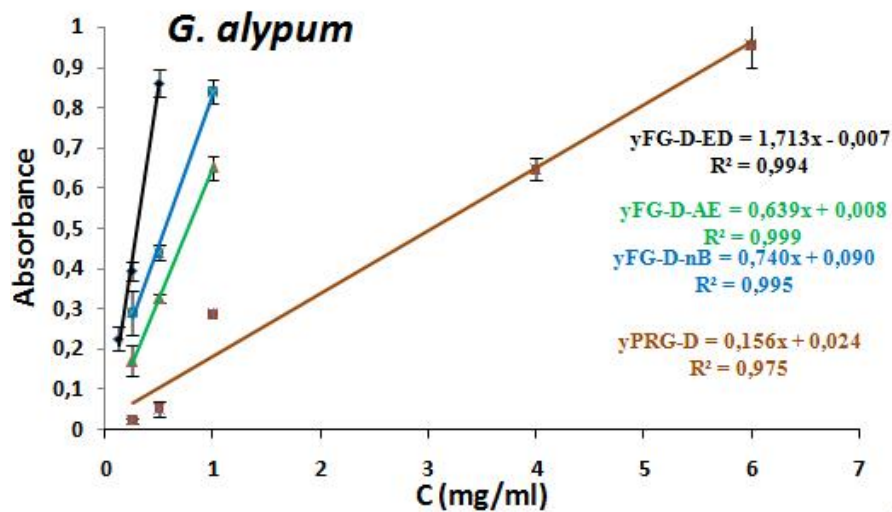


Figure 26: Evaluation du pouvoir réducteur du Fer en présence des différentes concentrations des fractions séparées à partir d'extrait brut aqueux préparé par décoction de la parie aérienne du *G. alypum*. Fractions d'extraits bruts de *G. alypum* préparées par décoction (**EG-D**): Fraction éther diéthylique (FG-D-ED), fraction acétate d'éthyle (FG-D-AE), Fraction n-butanol (FG-D-nB) et phase résiduelle aqueuse (PRG-D)

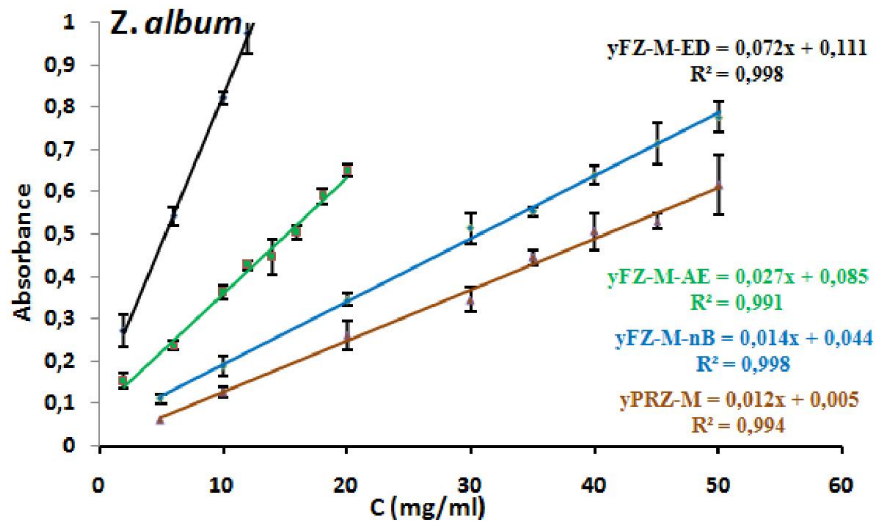


Figure 27: Evaluation du pouvoir réducteur du Fer en présence des différentes concentrations des fractions séparées à partir d'extrait brut aqueux préparé par macération de la partie aérienne du *Z. album*. Fractions d'extraits bruts de *Z. album* préparées par macération (EZ-D): Fraction éther diéthylique (FZ-M-ED), fraction acétate d'éthyle (FZ-M-AE), Fraction n-butanol (FZ-M-nB) et phase résiduelle aqueuse (PRZ-M).

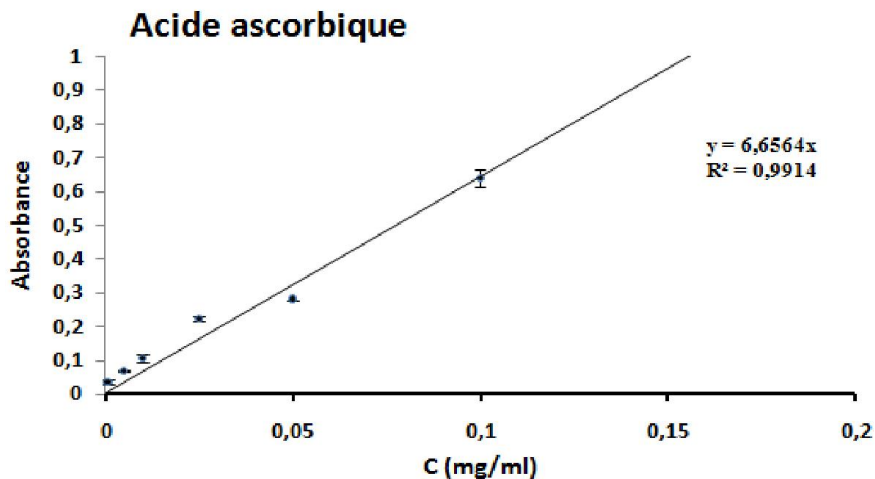


Figure 28: Evaluation du pouvoir réducteur du Fer en présence des différentes concentrations d'acide ascorbique.

A partir des équations de régression linéaire des courbes d'absorbances en fonction des différentes concentrations des extraits étudiés, nous avons déterminé les valeurs de CE_{50} (concentration efficace de l'extrait/fraction ou standard nécessaire pour réduire 50% du fer contenue dans le milieu réactionnel) (Tableau. 09).

Tableau 09: Les valeurs CE₅₀ des extraits bruts et des fractions du *G. alypum* et *Z. album*, comparées avec l'acide ascorbique

Témoins, extraits et fractions		CE ₅₀ (mg/ml)
Acide ascorbique		0,079 ± 0,001
Partie aérienne de <i>Globularia alypum</i>	EG-D	0,79 ± 0,14 ^{ns}
	EG-I	0,58 ± 0,02 ^{ns}
	EG-M	2,83 ± 0,02 ^{ns}
	FG-D-ED	0,51 ± 0,07 ^{***}
	FG-D-AE	0,77 ± 0,02 ^{***}
	FG-D-nB	0,55 ± 0,04 ^{***}
	PRG-D	3,35 ± 0,11 ^{***}
Partie aérienne de <i>Zygophyllum album</i>	EZ-D	16,18 ± 2,15 ^{***}
	EZ-I	7,87 ± 0,93 ^{***}
	EZ-M	11,42 ± 0,66 ^{***}
	FZ-M-ED	3,88 ± 0,3 ^{**}
	FZ-M-AE	15,55 ± 0,19 ^{***}
	FZ-M-nB	31,15 ± 0,73 ^{***}
	PRZ-M	42,24 ± 0,75 ^{***}

Les valeurs présentent les moyens de 3 mesures ± SD. p ≤ 0,01, *** p ≤ 0,001, ns= non significatif (par rapport au témoin). **EG-D** extrait brut préparé par décoction, **EG-I** extrait brut préparé par infusion **EG-M** extrait brut préparé par macération; Fractions d'extraits bruts de *G. alypum* préparées par décoction (**EG-D**): Fraction éther diéthylique (FG-D-ED), fraction acétate d'éthyle (FG-D-AE), Fraction n-butanol (FG-D-nB) et phase résiduelle aqueuse (PRG-D). **EZ-D** extrait brut préparé par décoction, **EZ-I** extrait brut préparé par infusion **EZ-M** extrait brut préparé par macération; Fractions d'extraits bruts de *Z. album* préparées par décoction (**EZ-D**): Fraction éther diéthylique (FZ-M-ED), fraction acétate d'éthyle (FZ-M-AE), Fraction n-butanol (FZ-M-nB) et phase résiduelle aqueuse (PRZ-M).

D'après les résultats présentées dans le tableau 09, le pouvoir réducteur du fer le plus élevé des extraits préparés de la partie aérienne de *G. alypum* a été enregistré en présence des extraits bruts EG-I (CE₅₀ = 0,58 ± 0,02mg/ml) et EG-D (CE₅₀ = 0,79 ± 0,14mg/ml) et les fractions FG-D-ED (CE₅₀ = 0,51 ± 0,07mg/ml), FG-D-nB (CE₅₀ = 0,55 ± 0,04mg/ml) et FG-D-AE (CE₅₀ = 0,77 ± 0,02mg/ml). Ce pouvoir reste faible par rapport à celle enregistré en présence de l'acide ascorbique (CE₅₀ = 0,079 ± 0,001mg/ml).

Par contre, le pouvoir réducteur du fer enregistré en présence des extraits préparés de la partie aérienne de *Z. album*, est largement faible par rapport à celle enregistré en présence de l'acide ascorbique (CE₅₀ = 0,079 ± 0,001mg/ml). Le meilleure pouvoir réducteur a été noté en présence de la fraction éther diéthylique FZ-M-ED (CE₅₀ = 3,88 ± 0,3mg/ml).

Deux courbes de corrélation linéaire entre les valeurs de CE_{50} du test de FRAP et les teneurs en polyphénols totaux des différentes fractions préparées des deux plantes étudiées ont été tracées (Fig. 29 et 30).

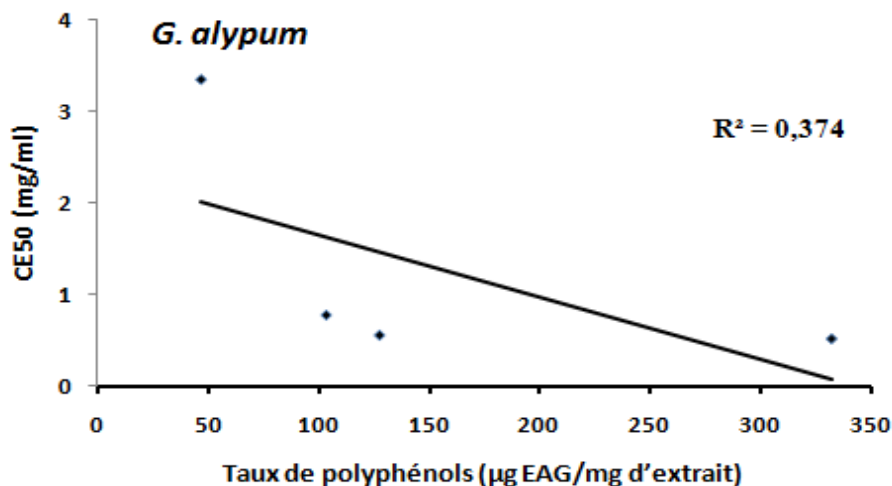


Figure 29: Corrélation entre les teneurs en polyphénols totaux et les CE_{50} du test FRAP des différentes fractions de la partie aérienne du *G. alypum*.

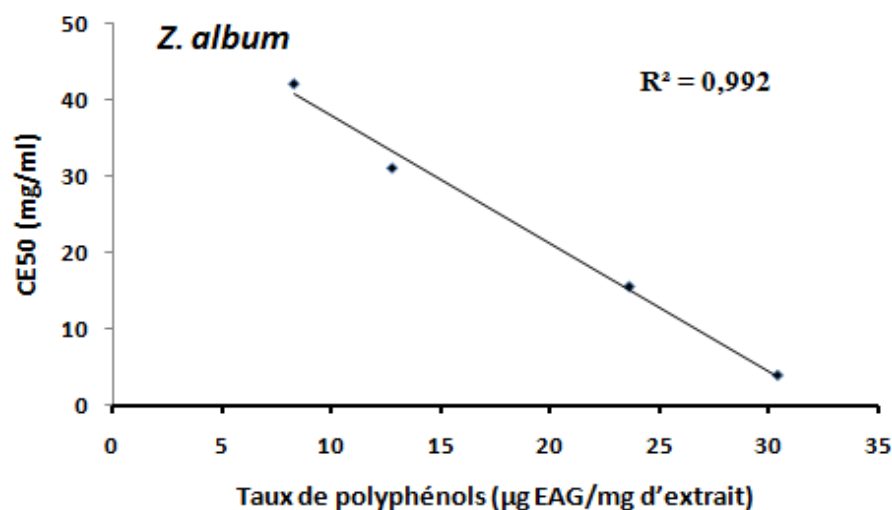


Figure 30: Corrélation entre les teneurs en polyphénols totaux et les CE_{50} du test FRAP des différentes fractions de la partie aérienne du *Z. album*.

Nous avons enregistré une forte corrélation ($R^2 = 0,992$), entre les teneurs en polyphénols totaux des fractions préparées des extraits bruts aqueux de la partie aérienne de *Z. album* et les CE_{50} obtenues par le test du pouvoir réducteur du Fer (FRAP). Par contre, nous avons noté une faible corrélation ($R^2 = 0,374$), entre les teneurs en polyphénols totaux des fractions préparées des extraits bruts aqueux de la partie aérienne de *G. alypum* et les CE_{50} obtenues du test FRAP.

Par ailleurs, nous avons constaté que la fraction éther diéthylique de la partie aérienne de *G. alypum* (FG-D-ED), qui a présenté la teneur en polyphénols totaux la plus élevée ($331,88 \pm 17,80 \mu\text{g EAG/mg E}$), a enregistré la CE_{50} la plus faible et donc le pouvoir antioxydant le plus puissant (CE_{50} d'ordre de $0,51 \pm 0,07\text{mg/ml}$) (Fig. 26).

Une étude comparative entre chaque extrait brut et ses fractions de chaque plante a été évaluée, soit pour le test d'inhibition du radical libre (DPPH) soit pour le test de réduction de Fer (FRAP). Les résultats sont représentés sous forme des histogrammes (Fig. 31 et 32).

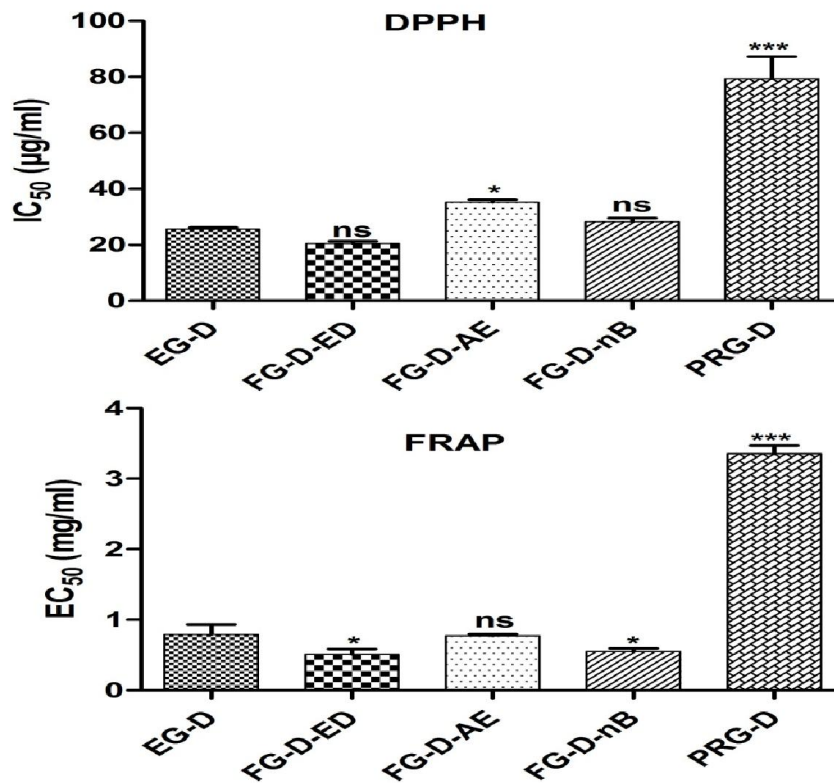


Figure 31: une comparaison d'activité antioxydant (DPPH et FRAP) entre l'extrait de décoction de *G. alypum* et ses fractions, ns= non significatif, *: $p \leq 0,05$, *** $p \leq 0,001$. Fractions d'extraits bruts de *G. alypum* préparées par décoction (EG-D): Fraction éther diéthylique (FG-D-ED), fraction acétate d'éthyle (FG-D-AE), Fraction n-butanol (FG-D-nB) et phase résiduelle aqueuse (PRG-D).

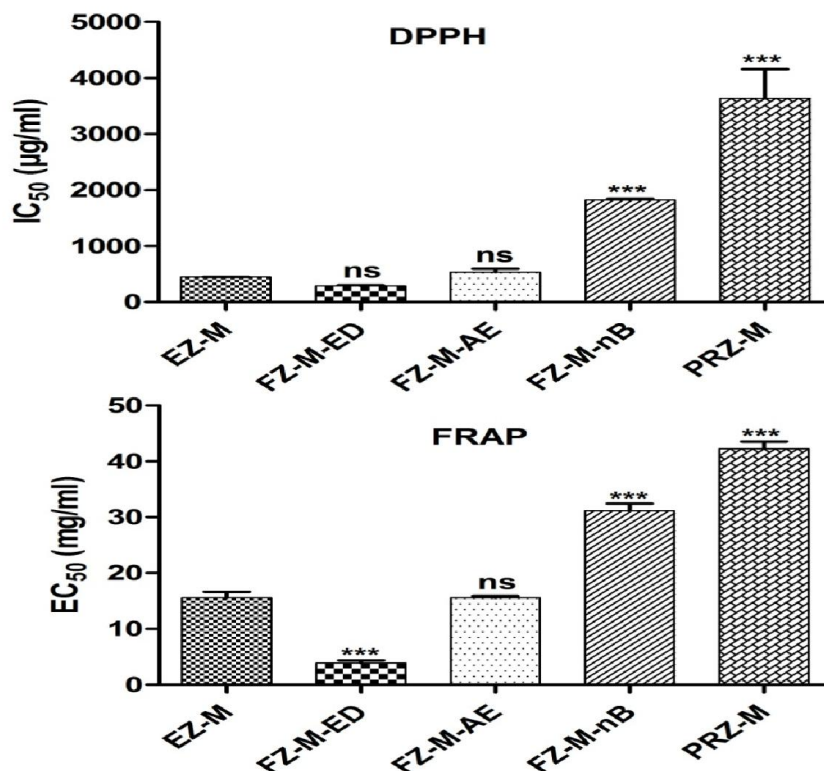


Figure 32: une comparaison d'activité antioxydant (DPPH et FRAP) entre l'extrait de macération de *Zygophyllum album* et ses fractions, ns= non significatif, *** $p \leq 0,001$. Fractions d'extraits bruts de *Z. album* préparées par macération (**EZ-M**): Fraction éther diéthylique (FZ-M-ED), fraction acétate d'éthyle (FZ-M-AE), Fraction n-butanol (FZ-M-nB) et phase résiduelle aqueuse (PRZ-M).

L'étude statistique a révélé que seul les parties résiduelles aqueuses préparées par décoction de *G. alypum* et par macération *Z. album*, qui ont enregistré des valeurs de CI_{50} et CE_{50} significativement très élevées ($P < 0,001$), par rapport aux valeurs de CI_{50} et CE_{50} d'acide ascorbique pour les deux tests effectués de piégeage de DPPH ou réduction de Fer.

Les fractions éther diéthylique, récupérées des deux plantes, (FG-D-ED et FZ-M-ED) ont montré le pouvoir antiradicalaire (Test DPPH) et antioxydant (Test FRAP) les plus puissants par rapport aux extraits bruts et fractions étudiés. Ces activités restent toujours faibles, non ou peu significatif ($P < 0,05$) par rapport à celle de l'acide ascorbique ($CI_{50} = 3,74 \pm 0,11 \mu\text{g/ml}$ et $CE_{50} = 0,079 \pm 0,001 \text{ mg/ml}$) (Fig. 31 et 32).

Dans l'ensemble de ces résultats, nous avons constaté que, les fractions riches en polyphénols totaux ont un effet antiradicalaire (Test DPPH) et antioxydant (Test FRAP) les plus puissants, par rapport aux autres échantillons.

La puissance des extraits et leurs fractions sont organisé selon l'ordre de FG-D-ED > FG-D-AE > FG-D-nB > PRG-D et FZ-M-ED > FZ-M-AE > FZ-M-nB > PRZ-M.

3.2 Evaluation d'activité antihémolytique

Les extraits bruts et les fractions préparés de la partie aérienne de *G. alypum* et de *Z. album* sont testés, *in vitro*, sur des suspensions érythrocytaires, pour évaluer leurs effets antihémolytiques en présence du radical AAPH.

Les érythrocytes préalablement mise en contact avec le radical AAPH sont incubées avec des concentrations croissantes des extraits et des fractions (10, 20, 40, 80 et 160µg/ml) pour évaluer l'activité anti-radicalaire d'AAPH et étudier la relation dose-dépendent de la concentration des molécules étudiées. Les résultats sont exprimés sous forme de courbe sigmoïde d'hémolyse, contre un contrôle dite Témoin (Fig. 33 et 34).

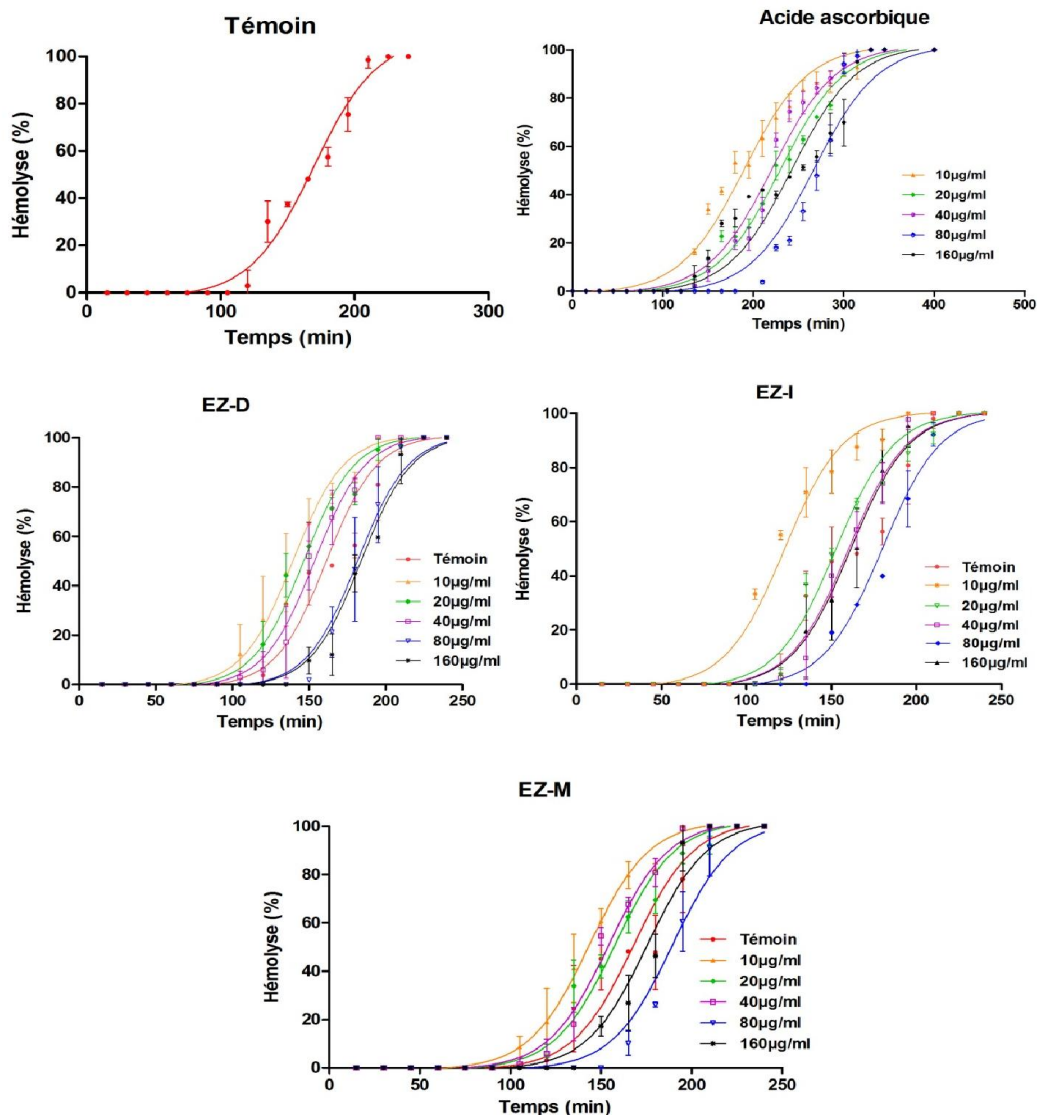


Figure 33: Cinétiques d'hémolyse obtenues après traitement d'érythrocytes en présence des extraits bruts de la partie aérienne de *Z. album* (10, 20, 40, 80 et 160µg/ml). Extraits bruts de *Z. album* : **EZ-D** extrait brut préparé par décoction, **EZ-I** extrait brut préparé par infusion **EZ-M** extrait brut préparé par macération. Témoin utilisé comme contrôle négatif et l'acide ascorbique comme contrôle positif, les valeurs sont les moyennes de 3 mesures ± SD.

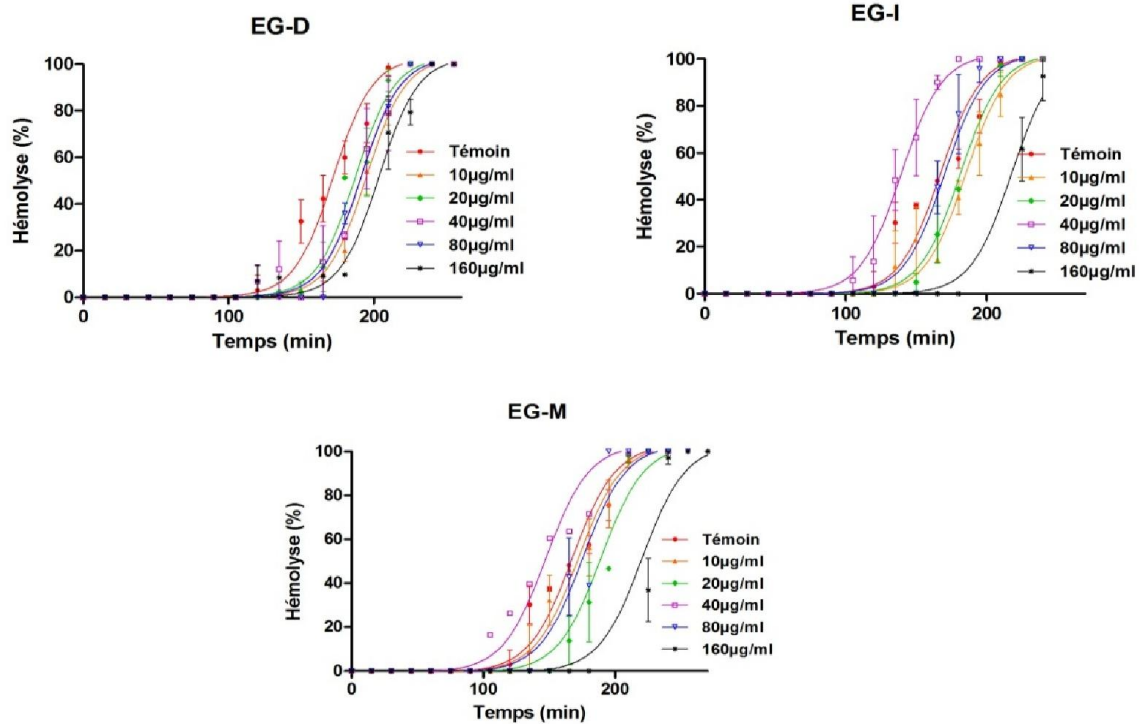


Figure 34: Cinétiques d'hémolyse obtenues après traitement d'érythrocytes en présence des extraits bruts de la partie aérienne de *G. alypum* (10, 20, 40, 80 et 160 µg/ml), Extraits bruts de *G. alypum*: **EG-D** extrait brut préparé par décoction, **EG-I** extrait brut préparé par infusion **EG-M** extrait brut préparé par macération. Les valeurs sont les moyennes de 3 mesures \pm SD.

L'effet antihémolytique présente un retardement d'hémolyse illustré graphiquement par un déplacement de la courbe d'hémolyse vers la droite du contrôle négatif (Témoin). Les valeurs de temps de demi-hémolyse de 50% (HT_{50}) des érythrocytes lysés des extraits, fractions et acide ascorbique ont été calculé à partir des courbes sigmoïdes tracés. Les résultats obtenus d' HT_{50} sont regroupées dans les tableaux (10, 11 et 12).

3.2.1 Evaluation d'effet antihémolytique en présence des extraits bruts aqueux

Nous avons testé, en premier lieu, l'effet protecteur des extraits bruts aqueux de *G. alypum* et de *Z. album* préparés par décoction, infusion ou macération (Tableau 10).

Tableau 10: Le temps de demi-hémolyse (HT_{50} = min) des différentes concentrations des extraits bruts aqueux de *G. alypum* et de *Z. album*. Acide ascorbique est un control positif

	10µg/ml	20µg/ml	40µg/ml	80µg/ml	160µg/ml
Acide ascorbique	177,9 ± 2,03	235,7 ± 11,23	218,3 ± 2,32	275,5 ± 4,08	258,6 ± 5,06
EG-D	192,5 ± 1,81	183,1 ± 3,55	195,4 ± 2,28	189,7 ± 1,63	206,9 ± 1,42
EG-I	184,5 ± 4,71	175,2 ± 4,16	145,1 ± 7,73	165,1 ± 1,49	219,3 ± 2,25
EG-M	173,6 ± 4,41	188,9 ± 2,77	146,1 ± 0,88	171,8 ± 4,57	221,9 ± 3,71
EZ-D	172 ± 4,27	220 ± 4,97	257 ± 8,45	274,5 ± 2,75	270,8 ± 2,55
EZ-I	193,2 ± 6,36	224,4 ± 7,89	251,1 ± 5,13	231,1 ± 9,2	191,1 ± 6,83
EZ-M	180,8 ± 8,49	184,1 ± 9,87	220,7 ± 4,21	243 ± 5,85	284 ± 6,34

Les valeurs sont exprimées en moyennes ± écart type (n=4), la comparaison est effectuée contre un control négatif (162,7 ± 6,74 min). Extraits bruts *G. alypum*: **EG-D** extrait brut préparé par décoction, **EG-I** extrait brut préparé par infusion **EG-M** extrait brut préparé par macération; Extraits bruts *Z. album*: **EZ-D** extrait brut préparé par décoction, **EZ-I** extrait brut préparé par infusion **EZ-M** extrait brut préparé par macération

L'extrait brut aqueux de *G. alypum* préparé par décoction (EG-D) a présenté un pouvoir antiradicalaire qui retarde l'hémolyse en présence des concentrations 10, 20, 40 et 80µg/ml par rapport au témoin et aux autres extraits bruts.

L'extrait brut aqueux de *G. alypum* préparé par macération (EG-M) a noté un pouvoir antiradicalaire de retardement d'hémolyse le plus important à une concentration de 160µg/ml. Par contre, Les concentrations testées de *G. alypum* ont présenté un pouvoir protecteur moins efficace par rapport à celle présenté par l'acide ascorbique (Fig. 35)

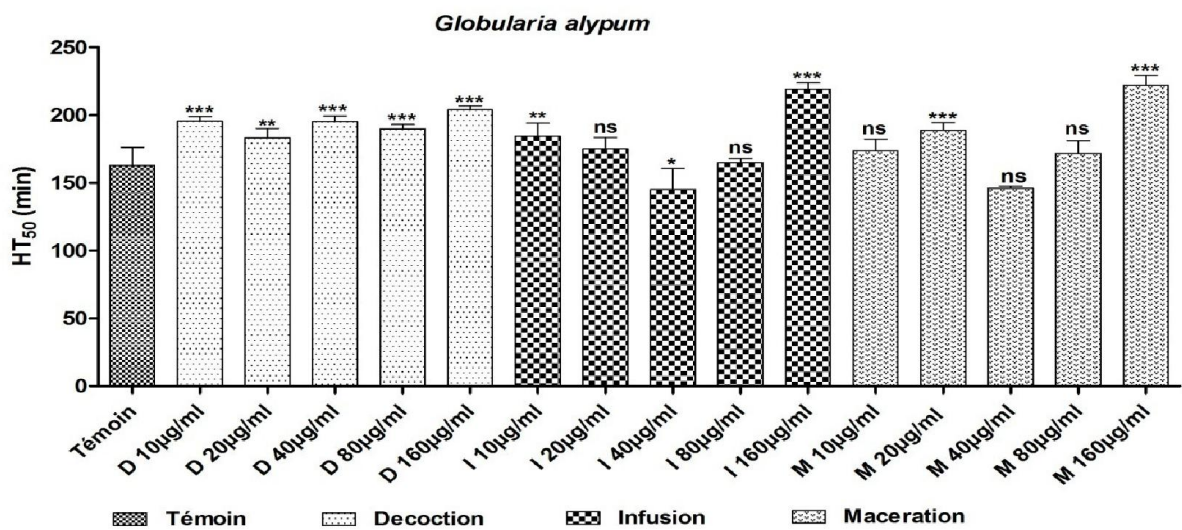


Figure 35: histogramme des temps de demi-hémolyse (HT_{50} = min), des différentes concentrations des extraits bruts aqueux préparés de la partie aérienne du *G. alypum* comparé par rapport témoin négatif. Les valeurs sont exprimées en moyennes ± écart type (n=4), la comparaison est effectuée contre un control négatif (162,7 ± 6,74 min). *: $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$, ns= non significatif.

Les extraits bruts aqueux de *Z. album* préparés par décoction (EZ-D) et macération (EZ-M) ont présenté un effet dose-dépendent (Fig. 36). Les HT_{50} les plus élevés sont celles d'EZ-D ($274,5 \pm 2,75 \mu\text{g/ml}$ à $80 \mu\text{g/ml}$ et $270,8 \pm 2,55 \mu\text{g/ml}$ à $160 \mu\text{g/ml}$) et EZ-M ($284 \pm 6,34 \mu\text{g/ml}$ à $160 \mu\text{g/ml}$).

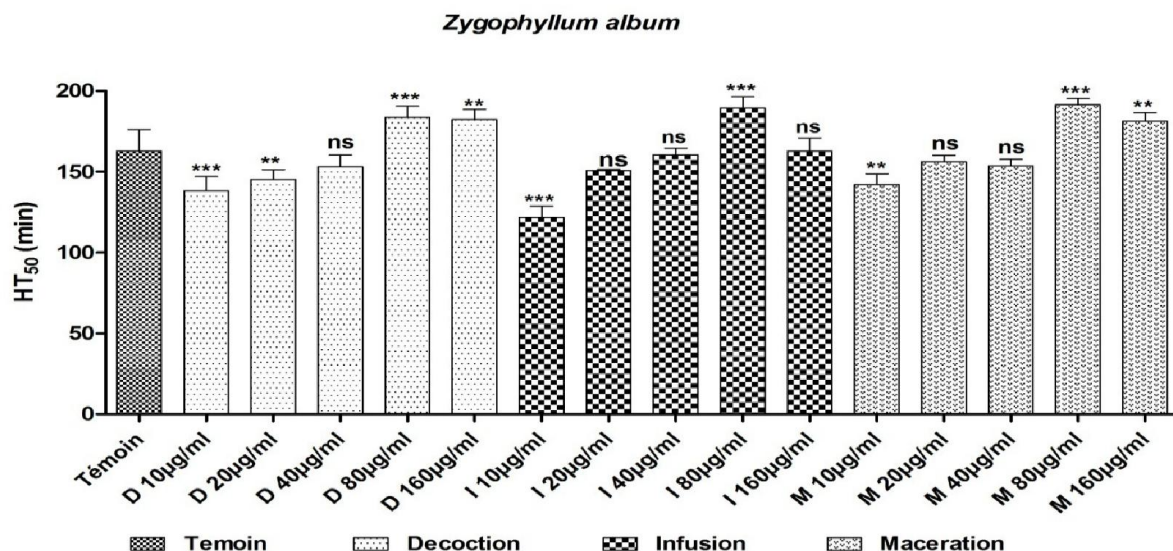


Figure 36: histogramme des temps de demi-hémolyse (HT_{50} = min), des différentes concentrations des extraits bruts aqueux préparés de la partie aérienne du *G. alypum* comparé par rapport témoin négatif. Les valeurs sont exprimées en moyennes \pm écart type ($n=4$), la comparaison est effectuée contre un control négatif ($162,7 \pm 6,74$ min). *: $p \leq 0,05$, *** $p \leq 0,001$, ns= non significatif.

En comparaison entre les deux plantes étudiées, les extraits de *Z. album* ont présenté un effet protecteur d'hémolyse érythrocytaire plus élevé par rapport à celui de *G. alypum*. Cette activité reste faible en comparaison avec celle du contrôle positif (acide ascorbique) (Tableau 10).

3.2.2 Evaluation d'effet antihémolytique en présence des fractions

Les tableaux 11 et 12 regroupent les différents HT_{50} (min) des différentes concentrations des fractions des extraits bruts aqueux de *G. alypum* et *Z. album* préparées par décoction (EZ-D) et macération (EZ-M).

Tableau 11: le temps de demi-hémolyse (HT_{50} = min) des différentes concentrations des fractions d'extrait brut de *G. alypum* préparé par décoction (**EG-D**)

	10µg/ml	20µg/ml	40µg/ml	80µg/ml	160µg/ml
FG-D-ED	-	253,6 ± 5,59	273,9 ± 3,6	256,2 ± 6,6	222,1 ± 10,01
FG-D-AE	217 ± 6,49	194 ± 2,43	231,4 ± 3,36	230 ± 5,69	282 ± 5,85
FG-D-nB	175,8 ± 5,21	226 ± 5,48	230,8 ± 5,64	289 ± 2,83	280,9 ± 1,88
PRG-D	219,4 ± 3,4	217,5 ± 4,94	243,7 ± 1,57	273,6 ± 5,61	313,7 ± 1,63

Les valeurs sont exprimées en moyennes ± écart type (n=4), la comparaison est effectuée contre un control négatif (137,7 ± 5,43 min). Fractions d'extraits bruts de *G. alypum* préparées par décoction (**EG-D**): Fraction éther diéthylique (FG-D-ED), fraction acétate d'éthyle (FG-D-AE), Fraction n-butanol (FG-D-nB) et phase résiduelle aqueuse (PRG-D)

Tableau 12: le temps de demi-hémolyse (HT_{50} = min) des différentes concentrations des fractions d'extraits bruts de *Z. album* préparées par décoction (**EZ-M**)

	10µg/ml	20µg/ml	40µg/ml	80µg/ml	160µg/ml
FZ-M-ED	172 ± 4,27	220 ± 4,97	257 ± 8,45	274,5 ± 2,75	270,8 ± 2,55
FZ-M-AE	193,2 ± 6,36	224,4 ± 7,89	251,1 ± 5,13	231,1 ± 9,2	191,1 ± 6,83
FZ-M-nB	180,8 ± 8,49	184,1 ± 9,87	220,7 ± 4,21	243 ± 5,85	284 ± 6,34
PRZ-M	143,4 ± 11,74	146,5 ± 1,47	162,4 ± 1,48	186,1 ± 7,84	243,6 ± 11,56

Les valeurs sont exprimées en moyennes ± écart type (n=4), la comparaison est effectuée contre un control négatif (151,1 ± 12,94 min). Fractions d'extraits bruts de *Z. album* préparées par macération (**EZ-M**): Fraction éther diéthylique (FZ-M-ED), fraction acétate d'éthyle (FZ-M-AE), Fraction n-butanol (FZ-M-nB) et phase résiduelle aqueuse (PRZ-M)

Les différentes fractions préparées de la partie aérienne du *G. alypum* ont présenté globalement des HT_{50} élevés par rapport à celle présenté par le témoin, ce qui est explique ses effets inhibiteurs d'hémolyse par rapport aux extraits bruts. A une concentration de 10µg/ml, les fractions FG-D-AE et PRG-D (217 ± 6,49 et 219,4 ± 3,4min, respectivement) ont présenté un effet antiradicalaire élevé comparable à celle de l'acide ascorbique à cette même concentration (177,9 ± 2,03min).

La fraction FG-D-ED à 20µg/ml et 40µg/ml, FG-D-AE, PRG-D à 40µg/ml, FG-D-nB à 40µg/ml et 80µg/ml et PRG-D à 160µg/ml ont présenté un effet puissant à celle d'acide ascorbique dans les mêmes concentrations testées. L'activité antihémolytique de FG-D-nB et PRG-D ont présenté un effet dose-dépendent (FG-D-nB: 175,8 ± 5,21 < 226 ± 5,48 < 230,8 ± 5,64 < 289 ± 2,83min pour 10, 20, 40 et 80µg/ml et PRG-D: 217,5 ± 5 < 243,7 ± 1,57 < 273,6 ± 5,61 < 313,7 ± 1,63min, pour 20, 40, 80 et 160µg/ml) (Tableau. 11).

En comparaison avec le témoin négatif ($151,1 \pm 12,94$ min), toutes les concentrations des fractions de *Z. album* sauf (10 et $20\mu\text{g/ml}$ de PRZ-M), ont présenté des courbes d'hémolyses décalées vers la droite du témoin, ce qui signifie que les HT_{50} calculés sont élevés à celui du témoin. Ces activités restent faibles par rapport à celle d'acide ascorbique (Tableau 12). De plus, la relation dépendante de dose-effet est bien illustré dans la fraction FZ-D-nB ($180,8 \pm 8,49 < 184,1 \pm 9,87 < 220,7 \pm 4,21 < 243 \pm 5,85 < 284 \pm 6,34\text{min}$)

3.2.3 Recherche d'une linéarité des extraits/ fractions et l'activité antihémolytique

La relation entre les concentrations des extraits/fractions et l'activité antihémolytique a été étudiée, des valeurs de Δt sont calculés (c'est la différence entre HT_{50} d'extrait/fraction et HT_{50} de témoin) (annexe). Une linéarité très importante a été remarqué dans des courbes de fractions de *G. alypum* (PRG-D, $R^2 = 0,97$) et de *Z. album* (FZ-M-nB, $R^2 = 0,94$ et PRZ-M, $R^2 = 0,99$) (Fig. 40 et 41). Par contre, la corrélation linéaire est très faible dans les courbes représentés par les extraits bruts, sauf pour l'extrait de EZ-M qui a présenté une courbe linéaire avec un $R^2 = 0,94$ (Fig. 38 et 39).

La corrélation linéaire représentée par les fractions est très élevée à celle représentée par la molécule pure utilisé comme standard (acide ascorbique, $R^2 = 0,47$), (Fig. 37). Les valeurs de Δt calculées (annexe) présentent mieux l'effet protecteur des extraits et des fractions utilisés contre l'hémolyse des hématies provoqué par le radical AAPH. La concentration de $160\mu\text{g/ml}$ de PRG-D a présenté un $\Delta t = 176$ plus élevé à celle d'acide ascorbique ($\Delta t = 131,1$) confirmant le décalage des courbes sigmoïdes vers la droite de témoin, tandis que, les concentrations de $40\mu\text{g/ml}$ de EG-I et EG-M, $10\mu\text{g/ml}$ (FZ-M-nB et PRG-D et $20\mu\text{g/ml}$ de PRZ-M ont présenté des Δt négatifs (Annexe).

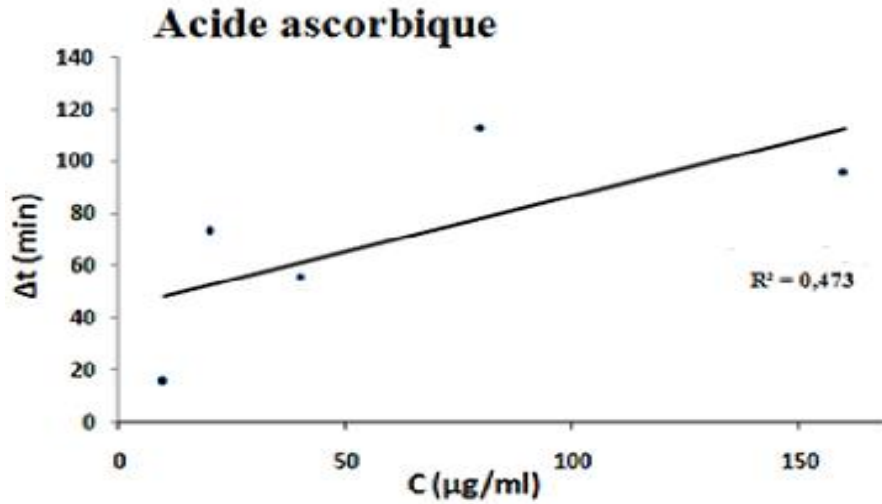


Figure 37: la corrélation linéaire étudiée entre les concentrations testées et les valeurs Δt d'acide ascorbique.

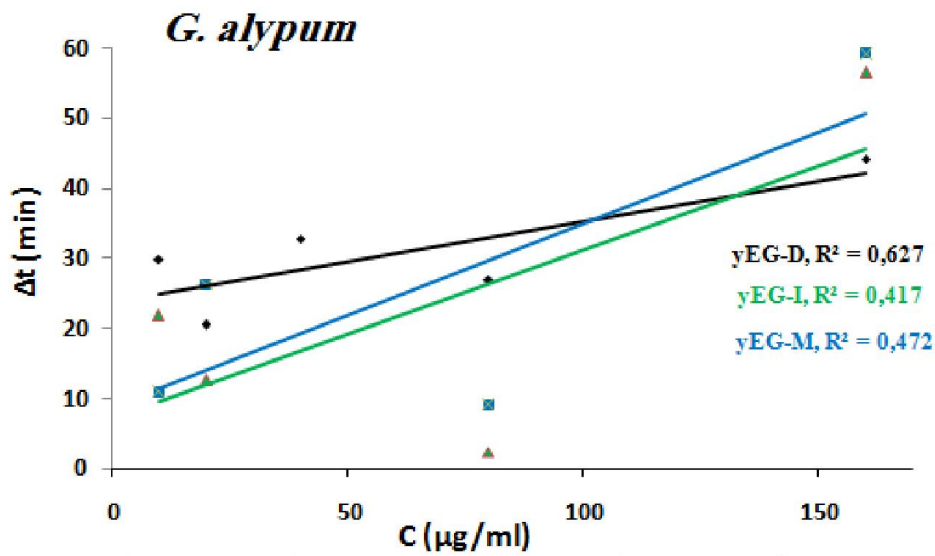


Figure 38: la corrélation linéaire étudiée entre les concentrations testées et les valeurs Δt des extraits bruts de la partie aérienne de *G. alypum*; Extraits bruts de *G. alypum*: **EG-D**: extrait préparé par décoction, **EG-I**: extrait préparé par infusion, **EG-M**: extrait préparé par macération

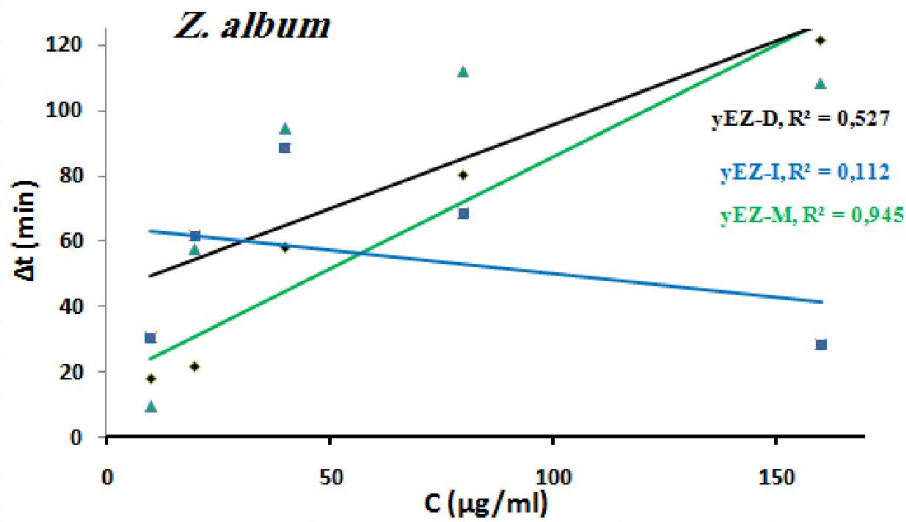


Figure 39: la corrélation linéaire étudiée entre les concentrations testées et les valeurs Δt des extraits bruts de la partie aérienne de *Z. album*; Extraits bruts de *Z. album*: **EZ-D**: extrait préparé par décoction, **EZ-I**: extrait préparé par infusion, **EZ-M**: extrait préparé par macération

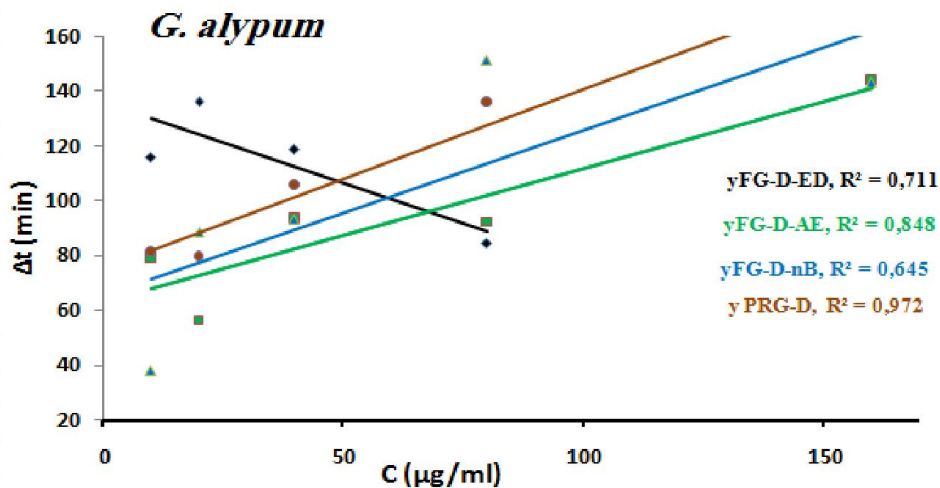


Figure 40: la corrélation linéaire étudiée entre les concentrations testées et les valeurs Δt des fractions préparées par décoction de *G. alypum*. Fractions d'extraits bruts de *G. alypum* préparées par décoction **FG-D-ED**: fraction d'éther diéthylique, **FG-D-AE**: fraction d'acétate d'éthyle, **FG-D-nB**: fraction de n-butanol et **PRG-D**: partie résiduelle aqueuse

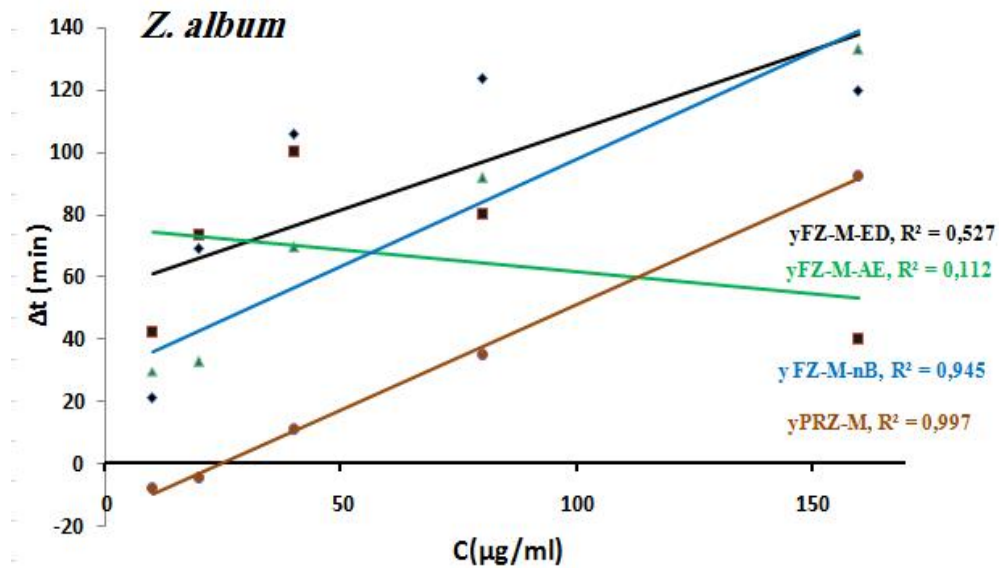


Figure 41: la corrélation linéaire étudiée entre les concentrations testées et les valeurs Δt des fractions préparées par décoction de *G. alypum*. Fractions d'extraits bruts de *Z. album* préparées par macération (**EZ-M**): FZ-M-ED: fraction d'éther diéthylique, FZ-M-AE: fraction d'acétate d'éthyle, FZ-M-nB: fraction de n-butanol et PRZ-M partie résiduelle aqueuse.

3.3 Evaluation d'effet antidiabétique

3.3.1 L'effet inhibiteur de l'enzyme α -amylase

Les extraits bruts aqueux de la partie aérienne de *G. alypum* et *Z. album* et leurs fractions éther diéthylique, acétate d'éthyle et n-butanol sont testés pour la recherche de leurs effets inhibiteur vis-à-vis α -amylase,

Pour ce faire, des courbes des pourcentages d'inhibition en fonction de l' α -amylase en fonction des différentes concentrations d'extraits ou des fractions, ont été tracées (Fig. 42 et 43), comparées à celle de l'Acarbose (contrôle positif) (Fig. 44).

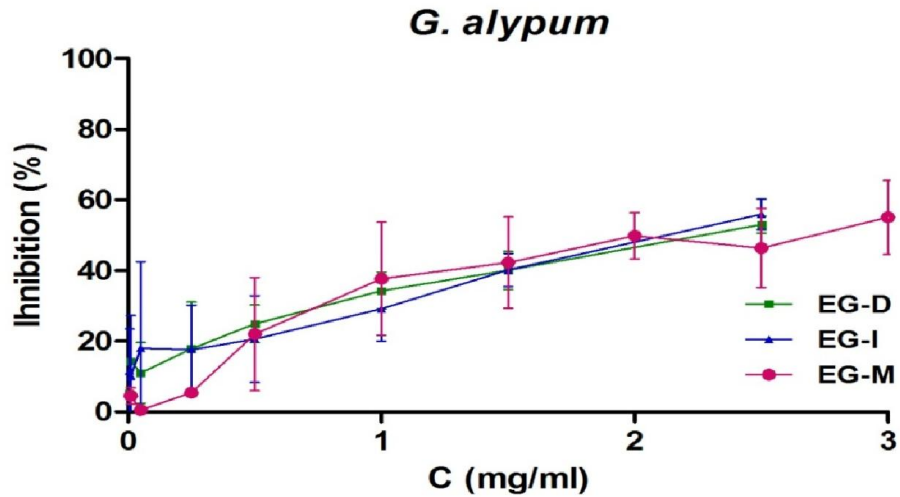


Figure 42: Représentation des pourcentages d'inhibition de l' α -amylase en fonction des différentes concentrations des extraits bruts aqueux de la partie aérienne de *G. alypum*. Extraits bruts de *G. alypum*: **EG-D** extrait brut préparé par décoction, **EG-I** extrait brut préparé par infusion **EG-M** extrait brut préparé par macération.

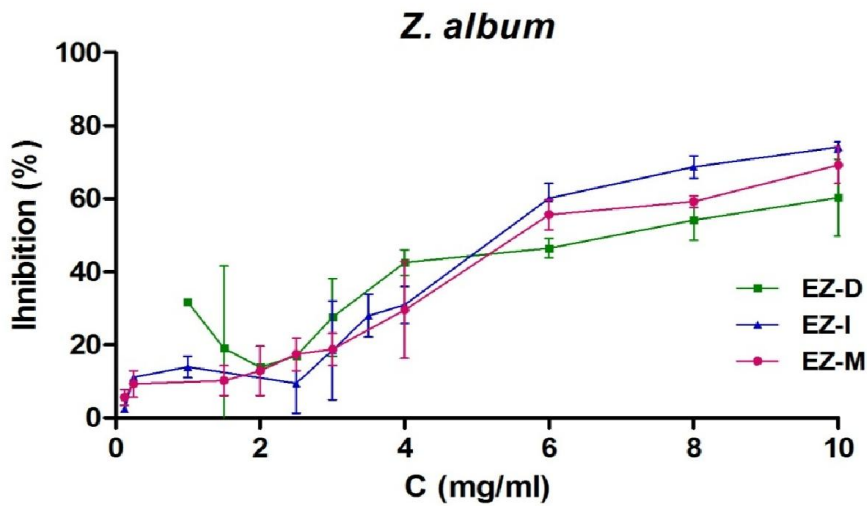


Figure 43: Représentation des pourcentages d'inhibition de l' α -amylase en fonction des différentes concentrations des extraits bruts aqueux de la partie aérienne de *Z. album*. Extraits bruts de *Z. album*: **EZ-D** extrait brut préparé par décoction, **EZ-I** extrait brut préparé par infusion, **EZ-M** extrait brut préparé par macération.

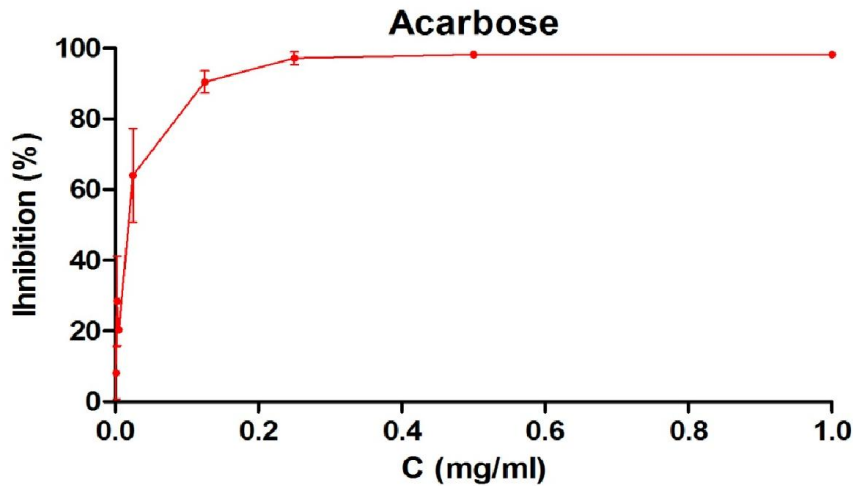


Figure 44: Représentation des pourcentages d'inhibition de l' α -amylase en fonction des différentes concentrations d'Acarbose utilisé comme contrôle positif

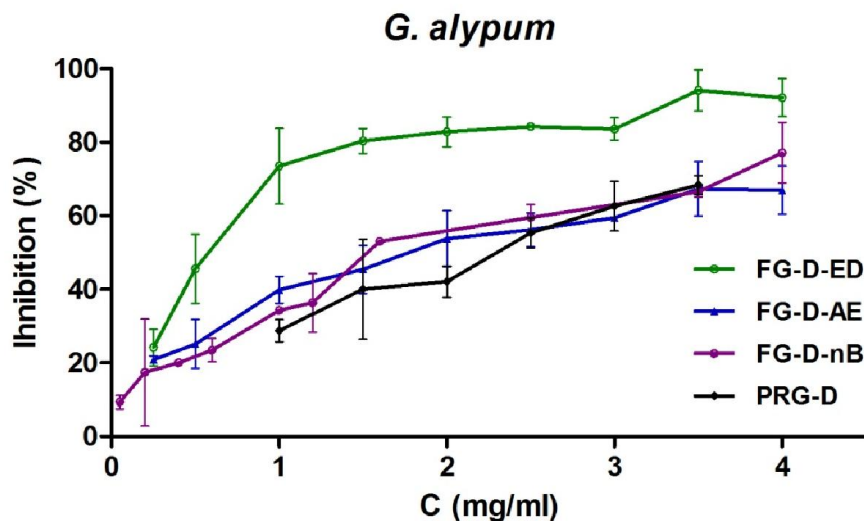


Figure 45: Représentation des pourcentages d'inhibition de l' α -amylase en fonction des différentes concentrations des fractions récupérées de l'extrait brut aqueux préparé par décoction de la partie aérienne de *G. alypum* comparé à celle de l'acarbose. Fractions des extraits bruts de *G. alypum* préparées par décoction (EG-D): Fraction éther diéthylique (FG-D-ED), fraction acétate d'éthyle (FG-D-AE), Fraction n-butanol (FG-D-nB) et phase résiduelle aqueuse (PRG-D).

D'après les résultats obtenus des courbes d'inhibition en fonctions des concentrations d'extraits et fractions étudiés, les extraits bruts de *G. alypum* ont présenté un pourcentage d'inhibition maximal de 60%, enregistré à une concentration de 2,5 mg/ml. De même, les extraits bruts de *Z. album* ont présenté une inhibition allons jusqu'à 75% à 10 mg/ml. Cette activité est considérée faible par rapport à celle de l'Acarbose qui a marqué un pourcentage d'inhibition maximal de 98% à 1mg/ml (Fig. 44).

Les résultats de CI_{50} (la concentration nécessaire pour l'inhibition de 50% de l'activité enzymatique) sont déterminés à partir des équations de régression logarithmique des courbes tracées. Ils sont illustrés sous forme des histogrammes (Fig. 46).

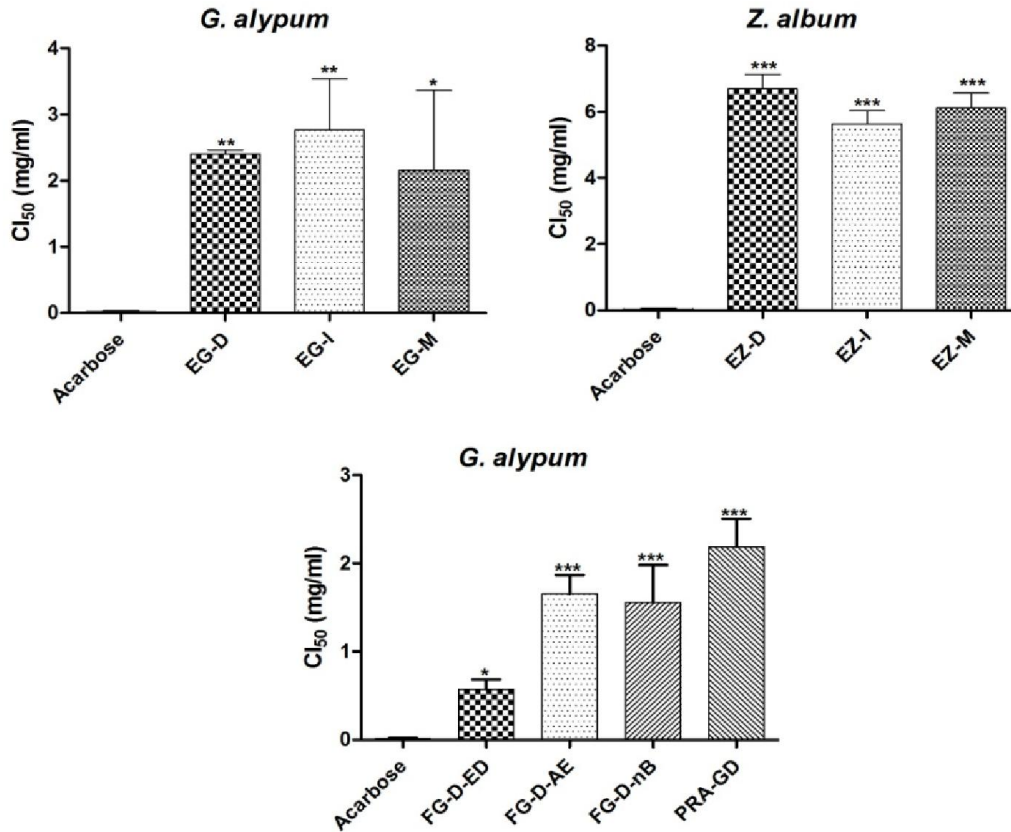


Figure 46: histogrammes des concentrations inhibitrices CI_{50} des différentes concentrations des extraits bruts et des fractions préparés de la partie aérienne du *G. alypum* et *Z. album* comparé contre l'acarbose. Les valeurs sont exprimées en moyennes \pm écart type ($n=3$). *: $p \leq 0,05$, **: $p \leq 0,01$ et *** $p \leq 0,001$.

Selon les histogrammes illustrés dans la figure 46, la fraction d'éther diéthylique récupérée par fractionnement liquide-liquide de l'extrait brut de *G. alypum* préparé par décoction (FG-D-ED) a présenté un effet d'inhibition vis-à-vis l' α -amylase très important par rapport aux autres extraits bruts et fractions ($CI_{50} = 0,57 \pm 0,05$ mg/ml). Cette inhibition reste faible et peu significative ($P < 0,05$) par rapport à celle d'Acarbose ($CI_{50} = 0,012$ mg/ml).

Par ailleurs, des CI_{50} très significativement ($P < 0,001$), par rapport à celle de l'Acarbose, ont été enregistrés pour les extraits bruts de *Z. album* (CI_{50} entre 5,63 et 6,69mg/ml)

Les résultats de CI_{50} , des fractions de *Z. album* ont présenté un effet inhibiteur très faible. Les concentrations testées n'ont pas permis de calculer les CI_{50} (une inhibition de 40% a été enregistrée à 5mg/ml, concentration utilisée comme concentration maximale).

3.3.2 L'effet inhibiteur de l'enzyme α -glucosidase

Dans cette technique, seules les fractions récupérées par décantation liquide-liquide des extraits bruts préparés des deux plantes sont testées. Les résultats sont présentés sous forme des courbes de pourcentage d'inhibition de l' α -glucosidase en fonction des différentes concentrations des fractions testés (Fig. 47, 48 et 49), comparées à celle de l'Acarbose (contrôle positif) et de la Quercétine.

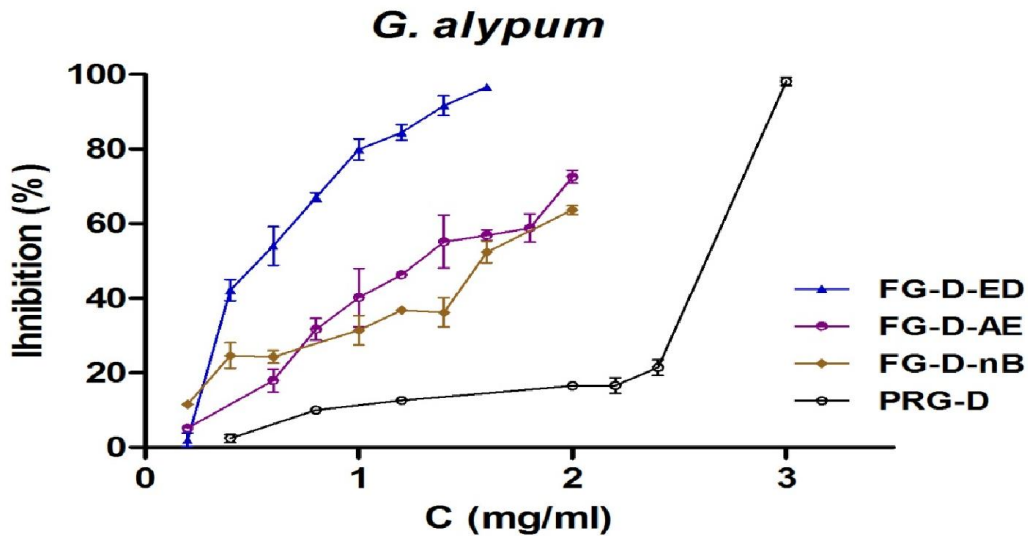


Figure 47: Courbes des pourcentages d'inhibition d' α -glucosidase en fonction des différentes concentrations des fractions de *G. alypum*. Fractions des extraits bruts de *G. alypum* préparées par décoction (EG-D): Fraction éther diéthylique (FG-D-ED), fraction acétate d'éthyle (FG-D-AE), Fraction n-butanol (FG-D-nB) et phase résiduelle aqueuse (PRG-D).

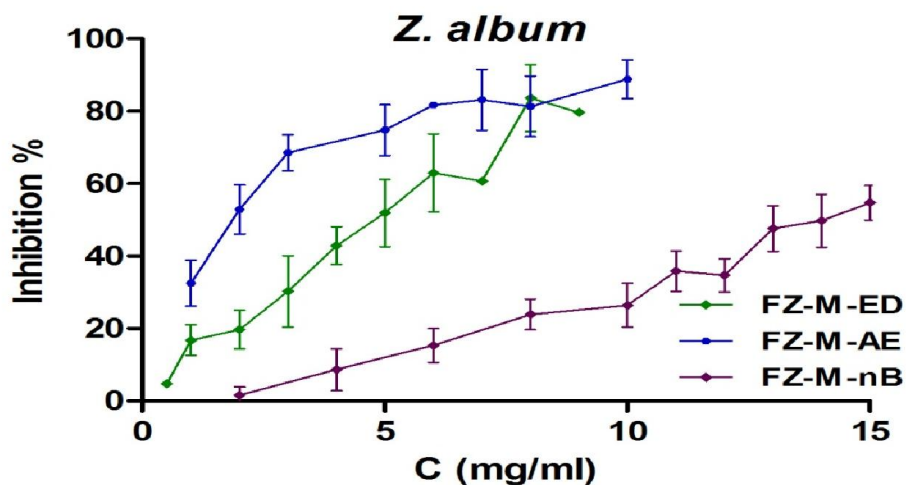


Figure 48: Courbes des pourcentages d'inhibition d' α -glucosidase en fonction des différentes concentrations des fractions de *Z. album*. Fractions des extraits bruts de *Z. album* préparées par macération (EZ-M): Fraction éther diéthylique (FZ-M-ED), fraction acétate d'éthyle (FZ-M-AE), Fraction n-butanol (FZ-M-nB).

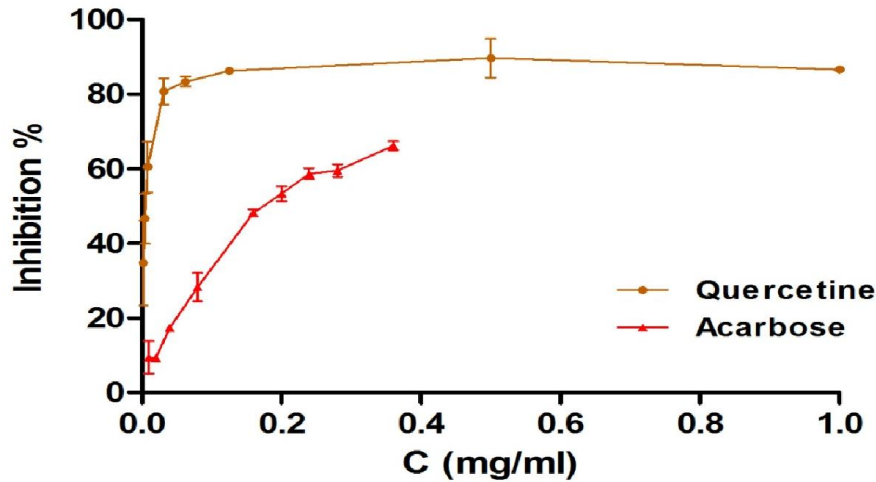


Figure 49: Courbes des pourcentages d'inhibition d' α -glucosidase en fonction des différentes concentrations d'Acarbose et quercétine.

L'histogramme illustré au-dessous (Fig. 50) présente clairement la différence entre les CI_{50} de chaque fraction comparée par rapport à l'Acarbose ou la Quercétine.

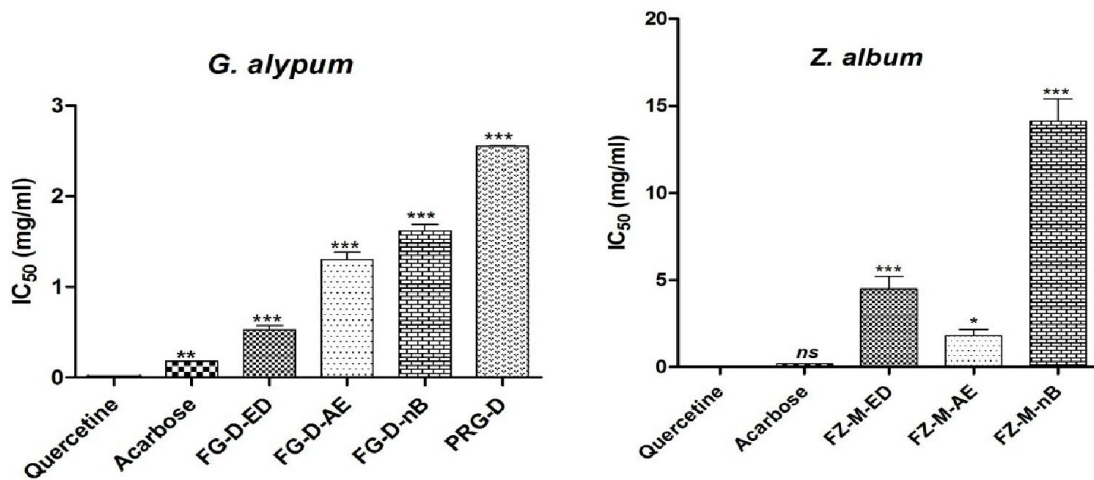


Figure 50: Histogramme présentatif une comparaison d' CI_{50} de différentes fractions de *G. alypum* et *Z. album* par rapport à celle de la Quercétine. Les valeurs sont les moyens de 3 répétitions $n=3$. *: $p \leq 0,05$, ***: $p \leq 0,001$, *ns*= non significatif.

La fraction d'éther diéthylique récupérée après fractionnement liquide-liquide de l'extrait brut préparé par décoction de *G. alypum* (FG-D-ED) a présenté un effet puissant vis-à-vis l'activité enzymatique de l' α -glucosidase comparant aux autres fractions de *G. alypum* (CI_{50} d'ordre de $0,52 \pm 0,02$ mg/ml). Ces activités inhibitrices restent faible, par rapport à celle de l'Acarbose et la Quercétine (CI_{50} d'ordre de $0,180 \pm 0,001$ mg/ml et $0,004 \pm 0,001$ mg/ml, respectivement).

De même, l'effet de la fraction acétate d'éthyle récupérée de l'extrait brut préparé par macération de *Z. album* (FZ-M-AE) sur l'action d' α -glucosidase a montré une inhibition très importante avec une CI_{50} d'ordre de $1,8 \pm 0,21$ mg/ml. Cette activité est faible par rapport à celle de l'Acarbose et la Quercétine (Fig. 50)

Selon les concentrations étudiées (6-30mg/ml), de la phase résiduelle de *Z. album* (PRZ-M) n'a pas présenté une activité inhibitrice de l' α -glucosidase, où la concentration maximale a montré une inhibition maximale de 35% d'effet inhibiteur d'enzyme.

L'étude statistique sur les fractions de *G. alypum*, a donné des valeurs de CI_{50} variable statistiquement et très significatifs ($P < 0,001$) par rapport à celle de la Quercétine

Tandis que la valeur de CI_{50} de la fraction acétate d'éthyle de *Z. album* (FZ-M-AE) est en augmentation statistiquement peu significative ($P < 0,05$), contrairement aux autres fractions qui ont présenté une variation très significative ($P < 0,001$), par rapport aux valeurs de CI_{50} des témoins positifs.

Discussion

Récemment, l'utilisation des plantes devient de plus en plus intéressante, partout dans le monde, soit dans le domaine industriel, pharmaceutique, cosmétique ou thérapeutique. La phytothérapie a aidé de développer des principes actifs et des médicaments à base de plantes utilisées dans le traitement des maladies. De nombreux chercheurs sont dirigés vers la valorisation des plantes médicinales afin de les identifier et les caractériser (Talbi et al., 2015). Dans ce contexte, plusieurs plantes médicinales utilisées pour le traitement du diabète sucré ont été recensées (Azzi et al., 2012; Chinsebu, 2018; Hamza et al., 2019).

Dans notre laboratoire, des nouvelles études sur les plantes médicinales dans la région de Tlemcen et la valorisation de ses activités ont été étudiés, nous citons les travaux de Adida et al., 2014; Bechiri et al., 2015; Chekroun et al., 2015; Chekroun et al., 2016; Adjdir et al., 2019, Moderas et al., 2019).

Globularia alypum et *Zygophyllum album* sont des plantes médicinales spontanées, utilisées dans le traitement de diabète. Elles sont utilisées non seulement par la population algérienne, mais aussi par la population tunisienne et marocaine (Mnafgui et al., 2016; Wannas et Marzouk, 2016; Idm'hand et al., 2020). Des études *in vitro* et *in vivo* ont confirmé leurs utilisations traditionnelles pour le traitement du diabète sucré (Jouad et al., 2002; Es-Safi et al., 2007; Ksouri et al., 2013 et Mnafgui et al., 2016).

Notre travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation de la flore locale d'intérêt thérapeutique, utilisée en médecine traditionnelle pour le traitement du diabète sucré ou ses symptômes. Il se base sur la recherche des effets antioxydants et l'évaluation de l'effet inhibiteur vis-à-vis de l' α -amylase et de l' α -glucosidase des extraits bruts et riche en polyphénols, préparés de la partie aérienne *Globularia alypum* et *Zygophyllum album*.

La méthode d'extraction de Markham, 1982 suivis dans cette étude est basé sur l'utilisation des solvants organiques d'une polarité croissante pour solubiliser le maximum des molécules bioactifs selon leurs solubilités dans le milieu utilisé. Les solvants utilisés dans l'extraction des fractions sont: l'éther de pétrole qui sert à éliminé les lipides, les cires et surtout les chlorophylles, l'éther diéthylique qui permet de solubiliser les flavonoïdes aglycones et les aglycones méthoxylés et les molécules soluble dans cette faible polarité, l'acétate d'éthyle qui sert à séparer les flavonoïdes mono-glucosides et certaines molécules solubles dans ce solvant et le n-butanol qui permet de récupérer les molécules soluble dans ce solvant et les flavonoïdes di et tri-glucosides (Kebieche, 2009)

Dans ce contexte, les extraits bruts aqueux préparés par trois méthodes d'extractions (Décoction, infusion et macération) et leurs fractions (éther diéthylique, acétate d'éthyle et n-butanol) de la partie aérienne des deux plantes, ont été préparés.

Les résultats du rendement d'extraction des extraits bruts de *G. alypum* et *Z. album* ont présenté des pourcentages peu variables entre 16,2% et 19,6% pour les extraits bruts de *G. alypum* et 12,8% et 13,6% pour les extraits bruts de *Z. album*. Cette différence est due à des facteurs multiples tels que l'espèce et la famille de la plante, la méthode et la température d'extraction (Su et al., 2006).

Les fractions, obtenues après fractionnement liquide-liquide des extraits bruts, ont présenté des rendements variables. La méthode d'extraction, la solubilité et la polarité des composants vis-à-vis les solvants utilisés, l'espèce végétale étudiés, la partie étudiés, lieu et la période de récolte sont les principaux facteurs responsables de cette variété (Bousoualim et al., 2016).

Le screening phytochimique réalisé sur les extraits bruts aqueux préparés de la partie aérienne des deux plantes nous a permis de caractériser de nombreuses familles des molécules bioactives. La partie aérienne de *G. alypum* a révélé une richesse de cette plante en composés phénoliques (les flavonoïdes, les tanins, les quinones libre), en terpénoïdes, en saponines et en composés réducteurs. La présence des composés phénoliques est confirmée par les résultats rapportés dans les travaux d'Amessis-Ouchemoukh et al., 2014. Par contre, la partie aérienne de *Z. album* a révélé la richesse de cette plante en composé terpéniques (majoritairement les saponines), en composés réducteurs et en faible quantité en composés phénoliques. Ce résultat est confirmé par l'étude de Ksouri et al., 2013.

Le dosage des polyphénols totaux (composés phénoliques, flavonoïdes et tannins) a permis de confirmer quantitativement la richesse des extraits bruts de la partie aérienne *G. alypum* en composés phénoliques. L'extrait brut de *G. alypum* préparé par décoction a présenté la teneur la plus élevée en composés phénoliques ($196,5 \pm 10,76 \mu\text{g EAG/mg E}$, $228,79 \pm 11,71 \mu\text{g EC/mg E}$, $23,36 \pm 11,71 \mu\text{g EC/mg E}$, respectivement pour le dosage des polyphénols, des flavonoïdes et des tanins condensés). De même, la fraction organique éther diéthylique de cette plante (FG-D-ED) a enregistré les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux et en flavonoïdes d'ordre de $331,88 \pm 17,80 \mu\text{g EAG/mg E}$ et $223,46 \pm 2,37 \mu\text{g EC/mg E}$, respectivement.

Des travaux réalisés par Amessis-Ouchemoukh et al., 2014; Boussoualim et al., 2016; Feriani et al., 2017 et Asraoui et al., 2021, sur des extraits de cette plante préparés par

différentes méthodes d'extractions, ont enregistré des résultats variables par rapport aux résultats exprimés dans notre travail.

Dans cette étude *Z. album* est considéré moins riche en polyphénols et flavonoïdes que *G. alypum*. Nous avons enregistré des teneurs faibles en composés phénoliques pour les différents extraits et fractions préparés de la partie aérienne de *Z. album*. Les teneurs en polyphénols totaux n'ont pas dépassé 30,41 µg EAG/mg E pour les extraits bruts et 30,41 ± 2,15 µg EAG/mg E pour les fractions.

Ces résultats sont très importantes à celui obtenus par l'extrait hydro-éthanolique de *Z. album* préparé par macération dans l'étude rapporté par Belguidoum et al., 2015. Il est noté que la température élevée utilisée dans les méthodes d'extractions (décoction), aide à extraire plus de composants, tandis que la macération présente la mode d'extraction qui assure l'extraction des composants actifs.

Plusieurs facteurs peuvent influencer sur la teneur en composés phénoliques. Plusieurs études ont montré que le lieu de récolte, degré de maturité de la plante, la partie utilisée, les facteurs génétiques et également la durée de stockage, le mode et le solvant d'extraction, ont une forte influence sur la qualité et la quantité en polyphénols (Hamia et al., 2014; Belguidoum et al., 2015).

L'analyse par HPLC a permis d'identifier quelques acides phénoliques et flavonoïdes pour les fractions d'éther diéthylique et d'acétate d'éthyle des deux plantes. Les résultats obtenus ont montré la richesse de la fraction FG-D-ED en composés phénoliques.

Nous avons noté la présence de 5 types de composés phénoliques réparti en acides phénoliques (acide gallique, acide p-coumarique) et flavonoïdes (quercétine, naringenine et rutine) pour la fraction éther diéthylique (FG-D-ED) de *G. alypum*; et 3 types de composés phénoliques: l'acide gallique, l'acide syringique et un flavonol (quercétine) pour la fraction éther diéthylique (FZ-D-ED) de *Z. album*. A noté que l'acide férulique a été présent seulement dans la fraction acétate d'éthyle (FG-D-AE) de *G. alypum*. La différence de polarité des solvants et le mode d'extraction (décoction et macération) expliquent le type et le nombre des molécules solubles dans chaque solvant.

La richesse en composés phénoliques a été rapporté par les analyses effectuées par HPLC sur des extraits préparés de *G. alypum* (Es-safi et al., 2007; Feriani et al., 2017 et Asraoui et al., 2021). De plus, une autre étude a permis de détecter la présence de flavone, flavonol, flavanone, dérivé de flavon-3-ols et d'autres par des analyses d'HPLC réalisés sur *G. alypum*

(Amessis-Ouchemoukh et al., 2014). La même étude a rapporté la présence des dérivés rhamnoside, malvidin et quercétine dans des extraits de *Z. album*. Ces études confirment la dominance de la quercétine dans les analyses HPLC effectuées sur ces deux plantes.

Les composés phénoliques sont considérés comme des antioxydants puissants. L'activité antioxydante est due principalement à la nature de composés bioactifs, sa concentration, ses interactions moléculaires et principalement à sa structure chimique (Maurya et Devasagayam, 2010; Asnaashari et al., 2014; Tsao, 2015). Selon les données obtenues par notre étude effectué sur des extraits/ fractions de *G. alypum* et *Z. album*. Seulement les fractions d'éther diéthylique des deux plantes qui sont très riche en composés phénoliques ont présenté des effets antioxydants remarquable comparant aux autres échantillons. Ses composés phénoliques ont la tendance à piéger les radicaux présentés par le radical DPPH et les transférer à un composant équilibré; comme ils peuvent réduire les électrons libres des molécules réactifs comme le Fer (pouvoir réducteur de Fer: FRAP). De plus, la quantité et la qualité des composants phénoliques observés dans l'analyse d'HPLC confirment ces résultats.

La présence des molécules OH portées par les C des noyaux pyrane des composés phénoliques et la nature des fonctions portées par les C (hydroxyle, carboxyle ou sucre) jouent un rôle essentiel dans la puissance d'activité antioxydante. Parmi ces molécules nous citons la quercétine (OH porté par C3, C5, C7, C3' et C4'), la rutine (la même substitution des OH et un sucre porté par C3) (des flavonol) et un flavanone de nature naringenine (OH porté par C5, C7 et C4'), ainsi que l'acide gallique (OH porté par C1, C2 et C3) et l'acide *p*-coumarique qui est caractérisé par une absence de fonction hydroxyl sur sa structure de base (OH seulement porté par l'anneau pyrane C2) (Chaudhuri et al., 2007; Swapnil et al., 2014).

La fraction éther diéthylique (FG-D-ED) de *G. alypum*, riche en quercétine, l'acide syringique et la rutine a montré une meilleure activité antiradicalaire (CI₅₀ d'ordre de 20,54 ± 0,48µg/ml) et un meilleur pouvoir réducteur en Fer (CE₅₀ d'ordre de 0,51 ± 0,07mg/ml), plus fort que les autres extraits/fractions. Ces activités restent toujours faibles, par rapport à celle de l'acide ascorbique (CI₅₀ = 3,74 ± 0,11µg/ml et CE₅₀ = 0,079 ± 0,001mg/ml).

Les résultats obtenus dans notre étude pour *G. alypum* sont très supérieurs à celui publiés par Es-safi et al., 2007; Asraoui et al., 2021. Tandis que celle obtenus pour *Z. album* sont inférieurs à celui rapporté par Belguidoum et al., 2015.

Le globule rouge est un moyen biologique très utile grâce à sa manipulation et sa récupération facile par un simple prélèvement sanguin et l'absence de noyau et des organites.

Il contient un système de défense comprenant des enzymes antioxydant et d'autres non enzymatiques. Il est utilisé dans notre étude pour la recherche d'effet antihémolytique des extraits/ fractions de *G. alypum* et *Z. album*. L'attaque radicalaire est induite après incubation des érythrocytes avec une concentration d'AAPH qui provoque une cascade de peroxydation lipidique et oxydation protéique qui se termine par une libération excessive des espèces réactifs (Sato et *al.*, **1995**). Cet état de stress oxydatif déclenche un système de défense endogène permet à la cellule de résister par ses propres moyens de défense contre les espèces réactives d'oxygènes.

L'acide ascorbique et l' α -tocophérol sont des antioxydants endogènes par excellence peuvent interagir avec les antioxydants exogènes comme les flavonoïdes pour exercer une meilleure protection contre la lyse érythrocytaire (Chaudhuri et *al.*, **2007**). La présence des molécules bioactives tels que les polyphénols, peuvent servir à protéger les cellules contre l'attaque radicalaire et retarder l'hémolyse oxydative (Niki et *al.*, **1998**; Kandikattu et *al.*, **2015**). Il est noté que les flavonoïdes exercent ses effets soit par l'augmentation de la concentration intracellulaire de glutathion (GSH), ou le blocage d'afflux de Ca^{+2} soit par le piégeage des radicaux libres et la chélation des métaux lourds (Gitika et *al.*, **2006**). De même, dans le cas d'hémolyse oxydative, les composés phénoliques ont la tendance d'interagir avec le radical AAPH et/ou les protéines extra et transmembranaire pour augmenter l'effet protecteur des antioxydants contre les espèces radicalaires (Tsao, **2015**).

A partir des résultats obtenus dans notre étude, les concentrations des extraits bruts testés de *G. alypum* ont montré des effets protecteurs d'hémolyse contre l'attaque radicalaire expliquée par les valeurs d' HT_{50} qui sont supérieurs à celui du témoin, Ces résultats sont presque similaires à celui obtenu par Bousoualim et *al.*, **2016**. A des concentrations élevées (80 $\mu\text{g/ml}$ et 160 $\mu\text{g/ml}$), les extraits bruts de *Z. album* ont présenté, aussi, un retardement d'hémolyse qui lui permet d'avoir une certaine puissance vis-à-vis l'attaque radicalaire. Par ailleurs, toutes les fractions de *G. alypum* possèdent un effet protecteur contre l'hémolyse oxydative, cette activité a présenté des valeurs d' HT_{50} égaux ou supérieurs à celle d'acide ascorbique.

La phase résiduelle PRG-D est la fraction la plus puissante qui a montré à 160 $\mu\text{g/ml}$ des effets élevés à celle d'acide ascorbique. Ces résultats sont plus importants que ceux rapporté par Bousoualim et *al.*, **2016**.

L'analyse qualitative et quantitative des fractions de *G. alypum* par HPLC a noté l'existence de quercétine et rutine comme des antioxydants très puissants (Kessler et al, 2002; Ghorbani, 2017). Leurs richesses en fonction hydroxyl et composés réducteurs peuvent être responsable d'activité antihémolytique enregistrée par *G. alypum*.

Par contre, les résultats obtenus par les fractions de *Z. album* sont considérés moins puissant à celui présentés par *G. alypum*. La présence d'acide syringique dans les fractions de *Z. album* (une structure riche en fonction OCH₃) a la tendance de former des complexes en présence des métaux (Fe (SA)₂ et Fe (SA)₃), ce qui peuvent diminuer l'activité antioxydante contre l'hémolyse oxydative des hématies (Kumar et al., 2020).

La recherche d'activité antidiabétique a été étudiée par l'évaluation de l'effet inhibiteur des extraits/fractions préparés des deux plantes sur les enzymes intestinales α -amylase et α -glucosidase.

Selon les résultats obtenus, la quercétine a présenté un effet inhibiteur puissant avec une CI₅₀ d'ordre de 0,004mg/ml très proche à celle de l'Acarbose (CI₅₀ d'ordre de 0,180mg/ml). Les extraits bruts préparés des deux plantes ont enregistré des concentrations inhibitrices (CI₅₀) élevées vis-à-vis l' α -amylase comprise entre 2,4 et 6,69 mg/ml. Alors que, la fraction FG-D-ED a marqué un effet inhibiteur des enzymes α -amylase et α -glucosidase remarquable avec des CI₅₀d'ordre de 0,57 et 0,52mg/ml, respectivement.

D'après la littérature, une combinaison entre les groupements cétoniques insaturés et les fonctions hydroxyles des flavonoïdes peut être responsable de la plupart des activités biologiques, soit anticancéreuses, antimicrobiennes, cytoprotectives, antioxydants et antidiabétiques (Unnikrishnan et al., 2014). Par ailleurs, les composés phénoliques portant des groupements hydroxyle confèrent une activité inhibitrice de l' α -amylase et de l' α -glucosidase. Il a été démontré que la quercétine et la catéchine agissent comme des inhibiteurs compétitifs vis-à-vis les deux enzymes digestives α , et par conséquent elles peuvent diminuer la glycémie postprandiale (Calhau et al., 2014, Kandra et al., 2004).

De même, des études ont montré que le rutine, quercétine, naringenine, chrysine et d'autres sont considérés comme des contrôleurs par excellence du diabète sucré (Unnikrishnan et al., 2014).

Conclusion

et

Perspectives

L'utilisation des plantes médicinales ne cessent pas à croître partout dans le monde. Plusieurs études sont publiées sur l'identification de nouvelles plantes, sur la caractérisation des nouvelles molécules bioactives et sur l'évaluation et la recherche de nouvelles activités biologiques. Depuis plusieurs années, les chercheurs ont confirmé l'importance de l'utilisation des plantes grâce à ses constituants bioactifs, principalement les composés phénoliques. Ces antioxydants puissants exercent leur effet en minimisant le déséquilibre provoqué par le stress oxydatif responsable de la propagation de plusieurs maladies telles que le diabète sucré.

Dans cette étude nous nous sommes intéressés à deux plantes utilisées traditionnellement par la population algérienne pour le traitement du diabète sucré, *Globularia alypum* et *Zygophyllum album*, dont le but est de rechercher leurs effets antioxydants et évaluer leurs activités antidiabétiques par inhibition des enzymes intestinales.

A la lumière des travaux réalisés et les résultats obtenus, nous avons conclu que :

- Le rendement d'extraction des extraits bruts aqueux préparés de la partie aérienne de *Globularia alypum* et *Zygophyllum album* est variable (entre 12,8-19,6%)
- Les rendements d'extractions obtenus par fractionnement d'extrait aqueux préparé par décoction de *Globularia alypum* et par macération de *Zygophyllum album* sont plus faibles.
- Le screening phytochimique a indiqué la présence de divers groupes de composés phytochimiques dans les extraits bruts préparés par infusion, décoction ou macération de la partie aérienne de *G. alypum* et de *Z. album*.
- La partie aérienne de *G. alypum* est une plante riche en composés phénoliques (flavonoïdes, tanins et quinones libre), en terpénoïdes, en saponines et en composés réducteurs. Par contre, la partie aérienne de *Z. album* a révélé la richesse de cette plante en composé terpéniques (majoritairement les saponines), en composés réducteurs et en faible quantité en composés phénoliques (flavonoïdes, les quinones libre et Coumarines) ;
- Le dosage des composés phénoliques a démontré que tous les extraits et fractions étudiés ont renfermé des teneurs considérables en ces composés.
- D'après le dosage des composés phénoliques, les extraits bruts préparés de la partie aérienne du *G. alypum* ont présenté des teneurs élevées en polyphénols totaux (entre

- 196,5 ± 10,76 et 134,82 ± 7,05 µg EAG/mg E), par rapport aux extraits bruts préparés de la partie aérienne du *Z. album* (entre 30,41 ± 2,01 et 22,88 ± 6,76 µg EAG/mg E).
- L'extrait brut aqueux préparé par décoction du *G. alypum* a enregistré la teneur la plus élevée en flavonoïdes, d'ordre de 228,79 ± 11;
 - Les fractions éther diéthylique des deux plantes étudiées ont présenté des teneurs plus élevées en polyphénols totaux et en flavonoïdes d'ordre de 331,88 ± 17,80 µg EAG/mg E et 223,46 ± 2,37 µg EC/mg E et 30,41 ± 2,15 µg EAG/mg E et 85,42 ± 1,39 µg EC/mg E, pour les fractions obtenues à partir de l'extrait brut aqueux préparé par décoction de *G. alypum* et par macération de *Z. album*, respectivement;
 - La quercétine, la rutine et la naringénine, l'acide p-coumarique et l'acide gallique sont les principaux composés phénoliques détectés dans la fraction d'éther diéthylique de l'extrait brut aqueux préparé par décoction de *G. alypum*, après une analyse chromatographique RP-HPLC-PDA.
 - L'acide gallique, l'acide syringique et la quercétine sont les seuls composés phénoliques détectés, après une analyse chromatographique RP-HPLC-PDA, dans les fractions d'éther diéthylique et acétate d'éthyle de l'extrait brut aqueux préparé par macération de *Z. album*.
 - Tous les extraits et fractions préparés de la partie aérienne de *G. alypum* et de *Z. album* ont présenté un degré variable de piégeage des radicaux libres DPPH et de réduction du fer. Les fractions récupérées à partir des extraits bruts aqueux préparés par décoction à partir de la partie aérienne du *G. alypum*, ont enregistré l'activité antioxydante la plus puissante. La fraction éther diéthylique a présenté la plus haute capacité de piégeage des radicaux libres DPPH avec une CI₅₀ d'ordre de 20,54 ± 0,48 µg/ml et le meilleur pouvoir de réduction de fer, avec une CE₅₀ d'ordre de 280 ± 0,04 µg/ml.
 - Les extraits de *Z. album* ont présenté un effet protecteur d'hémolyse érythrocytaire plus élevé par rapport à celle de *G. alypum*. Cette activité reste faible en comparaison avec celle du contrôle positif (acide ascorbique).
 - Les fractions obtenues par fractionnement d'extrait aqueux préparé par décoction de *G. alypum* induisent une hémolyse oxydative retardée à celle des fractions obtenues par fractionnement d'extrait aqueux préparé par macération de *Z. album* à des concentrations faibles et élevées.

- Les différents extraits et fractions préparées des plantes étudiées ont présenté la capacité inhibitrice sur l'activité des enzymes α -amylase et α -glucosidase avec des valeurs de CI_{50} variables. Par ailleurs, la fraction acétate d'éthyle préparée par décoction à partir de la partie aérienne du *G. alypum*, a présenté l'activité inhibitrice la plus puissante vis-à-vis l'enzyme α -amylase et l' α -glucosidase, avec des CI_{50} d'ordre de $0,57 \pm 0,05\text{mg/ml}$ et $0,52 \pm 0,02\text{mg/ml}$, respectivement. Cette inhibition reste faible par rapport à celle d'acarbose ;

Les résultats obtenus, nous a permis de conclure que les activités antioxydante, antidiabétique et antihémolytique des deux plantes *G. alypum* et *Z. album* pourraient contribuer à ses bienfaits thérapeutiques traditionnellement revendiqués sur le diabète sucré et le stress oxydatif. Les fractions riches en polyphénols pourraient être considérées comme une source d'antioxydants naturels qui peut être valorisées pour la prévention et le traitement du diabète sucré et ses complications.

D'autres études sont suggérer pour approfondir cette étude, où nous citons en perspective:

- Identification, caractérisation, et séparation des différentes fractions des composés actifs par les méthodes d'analyses chimiques : Chromatographie sur colonne, HPLC, CPG, RMN,...;
- Recherche des effets toxiques aigus et chroniques des fractions séparées;
- Evaluation de l'activité antioxydante par d'autres méthodes: Etudier quelques enzymes impliquées dans le stress oxydatif: superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, catalase,...
- Recherche d'effet hypoglycémiant, antihyperglycémiant, antihyperlipidémiant d'extraits et des fractions séparés des plantes étudiées, sur les rats normaux et rendus diabétiques;
- Recherche de mécanisme d'action de ces extraits à l'échelle cellulaire: recherche de l'effet insulino-sécrétoire de ces extraits dans les îlots de Langerhans isolés, l'effet sur la captation du glucose par les tissus insulino-sensibles (adipocytes ou cellules hépatiques isolées);
- D'autres études sont nécessaires pour la recherche et l'évaluation de d'autres activités biologiques possible *in vitro* et *in vivo*.

Références

Bibliographiques

- ADA, A. diabetes association**, 2008. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care* 31, S55–S60. <https://doi.org/10.2337/dc08-S055>
- ADA, A. diabetes association**, 2005. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care* 28, 37–42.
- Adida, H., Frioui, A., Djaziri, R., Mezouar, D.**, 2014. In vitro antibacterial activity of *Pituranthos scoparius* from Algeria. *International Journal of Biology and Chemistry Sciences* 8, 2095–2108. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v8i5.15>
- Adjdir, S., Benariba, N., El haci, I.A., Ouffai, K., Bekkara, A.F., Djaziri, R.**, 2019. Antioxidant activity and phenolic compounds identification of *Micromeria inodora* (Desf) benth from western Algeria. *Natural products research* 35, 2963–2966. <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1678612>
- Agisho, H., Osie, M., Lambore, T.**, 2014. Traditional medicinal plants utilization, management and threats in hadiya zone, Ethiopia. *J. Med. Plants Stud* 2, 94–108.
- Ait Kaki, E.H., El-Okki, A., Djekrif-Dakhmouche, S., Bennamoun, L., Meraihi, Z.**, 2012. Utilisation de la planification expérimentale pour l'optimisation de l' α -amylase par *Rhizopusorysae*. *Revue de Microbiologie Industrielle Sanitaire et Environnementale* 6, 1–17.
- Al Disi, S.S., Anwar, M.A., Eid, A.H.**, 2016. Anti-hypertensive herbs and their mechanisms of action: part I. *Front. Pharmacol* 6, 323. <https://doi.org/10.3389/fphar.2015.00323>
- Alberti, K.G., Eckel, R.H., Grundy, S.M., Zimmet, P.Z., Cleeman, J.I., Donato, K.A., et al.**, 2009. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention in National Heart, Lung, and Blood Institute. American Heart Association. World Heart Federation. International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation* 120, 1640-5.
- Alqahtani, S.N., Alkholly, S.O., Ferreira, M.P.**, 2014. Antidiabetic and Anticancer Potential of Native Medicinal Plants from Saudi Arabia, in: *Polyphenols in Human Health and Disease*. United States of America, pp. 119–132.
- Alzaid, F., Julla, J.-B., Diedisheim, M., Potier, C., Potier, L., Velho, G., Gaborit, B., Manivet, P., Germain, S., Vidal-Trecau, T., Roussel, R., Riveline, J.-P., Dalmas, E., Venteclef, N., Gautier, J.-F.**, 2020. Monocytopenia, monocyte morphological anomalies and hyperinflammation characterise severe COVID-19 in type 2 diabetes. *EMBO Mol Med* 12, 1–12. <https://doi.org/10.15252/emmm.202013038>
- Amessis-Ouchemoukh, N., Abu-Reidah, I.M., Quirantes-Piné, R., Rodriguez-Pères, C., Madani, K., Fernandez-Gutiérrez, A., Seguar-Carretero, A.**, 2014. Tentative Characterisation of Iridoids, Phenylethanoid Glycosides and Flavonoid Derivatives from *Globularia alypum* L. (Globulariaceae) Leaves by LC-ESI-QTOF-MS. *Phytochem. Anal* 25, 389–398. <https://doi.org/10.1002/pca.2506>
- Andreasen, M.F., Christensen, L.P., Meyer, A.S.**, 2000. Content of phenolic acids and ferulic acid dehydrodimers in 17 rye (*Secale cereale*L.) varieties. *J. Agric. Food Chem* 48, 2837–2842.

- Archambeaud, F., Fougere, É.**, 2017. Spécificités du diabète de type 2 chez le sujet âgé. *Actualités pharmaceutiques* 42–46. <https://doi.org/10.1016/j.actpha.2017.09.031>
- Ardestani, A., Yazdanparast, R.**, 2007. Inhibitory effects of athl acetate extract of *Teucrium polium* in vitro protein glycolxydation. *Food and chemical toxicology* 45, 2402–2411.
- Arumugama, G., Manjulab, P., Paari, N.**, 2013. A review: anti diabetic medicinal plants used for diabetes mellitus. *J. Acute Dis* 2, 196–200. [https://doi.org/10.1016/S2221-6189\(13\)60126-2](https://doi.org/10.1016/S2221-6189(13)60126-2)
- Åsgård, R.**, 2014. Effects of antioxidants and pro-oxidants on oxidative stress and DNA damage using the comet assay. *Digital Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Pharmacy* 185.
- Ashcroft, F.M., Gribble, F.M.**, 1999. ATP-sensitive K⁺ channels and insulin secretion: their role in health and disease. *Diabetologia* 42, 903–919.
- Asnaashari, M., Farhoosh, R., Sharif, A.**, 2014. Antioxidant activity of gallic acid and methyl gallate in triacylglycerols of Kilka fish oil and its oil-in-water emulsion. *Food Chemistry* 00429–4. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.03.038>
- Asraoui, F., Kounnoun, A., El Cadi, H., Cacciola, F., Oulad El Majdoub, Y., Alibrando, F., Mandolino, F., Dugo, P., Mondello, L., Louajri, A.**, 2021. Phytochemical Investigation and Antioxidant Activity of *Globularia alypum* L. *mdpi molecules* 26, 1–12. <https://doi.org/10.3390/molecules26030759>
- Azam, M.N.K., Mannan, M.A., Ahmed, M.N.**, 2014. Medicinal plants used by the traditional medical practitioners of Barendra and Shamatat (Rajshahi and Khulna Division) Region in Bangladesh for treatment of cardiovascular disorder. *J Med Plants Stud* 2, 9–14.
- 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, 2041–2050. <https://doi.org/10.5897/JMPR11.1796>
- Balan, K., Ratha, P., Prakash, G., Viswanathamurthi, P., Adisakwattana, S., Palvannan, T.**, 2017. Evaluation of in vitro α -amylase and α -glucosidase inhibitory potential of N₂O₂ schiff base Zn complex. *Arabian Journal of Chemistry* 10, 732–738.
- Barkaoui, M., Katiri, A., Boubaker, H., Msanda, F.**, 2017. Ethnobotanical survey of medicinal plants used in the traditional treatment of diabetes in Chtouka Ait Baha and Tiznit (Western Anti-Atlas), Morocco. *Journal of Ethnopharmacology* 198, 338–350.
- Baskaran, K., Kizar Ahamath, B., Shanmugasundaram, K.R., Shanmugasundaram, E.R.B.**, 1999. Antidiabetic Effect Of A Leaf Extract From *Gymnema Sylvestre* In Non-Insulin-Dependent Diabetes Mellitus Patients. *Journul of Ethnopharmacology*, 30, 295–305.
- Bauduceau, B., Monnier, L.**, 2019. Impact des nouvelles classes d'antidiabétiques sur le risque cardiovasculaire dans le diabète de type 2, in: *Diabète et Maladies Cardiovasculaires*, 1. pp. 42–49.
- Bechiri, A., Chekroun, E., Azzi, R., Djaziri, R.**, 2015. In vitro evaluation of -amylaseinhibitory

- activity of some medicinal plants used in treatment of diabetes mellitus in Algeria and their effect on postprandial hyperglycemia in normal rats. *International Journal of Phytomedicine* 7, 171–175.
- Belguidoum, M., Dendougui, H., Kendour, Z.**, 2015. In vitro antioxidant properties and phenolic contents of *Zygophyllum album* L. from Algeria. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 7, 510–514.
- Belhadj, M., Abrouk, S., Nadir-Azirou, D., Gari, S., Nicolucci, A.**, 2016. Une clinique mobile pour évaluer le risque cardio-métabolique et détecter les complications du diabète en Algérie. *Médecine des Maladies Métaboliques* 10, 175–181.
- Bellesia, A., Verzelloni, E., Tagliazucchi, D.**, 2015. Pomegranate ellagitannins inhibit α -glucosidase activity in vitro and reduce starch digestibility under simulated gastro-intestinal conditions. *International research on food science and nutrition* 66, 85–92.
- Benarba, B., Belabid, L., Righi, K., Bekkar, A.A., Elouissi, M., Khaldi, A., Hamimed, A.**, 2015. Ethnobotanical study of medicinal plants used by traditional healers in Mascara (North West of Algeria). *Journal of Ethnopharmacology* 1–52. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.09.030>
- Bhushan, M.S., Rao, C.H.V., Ojha, S.K., Vijayakumar, M., Verma, A.**, 2010. An analytical review of plants for antidiabetic activity with their phytoconstituent & mechanism of action [J]. *Int J Pharm Sci Res* 1, 29–46.
- Blicklé, J.F., Andres, E., Brogard, J.M.**, 1999. Actualités dans les traitements du diabète de type 2. Les inhibiteurs des α glucosidases. *Rev Méd Interne* 20, 379–383.
- Bouasla, A., Bouasla, I.**, 2017. Ethnobotanical survey of medicinal plants in northeastern of Algeria. *Phytomedicine* 36, 68–81.
- Boudjelal, A., Henchiri, C., Sari, M., Sarri, D., Hendel, N., Benkhaled, A., Ruberto, G.**, 2013. Herbalists and wild medicinal plants in M'Sila (North Algeria): An ethnopharmacology survey. *Journal of Ethnopharmacology* 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.03.082>
- Boumerfeg, S., Baghiani, A., Messaoudi, D., Khennouf, S., Arrar, L.**, 2009. Antioxidant properties and xanthine oxidase inhibitory effects of *Tamus communis* L. root extracts. *Phytotherapy Research* 23, 283–288.
- Boussoualim, N., Krache, I., Baghiani, A., Trabsa, H., Aouachria, S., Arrar, L.**, 2016. Human Xanthine oxidase inhibitory effect, antioxidant in vivo of Algerian Germander extracts. *International journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research* 8, 645–650.
- Bouzabata, A.**, 2013. Traditional treatment of high blood pressure and diabetes in Soukahrass district. *J. Pharmacognosy and Phytother* 5, 12–20.
- Bratanova-Tochkova, T.K., Cheng, H., Daniel, S., Gunawardana, S., Liu, Y.-J., Mulvaney-Musa, J., Schermerhorn, T., Straub, S.G., Yajima, H., Sharp, G.W.G.**, 2002. Triggering and Augmentation Mechanisms, Granule Pools, and Biphasic Insulin Secretion. *Diabetes* 51, S83–S90.
- Brown, M.S., Goldstein, J.L.**, 2008. Selective versus total insulin resistance: a pathogenic paradox. *Cell Metab* 7, 95–6.

- Bruneton, J.**, 1999. Pharmacognosie-Phytochimie-plantes médicinales. Techniques médicinales, lavoicier. ed, 3^{ème} édition.
- Bruneton, J.**, 1993. Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales, 2^{ème} édition. ed. La Voisier TEC et DOC, Paris.
- Burks, D.J., White, M.**, 2001. IRS proteins and beta-cell function. *Diabetes*, 1 50, 140–5.
- Butler, A.E., Janson, J., Bonner-Weir, S., Ritzel, R., Rizza, R.A., Butler, P.C.**, 2003. β -Cell Deficit and Increased β -Cell Apoptosis in Humans With Type 2 Diabetes. *Diabetes* 52, 102–110. <https://doi.org/10.2337/diabetes.52.1.102>
- Calhau, C., Faria, A., Keating, E., Martel, F.**, 2014. Interaction of polyphenols with the Intestinal and Placental absorption of some nutrients and other compounds, in: *Polyphenols in Human Health and Disease*. United States of America, pp. 523–536.
- Canavan, R.J., Unwin, N.C., Kelly, W.F., Connolly, V.M.**, 2008. Diabetes-and non diabetes related lower extremity amputation incidence before and after the introduction of better organized diabetes foot care continuous longitudinal monitoring using a standard method. *Diabetes Care* 31, 459–463.
- Charbonnel, B.**, 2018. Les nouveaux traitements du diabète. *Arch Mal Coeur Vaiss Prat* 14–20. <https://doi.org/10.1016/j.amcp.2018.11.003>
- Chaudhuri, S., Banerjee, A., Basu, K., Sengupta, B., Sengupta, P.K.**, 2007. Interaction of flavonoids with red blood cell membrane lipids and proteins: Antioxidant and antihemolytic effects. *International Journal of Biological Macromolecules* 41, 42–48. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2006.12.003>
- Chekroun, E., Bechiri, A., Azzi, R., Adida, H., Benariba, N., Djaziri, R.**, 2016. Antidiabetic activity of two aqueous extracts of two Cucurbitaceae: *Citrullus colocynthis* and *Bryonia dioica*. *Phytothérapie* 15, 57–66.
- Chekroun, E., Benariba, N., Adida, H., Bechiri, A., Azzi, R., Djaziri, R.**, 2015. Antioxidant activity and phytochemical screening of two Cucurbitaceae: *Citrullus colocynthis*fruits and *Bryonia dioica*roots. *Asian Pac J Trop Dis* 5, 632–637. [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(15\)60903-3](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(15)60903-3)
- Chelghoum, M., Khitri, W., Bouzid, S., Iakermi, A.**, 2021. New trends in the use of medicinal plants by Algerian diabetic patients, considerations of herb-drug interactions. *Journal of Ethnopharmacology* 274, 113984.
- Chinsebu, K.C.**, 2018. Diabetes mellitus and nature's pharmacy of putative antidiabetic plants. *journal of herbal medicine* 1–35. <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2018.09.001>
- Choi, S.W., Benzie, I.F.F., Ma, S.W., et al**, 2008. Acute hyperglycaemia and oxidative stress: direct cause and effect. *Free Radical Bio Med* 44, 1217–1231.
- Chukwuma, C.I., Matsabisa, M.G., Ibrahim, M.A., Erukainure, O.L., Chabalala, M.H., Islam, Md.S.**, 2019. Medicinal plants with concomitant anti-diabetic and anti-hypertensive effects as potential sources of dual acting therapies against diabetes and hypertension: A review. *Journal of Ethnopharmacology* 235, 329–360. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.02.024>

- David, C., Boinet, T.,** 2017. Diabète de type 2 non équilibré et haut risque cardiovasculaire. *diabétologie* 573, 14–17. <https://doi.org/10.1016/j.actpha.2017.11.022>
- Dijk, W., May, L., Cariou, B.,** 2019. Efficacité et sécurité des inhibiteurs de PCSK9 dans le diabète, in: *Médecine Des Maladies Métaboliques*, 2. pp. 147–155.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N.,** 2006. Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry* 97, 654–660.
- Dodson, G., Steiner, D.,** 1998. The role of assembly in insulin's biosynthesis. *Curr Opin Struct Biol* 8, 189–194.
- Ducobu, J.,** 2003. Oral antidiabetic drugs in 2003. *Revue Médicale de Bruxelles* 24, 361–368.
- Efui Holaly, G., Kodjovi, A., Damintoti, K.S., Kokou, A., Yao, A., Gérard, T., Blaise, A., Jacques, S., Messanvi, G.,** 2017. Composés bioactifs isolés des plantes à propriété anti-diabétique: Revue de littérature. *International Journal of Innovation and Applied Studies* 19, 839–849.
- Eguchi, K., Nagai, R.,** 2017. Islet inflammation in type 2 diabetes and physiology. *J Clin Invest* 127, 14–23.
- El Ghouli, J., Ben Attia, M.,** 2014. Vasorelaxant effects of aqueous extract of *Zygophyllum album* and antihyperglycemic activities in streptozotocin-induced diabetic mice. *J Diabetes Metab* 5, 426.
- El Haci, I.A., Mazari, W., Atik-Bekkara, F., Mouttas-Bendimerad, F., Hassani, F.,** 2019. Bioactive compounds from the flower part of *Polygonum maritimum L.* collected from Algerian coast. *Current Bioactive Compounds* 16, 543–545. <https://doi.org/10.2174/1573407214666181116120901>
- Espitalier, J.,** 2010. La myrtille (*Vaccinium Myrtillus*): Botanique, chimie et intérêts thérapeutiques.
- Es-Safi, N.-E., Kollmann, A., Khlifi, S., Ducrot, P.-H.,** 2007. Antioxidative effect of compounds isolated from *Globularia alypum L.* structure–activity relationship. *LWT* 40, 1246–1252. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2006.08.019>
- Ezuruike, U.F., Prieto, J.M.,** 2014. The use of plants in the traditional management of diabetes in Nigeria: Pharmacological and toxicological considerations. *Journal of Ethnopharmacology* 155, 857–924.
- Feriani, A., del Mar Contreras, M., Talhaoui, N., Gómez-Caravaca, A.M., Taamalli, A., Segura-Carretero, A., Ghazouani, L., El Feki, A., Allagui, M.S.,** 2017. Protective effect of *Globularia alypum* leaves against deltamethrin induced nephrotoxicity in rats and determination of its bioactive compounds using high-performance liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem quadrupole–time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Functional Foods* 32, 139–148.
- Fève, B.,** 2008. Dysfonction endothéliale au cours du diabète : déséquilibre des voies de signalisation et implication du stress oxydatif, in: *Insuline : Effets Physiologiques Sur Les Lipides. Que Se Passe-t-Il Chez Le Patient Diabétique de Type 2 ?* pp. S198–S203.

- FID, F. internationale du diabète**, 2019. L'Atlas du Diabète de la FID, in: Bilan Mondial Du Diabète.
- Fujimoto, Y., Ohhira, M., Miyokawa, N., Kitarnori, S., Kohgo**, 1998. Acarbose-induced hepatic injury. *Lancet* 351, 340.
- Funke, I., Melzing, M.F.**, 2006. Traditionally used plants in diabetes therapy-phytotherapeutics as inhibitors of α -amylase activity. *Rev Bras Farmacogn* 16, 1–5.
- Gallagher, E.J., Leroith, D., Karnieli, E.**, 2011. The metabolic syndrome from insulin resistance to obesity and diabetes. *Med Clin North Am* 95, 855–873.
- Ghlissi, Z., Kallel, R., Sila, A., Harrabi, B., Atheymen, R., Zeghal, K., Bougateg, A., Sahnoun, Z.**, 2016. *Globularia alypum* methanolic extract improves burn wound healing process and inflammation in rats and possesses antibacterial and antioxidant activities. *Biomedicine & Pharmacotherapy* xxx, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.11.051>
- Ghorbani, A.**, 2017. Mechanisms of antidiabetic effects of flavonoid rutin. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 96, 305–312. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.10.001>
- Gitika, B., Sai Ram, M., Sharma, K., Ilvazhagan, G., Banerjee, P.K.**, 2006. Quercetin protects C6 glial cells from oxidative stress induced by tertiary-butylhydroperoxide. *Free radical research* 40, 95–102. <https://doi.org/10.1080/10715760500335447>
- Gould, K.**, 2004. Nature's Swiss army knife: the diverse protective roles of anthocyanins in leaves. *J. Biomed. Biotechnol* 5, 314–320.
- Grover, J.K., Yadav, S., Vats, V.**, 2002. Medicinal plants of India with antidiabetic potential. *Journal of Ethnopharmacology* 81, 81–100.
- Guillausseau, P.-J., Lévy, D., Virally-Kévorkian, M., Laloi-Michelin, M., Bitu, J., Sène, D., Kévorkian, J.P.**, 2012. Diabète de type 2, antidiabétiques oraux et complications cardiovasculaires, in: *Médecine Des Maladies Métaboliques*, 1. pp. 38–42.
- Gupta, A.P., Pandotra, P., Kushwaha, M., Khan, S., Sharma, R., Gupta, S.**, 2015. Alkaloids: A Source of Anticancer Agents from Nature, in: *Studies in Natural Products Chemistry*. pp. 341–445.
- Gurjar, H.P.S., Irchhaiya, R., Verma, A.**, 2016. Review on some medicinal plants with antidiabetic activity. *J Drug Deliv Ther* 6, 45–55.
- Gutiérrez-Rodelo, C., Roura-Guiberna, A., Olivares-Reyes, J.A.**, 2017. Molecular Mechanisms of Insulin Resistance: An Update. *Gaceta Médica De México* 153, 197–209.
- Haji, N., Jabri, M.-A., Tounsi, H., Wanes, D., Ali, I.B.E.H., Boulila, A., Marzouki, L., Sebai, H.**, 2018. Phytochemical analysis by HPLC-PDA/ESI-MS of *Globularia alypum* aqueous extract and mechanism of its protective effect on experimental colitis induced by acetic acid in rat. *Journal of Functional Foods* 47, 220–228. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.05.058>
- Halimi, S., Sultan, A.**, 2020. Relation entre diabète de type 2 et la Covid-19: les dernières données. *Médecine des maladies métaboliques* 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.mmm.2020.12.008>
- Hamia, C., Guergab, A., Rennane, N., Birache, M.**, 2014. Influence des solvants sur le contenu en

- composés phénoliques et l'activité antioxydante des extraits du *Rhanterium adpressum*. Annales des Sciences et Technologie 6.
- Hamza, N., Berke, B., Umar, A., Cheze, C., Gin, H., Moore, N.**, 2019. A review of Algerian medicinal plants used in the treatment of diabetes. *Journal of Ethnopharmacology* 238, 1–28. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.111841>
- Han, L., Zhang, L., Ma, W., Li, D., Shi, R., Wang, M.**, 2018. Proanthocyanidin B2 attenuates postprandial blood glucose and its inhibitory effect on alpha-glucosidase : analysis by kinetics, fluorescence spectroscopy, atomic force microscopy and molecular docking. *Food and Function* 9, 4673–4682.
- Harborne, J.B.**, 1998. *Phytochemical methods : A guide to modern techniques of plant analysis*, 3^e édition. ed. Chapman and Hall Thomson science, UK.
- Heidari, R., Zareae, S., Heidarizadeh, M.**, 2005. Extraction, Purification, and Inhibitory effect of alpha-amylase inhibitor from wheat (*Triticum aestivum* Var. *Zarrin*). *Pakistan Journal of nutrition* 4, 101–105.
- Idm'hand, E., Msanda, F., Cherifi, K.**, 2020. Ethnopharmacological review of medicinal plants used to manage diabetes in Morocco. *Clinical Phytoscience* 6, 1–32. <https://doi.org/10.1186/s40816-020-00166-z>
- Imam, S.K.**, 2015. Diabetes: A New Horizon and Approach to Management, in: *Glucose Intake and Utilization in Pre-Diabetes and Diabetes*. USA, pp. 29-.
- Jarald, E., Joshi, S.B., Jain, D.C.**, 2008. Diabetes and herbal medicine. *Iranian Journal of Pharmacology and therapeutics* 7, 67–106.
- Jouad, H., Maghrani, M., Eddouks, M.**, 2002. Hypoglycaemic effect of *Rubus fruticosus* L. and *Globularia alypum* L. in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology* 81, 351–356.
- Kandikattu, H.K., Rachitha, P., Krupashree, K., Jayashree, G.V., Abhishek, V., Khanum, F.**, 2015. LC-ESI-MS/MS analysis of total oligomeric flavonoid fraction of *Cyperus rotundus* and its antioxidant, macromolecule damage protective and antihemolytic effect. *Pathophysiology* 22, 165–173. <https://doi.org/10.1016/j.pathophys.2015.07.001>
- Kandra, L., Gyémánt, G., Zajác, A., Batta, G.**, 2004. Inhibitory effects of tannin on human salivary α -amylase. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 319, 1265–1271.
- Kayarohanam, S., Kavimani, S.**, 2015. Current trends of plants having antidiabetic activity: a review. *J Bioanal Biomed* 7, 55–65.
- Kchaou, M., Bne Saleh, H., Mhiri, R., Allouche, N.**, 2016. Anti-oxidant and antiacetylcholinesterase activities of *Zygophyllum album*. *Bangladesh J. Pharmacol* 11, 54–62. <https://doi.org/10.3329/bjp.v11i1.25463>
- Kessler, M., Ubeaud, G., Jung, L.**, 2002. Anti- and pro-oxidant activity of rutin and quercetin derivatives. *Journal of pharmacy and pharmacology* 55, 131–142.

<https://doi.org/10.1211/002235702559>

- Kido, Y., Nakae, J., Accili, D.,** 2001. The insulin receptor and its cellular targets. *J Clin Endocrinol Metab* 86, 972–9.
- Kim, J.A., Montagnani, M., Koh, K.K., Quon, M.J.,** 2006. Reciprocal relationships between insulin resistance and endothelial dysfunction: molecular and pathophysiological mechanisms. *Circulation* 113, 1888–1904.
- Krentz, A.J., Bailey, C.J.,** 2005. Oral Antidiabetic Agents. *Drugs* 65, 385–411.
- Krief, S.,** 2004. Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées.
- Ksouri, R., Megdiche-Ksouri, W., Jallali, I., Debez, A., Magné, C., Hiroko, I., Abdelly, C.,** 2011. Medicinal halophytes: potent source of health promoting biomolecules with medical, nutraceutical and food applications. *Critical Reviews in Biotechnology* 1–38.
- Ksouri, W.M., Medini, F., Mkadmini, K., Legault, J., Magné, C., Abdelly, C., Ksouri, R.,** 2013. LC-ESI-TOF-MS identification of bioactive secondary metabolites involved in the antioxidant, anti-inflammatory and anticancer activities of the edible halophyte *Zygophyllum album Desf.* *Food Chemistry* 1–28. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.01.047>
- Kumar, A., Kumar, D., Kumar, K., Mkhize, Z., Katata Seru, L.M., Bahdur, I., Singh, P.,** 2020. Metal-ligand complex formation between ferrous or ferric ion with syringic acid and their antioxidant and anti-microbial activities: DFT and molecular docking approach. *Journal of Molecular Liquids* 20, 1–29. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.114872>
- Kwon, Y.I.,** 2007. 3eases using phenolic phytochemicals. Amherst: Doctoral thesis submitted to the University of Massachusetts.
- 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.
- Lawin, I.F., Laleye, O.A.F., Agbani, O.P.,** 2016. Vulnérabilité et stratégies endogènes de conservation des plantes utilisées dans le traitement du diabète dans les communes de Glazoué et Savè au Centre-Bénin. *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 10, 1069–1085.
- Leduc, C., Coonishish, J., Haddad, P., Currier, A.,** 2006. Plants used by Cree Nation of Eeyoulstchee (Quebec, Canada) for treatment of diabetes: A novel approach in quantitative ethnobotany. *Journal of Ehtnopharmacology* 105, 55–63.
- Li, H., Cheng, K., W., Wong, C., C., Fan, K., W., Chen, F., Jiang, Y.,** 2007. Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food Chemistry* 201, 771–776.
- Li, T., Kongstad, K.T., Staerk, D.,** 2019. Identification of α -glucosidase inhibitors in machilus litseifoliaby combined use of high-resolution α -glucosidase inhibition profiling and HPLC-PDA-HRMS-SPE-NMR. *Journal of Natural Products* 82, 249-258.

- Li, W.L., Zheng, H.C., Bukuru, J., De Kimpe, N., 2004.** Natural medicines used in the traditional Chinese medical system for therapy of diabetes mellitus. *Journal of Ethnopharmacology* 92, 1–21.
- Li, Z.-R., Jia, R.-B., Wu, J., Lin, L., Ou, Z.-R., Liao, B., Zhang, L., Zhang, X., Song, G., Zhao, M., 2020.** Sargassum fusiforme polysaccharide partly replaces acarbose against type 2 diabetes in rats. *International Journal of Biological Macromolecules*. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.12.126>
- Lorigooini, Z., Jamshidi-kia, F., Hosseini, Z., 2020.** Analysis of aromatic acids (phenolic acids and hydroxycinnamic acids), in: *Recent Advances in Natural Products Analysis*. United States of America, pp. 199–219.
- Makkar, P.S., Siddhuraju, P., Becker, K., 2007.** Plant secondary metabolit: Alkaloids, in: *Methods in Molecular Biology*. Totowa, NJ, pp. 107–111.
- Markham, K.R., 1982.** *Technics of flavonoids identification*. Academic Press (London) 1 and 2, 1–113.
- Maurya, D.K., Devasagayam, T.P.A., 2010.** Antioxidant and prooxidant nature of hydroxycinnamic acid derivatives ferulic and caffeic acids. *Food and Chemical Toxicology* 48, 3369–3373. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.09.006>
- Miara, M.D., Ait Hammou, M., Hadjadj Aoul, S., 2013.** Phytothérapie et taxonomie des plantes médicinales spontanées dans la région de Tiaret (Algérie). *Phytothérapie* 11, 206–218.
- Miara, M.D., Bendif, H., Rebbas, K., Rabah, B., Hammou, M.A., Maggi, F., 2019.** Medicinal plants and their traditional uses in the highland region of Bordj Bou Arreridj (Northeast Algeria). *Journal of Herbal Medicine* 16, 1–17. <https://doi.org/doi.org/10.1016/j.hermed.2019.100262>
- Michelle de Sales, P., Monteiro de Souza, P., Simeoni, L.A., Magalhaes, P. de O., Silveira, D., 2012.** α -Amylase Inhibitors: A Review of Raw Material and Isolated Compounds from Plant Source. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences* 15, 141–183.
- Mnafgui, K., Kchaou, M., Ben Salah, H., Hajji, R., Khabbabi, G., Elfeki, A., Allouche, N., Gharsallah, N., 2016.** Essential oil of *Zygophyllum album* inhibits key digestive enzymes related to diabetes and hypertension and attenuates symptoms of diarrhea in alloxan-induced diabetic rats. *Pharmaceutical Biology* 54, 1326–1333.
- Mnafgui, K., Kchaou, M., Derbali, F., Slama, S., Nasri, M., Salah, H., Ben, Allouche, N., Elfeki, A., 2014.** Inhibition of carbohydrate and lipid digestive enzymes activities by *Zygophyllum album* extracts: Effect on blood and pancreas inflammatory biomarkers in alloxan-induced diabetic rats. *J. Physiol. Biochem* 70, 93–106.
- Mouderas, F., El Haci, I.A., Lahfa, F.B., 2019.** Phytochemical profile, antioxidant and antimicrobial activities of *Traganum nudatum Delile* aerial parts organic extracts collected from Algerian Sahara's flora. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine* 1–13. <https://doi.org/10.1007/s13596-019-00365-1>
- Mukherjee, P.K., Maiti, K., Houghton, P.J., 2006.** Leads from Indian medicinal plants with

- hypoglycemic potentials. *Journal of Ethnopharmacology*, 106, 1–28.
- Musabayane, C.T.**, 2012. The effects of medicinal plants on renal function and blood pressure in diabetes mellitus. *Cardiovascular Journal of South Africa* 23, 462–468.
- Nelson, K.M., Reiber, G., Boyko, E.J.**, 2002. Diet and Exercise Among Adults with Type 2 Diabetes: Findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *Diabetes Care* 25, 1722–1728.
- Niki, E., Komuro, E., Takahashi, M., Urano, S., Ito, E., Terao, K.**, 1988. Oxidative hemolysis of erythrocytes and its inhibition by free radical scavengers. *J Biol Chem* 263, 19809–19814.
- Odegaard, J.I., Chawla, A.**, 2013. Pleiotropic actions of insulin resistance and inflammation in metabolic homeostasis 339, 172–177.
- Olivares-Reyes, J.A., Arellano-Plancarte, A.**, 2008. Bases moleculares de las acciones de la insulina. *Rev Edu Bioq* 27, 9–18.
- OMS (organisation mondiale de la santé)**, 2016. Rapport mondial sur le diabète. Profils des pays pour le diabète.
- OMS (Organisation Mondiale de la Santé)**, 2002. Diabète sucré. Aide mémoire 138, 292.
- Oubré, A.Y., Carlson, T.J., King, S.R., Reaven, G.M.**, 1997. From plant to patient: an ethnomedical approach to the identification of new drugs for the treatment of NIDDM. *Diabetologia* 40, 614–617.
- Ouchi, N., Parker, J.L., Lugus, J.J., Walsh, K.**, 2011. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat Rev Immunol* 11, 85–97.
- Ouelbani, R., Bensari, S., Toma, N.M., Khelifi, D.**, 2016. Ethnobotanical investigations on plants used in folk medicine in the regions of Constantine and Mila (North east of Algeria). *Journal of Ethnopharmacology* 1–69. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.08.016>
- Oyaizu, M.**, 1986. Studies on products of browning reaction Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition* 44, 307–315.
- Papoutsis, K., Zhang, J., Bowyer, M.C., Brunton, N., Gibney, E.R., Lyng, J.**, 2021. Fruit, vegetables, and mushrooms for the preparation of extracts with α -amylase and α -glucosidase inhibition properties: A review. *Food Chemistry* 338, 1–17. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128119>
- Parikh, N.H., Parikh, P.K., Kothari, C.**, 2014. Indigenous plant medicines for health care: treatment of Diabetes mellitus and hyperlipidemia. *Chinese Journal of Natural Medicines* 12, 0335–0344.
- Petropoulos, S.A., Karkanis, K., Martins, N., Ferreira, I.C.F.R.**, 2018. Halophytic herbs of the Mediterranean basin: An alternative approach to health. *Food and Chemical Toxicology* 1–71. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.02.031>
- Preedy, Victor. R.**, 2014. Aging: Oxidative stress And dietary antioxidants. Elsevier. London, pp.3.
- Price, M.I., Van Scoyoc, S., Bulter, L.G.**, 1978. A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 26, 1214–1218.

- Reaven, G.**, 2004. The metabolic syndrome or the insulin resistance syndrome? Different names, different concepts, and different goals. *Endocrinology & Metabolism Clinics of North America* 33, 283–303.
- Reaven, G.M.**, 1993. Role of insulin resistance in human disease (syndrome X): An expanded definition. *Annual Review of Medicine* 44, 121–131.
- Riddle, M., Frias, J., Zhang, B.**, 2007. Pramlintide improved glycemic control and reduced weight in patients with type 2 diabetes using basal insulin. *Diabetes Care* 30, 2794–2799.
- Rother, K.I.**, 2007. Diabetes treatment—bridging the divide. *The New England Journal of Medicine* 356, 1499–1501.
- Rouhani, M.N., Watson, R.R.**, 2014. Polyphenols in Ayurvedic Medicine and Type 2 Diabetes, in: *Polyphenols in Human Health and Disease*. United States of America, pp. 113–117.
- Saed-Moucheshi, A., Pakniyat, H., Pirasteh-Anosheh, H., Azooz, M.M.**, 2014. Role of ROS as Signaling Molecules in Plants, in: *Oxidative Damage to Plants*. India, pp. 585–620.
- Salari, B., Samankan, S., Porhomayon, J.**, 2014. Diabetes and Obesity: The Impact of Their Coincidence on Health and Life, in: *Glucose Intake and Utilization in Pre-Diabetes and Diabetes*. USA, pp. 21–28.
- Sales, P.M., Souza, P.M., Simeoni, L.A., Magalhães, P.O., Silveira, D.**, 2012. α -Amylase inhibitors: a review of raw material and isolated compounds from plant source. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences* 15, 141–183.
- Sarri, M., Mouyeta, F.Z., Benziane, M., Cherieta, A.**, 2014. Traditional use of medicinal plants in a city at steppe character (M'sila, Algeria). *J. Pharmacol. Pharmacogn. Res* 2, 31–35.
- Sato, Y., Kamo, S., Takahashi, T., Suzuki, Y.**, 1995. Mechanism of Free Radical-Induced Hemolysis of Human Erythrocytes: Hemolysis by Water-Soluble Radical Initiator. *Biochemistry* 34, 8940–8949.
- Singh, U., Singh, S., Kochhar, A.**, 2012. Therapeutic potential of antidiabetic nutraceuticals. *Phytopharmacology* 2, 144–169.
- Srikrishna, D., Godugu, C., Dubey, P.K.**, 2016. A review on pharmacological properties of coumarins. *Mini-reviews in medicinal chemistry* 16. <https://doi.org/10.2174/1389557516666160801094919>
- Su, X., Duan, J., Jian, Y., Shi, J., Kakuda, Y.**, 2006. Effect of soaking conditions on the antioxidant potentials of oolong tea. *J. Food Composition Anal.* 19, 348–353.
- Sultan, A., Bauduceau, B.**, 2020. Risque infectieux au cours du diabète : parlons-en ! *Med Mal Metab* 14, 13–20. <https://doi.org/10.1016/j.mmm.2019.12.017>
- Swapnil, M., Chaudhari, B., Sachin, L., B.**, 2014. Polyphenols and Tuberculosis, in: *Polyphenols in Human Health and Disease*. pp. 723–731.
- Takebayashi, J., Chen, J., Tai, A.**, 2010. A Method for Evaluation of Antioxidant Activity Based on Inhibition of Free Radical-Induced Erythrocyte Hemolysis, in: *Advanced Protocols in Oxidative*

Stress II, Methods in Molecular Biology.

- Talbi, H., Boumaza, A., El-mostafa, K., Talbi, J., Hilali, A.,** 2015. Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L. Mater. Environ. Sci 6, 1111–1117.
- Taleb-Dida, N., Krouf, D., Bouchenak, M.,** 2011. *Globularia alypum* aqueous extract decreases hypertriglyceridemia and ameliorates oxidative status of the muscle, kidney, and heart in rats fed a high-fructose diet. Nutrition Research 31, 488–495. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2011.05.005>
- Telli, A., Esnault, M.-A., Ould El Hadj Khelil, A.,** 2016. An ethnopharmacological survey of plants used in traditional diabetes treatment in south-eastern Algeria (Ouargla province). Journal of Arid Environments 127, 82–92. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2015.11.005>
- Tenenbaum, M., Bonnefond, A., Froguel, P., Abderrahmani, A.,** 2018. Les marqueurs des complications des diabètes: Physiopathologie du diabète. Revue francophone des laboratoires 502, 26–32.
- Trabsa, H., Baghiani, A., Boussoulim, N., Krache, I., Arrar, L.,** 2020. *In vivo* and *in vitro* antioxidant and anti-hemolytic effect of Algerian *Centaurea calcitrapa* L. extracts. Journal of Drug Delivery & Therapeutics 10, 202–207. <https://doi.org/10.22270/jddt.v10i5.4402>
- Trout, K.K., Homko, C., Tkacs, N.C.,** 2007. Methods of Measuring Insulin Sensitivity. Biological Research For Nursing 8, 305–318. <https://doi.org/10.1177/1099800406298775>
- Tsao, R.,** 2015. Synergistic interactions between antioxidants used in food preservation, in: Handbook of Antioxidants for Food Preservation. pp. 335–348.
- Tuyen, D.T., Yew, G.Y., Cuong, N.T., Hoang, L.T., Yen, H.T., Thao, P.T.H., Thao, N.T., Thanh, N.S. le, Trang, N.T.H., Trung, N.T., Afridi, R., Anh, D.T.M., Show, P.L.,** 2020. Selection, purification, and evaluation of acarbose—an α -glucosidase inhibitor from *Actinoplanes* sp. chemosphere 1–35. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.129167>
- Unnikrishnan, M.K., Veerapur, V., Nayak, Y., Paul, P.M., Mathew, G.,** 2014. Antidiabetic, Antihyperlipidemic and Antioxidant Effects of the Flavonoids, in: Polyphenols in Human Health and Diseases. United States of America, pp. 143–161.
- Uttara, B., Singh, A.V., Zamboni, P., et al,** 2009. Oxidative stress and neurodegenerative diseases: a review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options. Curr Neuropharmacol 7.
- Villiers, A. de, Venter, P., Pasch, H.,** 2015. Recent advances and trends in the liquid-chromatography-mass spectrometry analysis of flavonoids. Journal of Chromatography A 1–205. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.11.077>
- Wang, G., Tang, W., Bidigare, R.R.,** 2005. Natural Products Drug Discovery and Therapeutic Medicine Terpenoids As Therapeutic Drugs As Pharmaceutical Agents. Humana Press.
- Wannes, W.A., Marzouk, B.,** 2016. Research progress of Tunisian medicinal plants used for acute diabetes. Journal of Acute Disease 5, 357–363. <https://doi.org/10.1016/j.joad.2016.08.001>
- Weisberg, S., McCann, D., Desai, M., Rosenbaum, M., Leibel, R.L., Ferrante, A.W.,** 2003.

Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest* 112, 1796–1808.

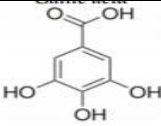
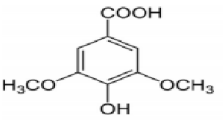
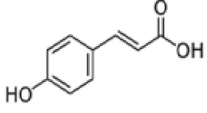
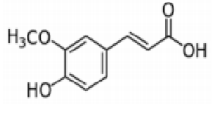
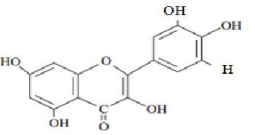
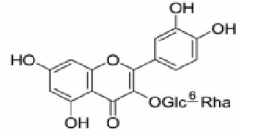
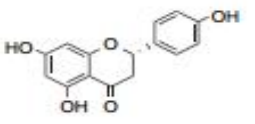
White, M.F., 2003. Insulin signaling in health and disease. *Science*, 5651 302, 1710–11.

Wilcox, 2005. Insulin and Insulin Resistance. *Clin Biochem Rev* 26, 19–36.

Wolever, T.M., 1999. The glycemic index. *World Rev Nutr Diet* 62, 120–85.

Annexes

Tableau 01: (Moreno et Peinado, 2012; Hirata et al., 2014; Marzag et al., 2014; Cheemanapalli et al., 2018; Kiokias et al., 2020;

Molécule	Structure chimique	Molécule identifié et séparé	Référence
Acide gallique (acide benzoïque)		Phénylethanoïde	Es-safi et al., 2007
Acide syringique (acide benzoïque)		Syringin	Es-safi et al., 2007; Feriani et al., 2017;
Acide p-coumarique (acide hydroxycinnamique)		Coumaroyl hexosyl glucitol	Feriani et al., 2017
Acide Ferulique (acide hydroxycinnamique)		6-O-feruloyl-b-D-glucopyranosyl (1-6)-glucitol (globularitol)	Feriani et al., 2017
Quercetine (flavonol)		Quercetin-glucoside Quercetin 3-sulfate Dérivés Flav-3-ols, flavone	Haji et al., 2018 Ksouri et al., 2013 Villiers et al., 2015
Rutine (flavonol)		Isorhamnetin-3-O-rutinoside Flavonol glycoside	Ksouri et al., 2013 Villiers et al., 2015
Naringenin (flavanone)		Flavanone	Villiers et al., 2015

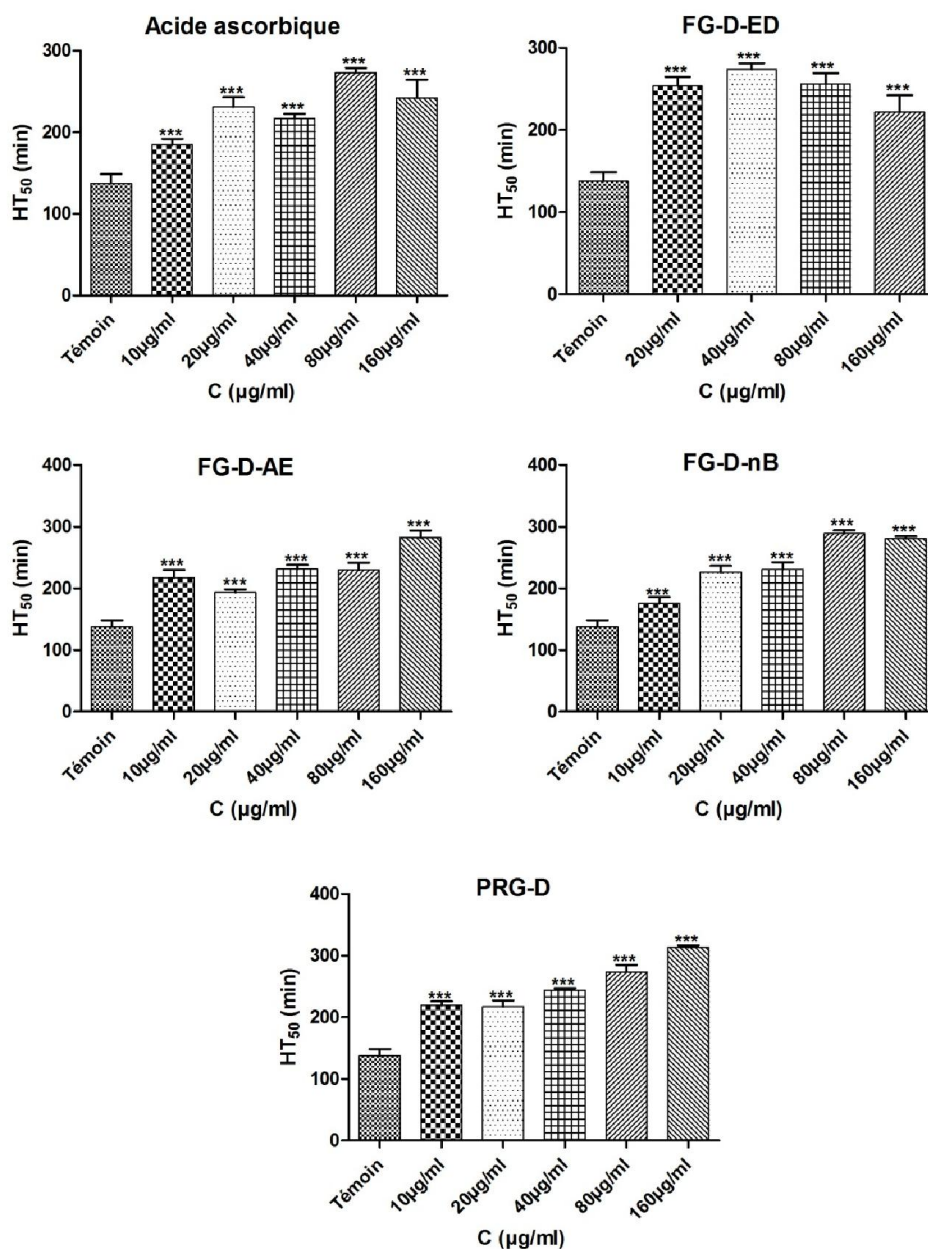


Figure 03: Histogrammes présentent le temps de demi-Hémolyse (HT₅₀) calculés après traitement des hématies par les fractions des extraits bruts de *G. alypum* préparées par décoction (**EG-D**): Fraction éther diéthylique (FG-D-ED), fraction acétate d'éthyle (FG-D-AE), Fraction n-butanol (FG-D-nB) et phase résiduelle aqueuse (PRG-D) à différents concentrations. La comparaison est effectuée contre un Témoin (T) et l'acide ascorbique. Les valeurs sont les moyennes de 3 mesures ± SD, ***: $p \leq 0.001$.

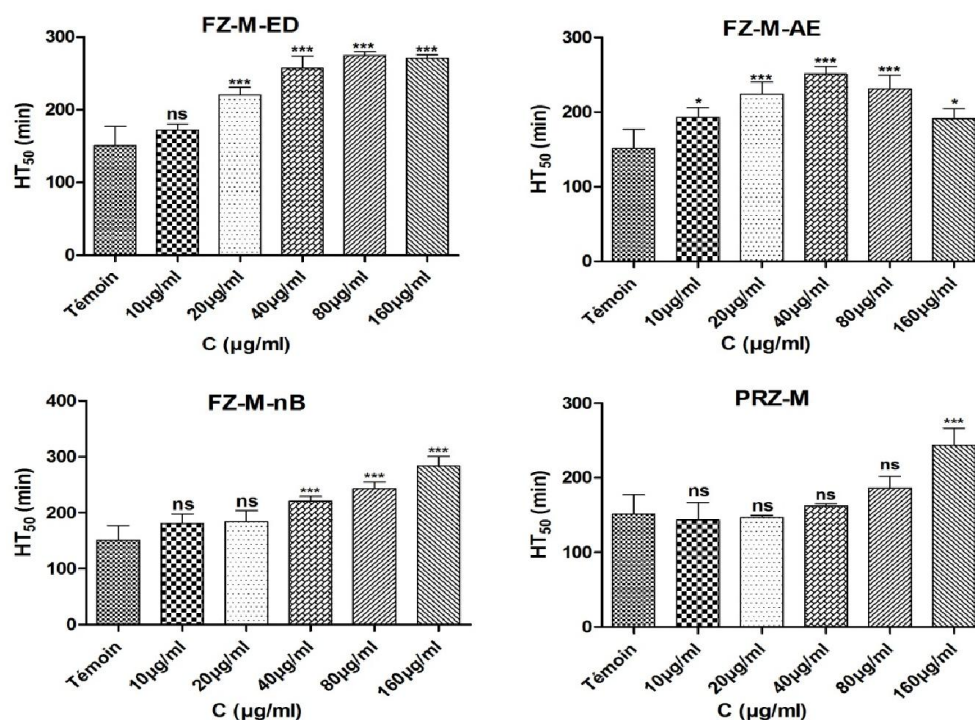


Figure 04: Histogrammes présentent le temps de demi-Hémolyse (HT₅₀) calculés après traitement des hématies par les fractions des extraits bruts de *Z. album* préparées par macération (**EZ-M**): Fraction éther diéthylique (FZ-M-ED), fraction acétate d'éthyle (FZ-M-AE), Fraction n-butanol (FZ-M-nB) et la phase résiduelle (PRZ-M) à différents concentrations. La comparaison est effectuée contre un Témoin (T). Les valeurs sont les moyennes de 3 mesures \pm SD, *: $p \leq 0.05$, ***: $p \leq 0.001$, ns= non significatif.

Tableau 02: les valeurs de Δt , ont été mesuré des extraits et des fractions préparés à partir des parties aériennes de *G. alypum* et *Z. album*

	10µg/ml	20µg/ml	40µg/ml	80µg/ml	160µg/ml
Acide ascorbique	17	72.8	55,6	115,7	131,1
EG-D	29.8	20.4	32.7	27	44.2
EG-I	21.8	12.5	-17.6	2.4	56.6
EG-M	10.9	26.2	-16.6	9.1	59.2
FG-D-ED	-	115.9	136.2	118.5	84.4
FG-D-AE	79.3	56.3	93.7	92.3	144.3
FG-D-nB	38.1	88.3	93.1	151.3	143.2
PRG-D	81.7	79.8	106	135.9	176
EZ-D	9.3	57.3	94.3	111.8	108.1
EZ-I	30.5	61.7	88.4	68.4	28.4
EZ-M	18.1	21.4	58	80.3	121.3
FZ-M-ED	20.9	68.9	105.9	123.4	119.7
FZ-M-AE	42.1	73.3	100	80	40
FZ-M-nB	29.7	33	69.6	91.9	132.9
PRZ-M	-7.7	-4.6	11.3	35	92.5

Extraits bruts de *G. alypum*: **EG-D** extrait brut préparé par décoction, **EG-I** extrait brut préparé par infusion **EG-M** extrait brut préparé par macération. Extraits bruts de *Z. album*: **EZ-D** extrait brut préparé par décoction, **EZ-I** extrait brut préparé par infusion, **EZ-M** extrait brut préparé par macération.

Fractions des extraits bruts de *G. alypum* préparées par décoction (**EG-D**): Fraction éther diéthylique (FG-D-ED), fraction acétate d'éthyle (FG-D-AE), Fraction n-butanol (FG-D-nB) et phase résiduelle aqueuse (PRG-D). Fractions des extraits bruts de *Z. album* préparées par macération (**EZ-M**): Fraction éther diéthylique (FZ-M-ED), fraction acétate d'éthyle (FZ-M-AE), Fraction n-butanol (FZ-M-nB).

Tableau 03: les concentrations inhibitrices (IC₅₀) de l'enzyme α -amylase et α -glucosidase des extraits bruts et fractions des parties aériennes de *G. alypum* et *Z. album* comparé contre l'acarbose.

	IC ₅₀ (mg/ml) (α -amylase)	IC ₅₀ (mg/ml) (α -glucosidase)
Quercetine	-	0.004 ± 0.001
Acarbose	0.012 ± 0.004	0.180 ± 0.001
EG-D	2.40 ± 0.03	-
EG-I	2.76 ± 0.44	-
EG-M	2.15 ± 0.70	-
EZ-D	6.69 ± 0.25	-
EZ-I	5.63 ± 0.23	-
EZ-M	6.11 ± 0.26	-
FG-D-ED	0.57 ± 0.05	0.52 ± 0.02
FG-D-AE	1.65 ± 0.10	1.29 ± 0.04
FG-D-nB	1.55 ± 0.21	1.61 ± 0.04
PRG-D	2.18 ± 0.15	2.55 ± 0.002
FZ-M-ED	-	4.5 ± 0.41
FZ-M-AE	-	1.8 ± 0.21
FZ-M-nB	-	14.13 ± 0.73

Extraits bruts de *G. alypum*: **EG-D** extrait brut préparé par décoction, **EG-I** extrait brut préparé par infusion **EG-M** extrait brut préparé par macération. Extraits bruts de *Z. album*: **EZ-D** extrait brut préparé par décoction, **EZ-I** extrait brut préparé par infusion, **EZ-M** extrait brut préparé par macération.

Fractions des extraits bruts de *G. alypum* préparées par décoction (**EG-D**): Fraction éther diéthylique (FG-D-ED), fraction acétate d'éthyle (FG-D-AE), Fraction n-butanol (FG-D-nB) et phase résiduelle aqueuse (PRG-D). Fractions des extraits bruts de *Z. album* préparées par macération (**EZ-M**): Fraction éther diéthylique (FZ-M-ED), fraction acétate d'éthyle (FZ-M-AE), Fraction n-butanol (FZ-M-nB).