

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى جيجل

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département : Biologie Moléculaire et
Cellulaire



كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم: البيولوجيا الجزيئية والخلوية

Mémoire de Fin d'Etudes

En vue de l'obtention du diplôme : Master Académique en Sciences de la
Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie.

Thème

Composition chimique et activités antioxydante et hypoglycémiantes
in vitro de *Fraxinus angustifolia*

Membres de Jury

Présidente : Dr. KEBSA Widad

Examinatrice : Dr. BRIHOUM Hadjer

Encadreur : Dr. BOUTENNOUN Hanane

Présenté par :

M^{elle} : SAMI Cheyma

M^{elle} : KHERABET Yousra

M^{elle} : BRIOUAT Nada

Année universitaire 2021-2022

Numéro d'ordre (bibliothèque) :

Remerciements

Avant tout, nous remercions "Allah" le tout puissant de nous avoir donné la santé, la force, le courage, la patience, la persistance et nous a permis d'exploiter les moyens disponibles afin d'accomplir ce modeste travail. Mercide nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

*En second lieu, Nous tenons à remercier notre promotrice **Dr. Boutennoun Hanane** pour avoir accepté de nous encadrer et pour son caractère très compréhensif, sa patience, sa disponibilité, ses précieuses orientations, ses conseils*

ainsi que pour tout le temps qu'elle nous a consacré pour diriger ce travail.

*Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury ; **Dr. Kebsa W.** (présidente) et **Dr. Brihoum H.** (examinatrice), d'avoir accepté de juger notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.*

Nous offrons nos plus sincères remerciements à toute l'équipe du laboratoire de Biochimie ou nous avons fait notre travail pratique.

Nous souhaiterons également remercier tous les enseignants de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie pendant les cinq années du notre parcours.

Nous sommes également reconnaissantes à nos collègues de la licence et du Master pour tous les bons moments que nous avons partagés ensemble pendant toute la période de formation.

En fin, nous remercions chaleureusement tous ceux qui ont participé de près ou de loin de façon directe ou indirecte, à la réussite de ce travail. A toutes et à tous un grand merci.

Merci à Tous...

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

*A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, **mon père** que j'adore.*

*A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur, **ma mère** à qui je souhaite une longue vie pleine de bonheur et de santé.*

*A ma très chère sœur qui m'ont toujours encouragée : **Roqiya**.*

*A mes très chers frères qui ont été toujours à mes côtés : **Karim, Salim, Yahia**.*

*À mes binômes **Nada** et **Youssra** avec qui j'ai passé des moments inoubliables.*

A tous mes enseignants, je leur exprime ma profonde gratitude.

*A tous mes collègues de ma promotion de **Biochimie** 2021- 2022.*



Cheyma

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

*A mes très chers **parents**, qu'ils trouvent ici ma plus profonde gratitude et tout mon amour pour leur soutien, leur patience, et leur encouragement tout au long de mes études. Merci pour vos sacrifices.*

C'est à vous que je dois cette réussite.

*A mes très chers frères : **Hicham, Djamel, Khaled***

Pour leurs compréhensions et leurs encouragements.

*A mes binômes **Nada et Cheyma.***

*A tous mes collègues de la promotion de **master II *Biochimie****

2021-2022.

A tous mes enseignants.

A tous ceux qui m'ont donné le service et l'aide par une idée ou par un mot de motivation et d'incitation.



Yousra

Dédicaces

Au terme de toutes ces années d'étude

Je dédie ce modeste travail :

*À mes très **chers parents**, qui ont consacré leur vie pour bâtir la mienne, qui ont toujours été là pour mes joies ainsi que pour mes peines.*

C'est avec émotion que je leurs exprime toute mon affection et mon profond respect, j'espère que par ce modeste travail, je vous rends un peu de ce sentiment de fierté que j'éprouve d'être votre fille. Qu'Allah vous garde et vous protège.

*À ma sœur **Malak** et mes frères **Chouaib** et **Tahar**
Pour leur soutien moral, leur complicité, leur présence
à tout moment à mes cotés.*

*À mon neveu : « **Djoud** » et ma nièce « **Chahd** ».*

*À mes **tantes** : Houria, Naima, Nadia, Fatima et Hadda.*

*À mes **chères amies** : Nihad, Manel, Dounia, Imane...*

*À **Cheyma** et **Youssra**, qui ont partagé avec moi les moments difficiles
de ce travail.*

À toutes personnes qui m'aiment et que j'aime....



Nada

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction..... 01

Partie bibliographique

Chapitre I : Diabète type 2

I.1. Définition..... 03

I.2. Physiopathologie du diabète type 2..... 04

I.3. Traitement médicale du diabète type 2..... 05

I.3.1. Inhibiteurs de l'enzyme α -amylase..... 05

I.3.2. Inhibiteurs de l'enzyme α -glucosidase..... 05

I.3.3. Autres traitements..... 06

I.4. Place de la phytothérapie dans le traitement du diabète type 2..... 08

Chapitre II : Stress oxydant

II.1. Définition et généralités..... 10

II.1.1. Sources du stress oxydatif..... 11

II.2. Espèces réactif d'oxygène..... 11

II.3. Antioxydants et mécanisme d'action..... 12

II.3.1. Définition des antioxydants..... 12

II.3.2. Principaux antioxydants..... 12

II.3.3. Mécanismes d'actions des antioxydants..... 12

II.4. Implication du stress oxydant dans le diabète..... 13

Chapitre III : Présentation de l'espèce étudiée *Fraxinus angustifolia*

III.1. Description de la plante..... 16

III.2. Répartition géographique..... 16

III.3. Noms vernaculaires..... 17

III.4. Position systématique..... 18

III.5. Composition chimique..... 18

III.6. Propriétés et utilisations thérapeutiques..... 19

Partie pratique

I. Matériel et méthodes	21
I.1. Echantillonnage	21
I.2. Préparation de la poudre végétale.....	21
I.3. Extraction des composés phénoliques	22
I.4. Dosage phytochimique	23
I.4.1. Les composés phénoliques totaux	23
I.4.2. Les flavonoïdes	23
I.5. Etude de l'activité antioxydante	24
I.5.1. Mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH	24
I.5.2. Mesure du pouvoir réducteur de fer	25
I.6. Evaluation de l'activité hypoglycémiant <i>in vitro</i>	26
I.6.1. Test de l'inhibition de l'activité d' α -amylase.....	26
I.6.2. Test de l'inhibition de l'activité d' α -glucosidase.....	28
I.7. Analyse statistique	28
II. Résultats et discussion	29
II.1. Rendement de l'extraction	29
II.2. Etude phytochimique	30
II.3. Résultats de l'activité antioxydante	31
II.3.1. Activité antiradicalaire (DPPH)	31
II.3.2. Pouvoir réducteur du fer	34
II.4. Résultats de l'activité hypoglycémiant.....	35
II.4.1. L'inhibition de l'activité de l' α - amylase.....	35
II.4.2. L'inhibition de l'activité de l' α - glucosidase.....	37
Conclusion et perspectives	40
Références bibliographiques	41
Annexes	
Résumé	

Liste des Abréviations

ADN	: Acide Désoxyribo-Nucléique.
AGE	: Produits finaux de glycation avancés.
ATP	: Adenosine Tri-Phosphate.
CAT	: Catalase.
DNSA	: Réactif 3,5-dinitrosalicylique.
DPPH	: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.
DT2	: Diabète de type 2.
DT2	: Diabète sucré non insulino-dépendant.
EAG	: Equivalent Acide Gallique.
EB	: Extrait brut.
EQ	: Equivalent Quercétine.
ERO	: Espèces Réactives de l'Oxygène.
GLP-1	: Glucagon-like peptide-1.
GP x	: Glutathion peroxydase.
GR	: Glutathion réductase.
IC50	: Concentration inhibitrice 50.
NADPH	: Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate.
p-NPG	: p-nitrophényl alpha-D-gluco-pyranoside.
ROS	: Reactive Oxygen Species.
SOD	: Superoxyde dismutase.

Liste des figures

Figure 01 :	Classification du diabète selon l'OMS.....	03
Figure 02 :	Physiopathologie de la forme commune du DT2.....	04
Figure 03 :	Mécanisme d'action des inhibiteurs de l'alpha glucosidase	06
Figure 04 :	Le stress oxydant : un déséquilibre entre radicaux libres et antioxydantes.....	10
Figure 05 :	Espèces réactives d'oxygène (ERO) d'intérêt majeur dans le stress oxydatif ...	11
Figure 06 :	Relations entre stress oxydant et hyperglycémie.....	15
Figure 07 :	Photographie originale de l'arbre (A) et des feuilles (B) de <i>Fraxinus angustifolia</i>	16
Figure 08 :	Aire de répartition du <i>Fraxinus angustifolia</i>	17
Figure 09 :	Localisation géographique de la station de récolte de <i>Fraxinus angustifolia</i>	21
Figure 10 :	Séchage (1) broyage (2) et la poudre (3) des feuilles de <i>Fraxinus angustifolia</i>	21
Figure 11 :	Étapes de l'extraction des composés phénoliques.....	22
Figure 12 :	Réduction du radical DPPH.....	24
Figure 13 :	Réaction d'hydrolyse du pNPG par l' α -glucosidase.....	28
Figure 14 :	Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes de <i>F. angustifolia</i> (chaque valeur représente la moyenne de quatre essais \pm écart-types).....	30
Figure 15 :	Pouvoir antiradicalaire de l'extrait de la plante et du standard, exprimé en pourcentage.....	32
Figure 16 :	Pouvoir réducteur de fer d'extrait et du standard à différentes concentrations....	34
Figure 17 :	Effet des différentes concentrations de l'extrait méthanolique de <i>Fraxinus angustifolia</i> sur l'activité de l' α -amylase.....	35
Figure 18 :	Effet des différentes concentrations de l'extrait méthanolique de <i>Fraxinus angustifolia</i> sur l'activité de l' α -glucosidase.....	37

Liste des tableaux

Tableau I	: Les médicaments utilisés pour traités le diabète de type 2.....	07
Tableau II	: Quelques plantes médicinales utilisées pour le traitement du DT2 et leurs mécanismes d'action.....	09
Tableau III	: Différents types des antioxydants.....	12
Tableau IV	: Principaux composés actifs de <i>Fraxinus angustifolia</i>	19
Tableau V	: Rendement d'extrait de la plante étudiée exprimé en pourcentage.....	29
Tableau VI	: Concentrations inhibitrices 50 (IC ₅₀) d'extrait méthanolique et du standard pour le test d'activité antiradicalaire (DPPH).....	33
Tableau VII	: Concentrations inhibitrices 50 (IC ₅₀) d'extrait méthanolique et d'acarbose pour le test d'activité d' α -amylase.....	36
Tableau VIII	: Concentrations inhibitrices 50 (IC ₅₀) d'extrait méthanolique et d'acarbose pour le test d'activité d' α -glucosidase.....	38

Introduction

Le stress oxydatif est un problème qui menace le bien-être de l'homme, il s'agit d'un déséquilibre de l'homéostasie biologique qui se manifeste dans une situation où la cellule ne contrôle plus la présence excessive des radicaux oxygénés toxiques, ce qui provoque des dommages oxydatifs potentiellement impliqués dans l'apparition et la complication de nombreuses maladies métaboliques dont le diabète sucré (Favier, 2003).

Ce dernier est un trouble métabolique persistant caractérisé par une glycémie anormalement élevée due au déficit en sécrétion d'insuline par les cellules β du pancréas et/ou résistance vers l'exploitation de l'hormone insuline associée à des troubles dans le métabolisme des glucides, des lipides et des protéines, ce qui conduit à des complications à long terme (Rajendiran *et al.*, 2018). La Fédération Internationale du Diabète estime que dans le monde, 415 millions de personnes sont atteintes du diabète, dont 91 % ont un diabète sucré de type 2 (DT2) (Einarson *et al.*, 2018).

Bien que plusieurs médicaments antidiabétiques soient disponibles dans le marché pour le traitement du diabète sucré, un bon nombre d'entre eux sont hors de portée d'une proportion importante de la population et ont des effets indésirables. Les limites et les effets secondaires de ces médicaments antidiabétiques conventionnels nécessitent la recherche des médicaments alternatifs ou complémentaires pour enrichir l'arsenal thérapeutique du diabète sucré.

L'utilisation des plantes médicinales et de leurs composés phytochimiques pour le traitement du diabète n'est pas seulement une recherche des alternatives plus sûres aux produits pharmaceutiques, qui abaissent temporairement la glycémie, prévenant ainsi les maladies cardiaques et l'hypertension artérielle, mais également pour améliorer le système antioxydant, l'action et la sécrétion de l'insuline. La plupart de ces plantes contiennent des métabolites secondaires tels que les glycosides, les alcaloïdes, les terpénoïdes et les polyphénols, qui leur confèrent une activité antidiabétique (Musa et Dele, 2020).

Dans ce contexte, l'objectif essentiel de ce travail consiste à étudier la composition chimique de l'extrait méthanolique des feuilles de *Fraxinus angustifolia* et évaluer son activité antioxydante et hypoglycémiant *in vitro*.

Cette étude est subdivisée en deux parties :

- ❖ La première consiste en une synthèse bibliographique relatant des généralités sur le diabète type 2, le stress oxydant et la plante étudiée (*Fraxinus angustifolia*).
- ❖ La deuxième partie est une étude expérimentale, décrivant la méthode d'extraction et les tests biologiques entrepris à savoir : le dosage des polyphénols des flavonoïdes totaux, l'évaluation de l'activité antioxydante par deux méthodes : piégeage du radical libre DPPH et pouvoir

réducteur du fer et en fin l'évaluation de l'activité antidiabétique *in vitro* de l'extrait de *Fraxinus angustifolia* par l'inhibition de deux enzymes ; l' α -amylase et l' α -glucosidase.

Partie
Bibliographique

Chapitre I :
Diabète type 2

I. Diabète type 2

I.1. Définition

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), le diabète sucré est une maladie métabolique chronique caractérisée par des niveaux élevés de glucose dans le sang, ce qui entraîne au fil du temps des dommages au cœur, système vasculaire, yeux, reins et nerfs (Galicia-Garcia *et al.*, 2020).

Le DT2 est la forme la plus répandue, représentant près de 90 % des formes diagnostiquées de diabètes (Figure 01). Il se caractérise par une altération du métabolisme des glucides, des lipides et des protéines, conduisant à une hyperglycémie. La principale cause de ce dernier est la réduction progressive de sécrétion d'insuline à partir des cellules β pancréatiques, souvent sur un contexte de résistance préexistante de l'insuline dans le squelette muscle, foie et tissu adipeux (Galicia-Garcia *et al.*, 2020 ; Proença *et al.*, 2022).

Les facteurs de l'épidémie de DT2 comprennent une combinaison complexe de facteurs génétiques, métaboliques et environnementaux qui interagissent entre eux contribuant à sa prévalence de la maladie. L'obésité est le premier facteur de risque de diabète ainsi que l'âge (Tenenbaum *et al.*, 2018 ; Galicia-Garcia *et al.*, 2020).

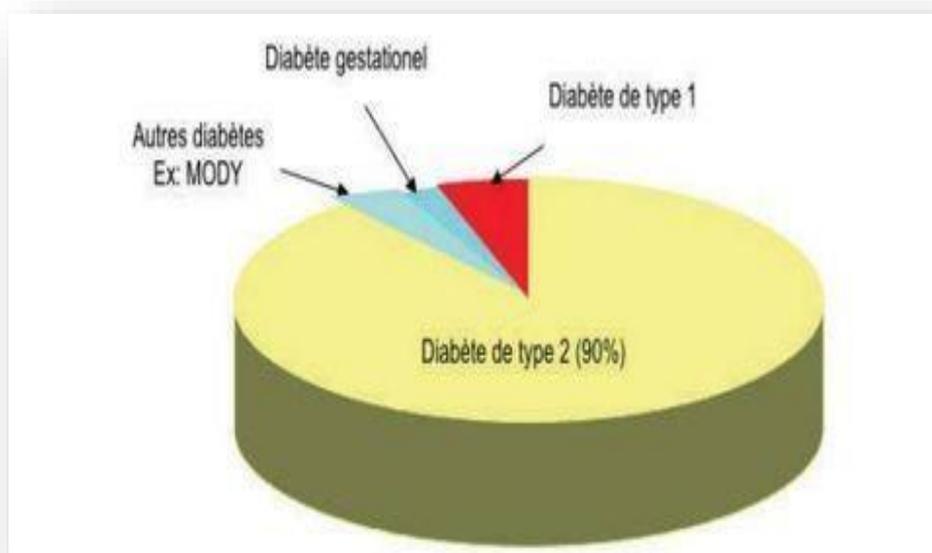


Figure 01 : Classification du diabète selon l'OMS (Tenenbaum *et al.*, 2018).

I.2. Physiopathologie du diabète type 2

Le DT2 comporte une pathogénèse beaucoup plus compliquée. La génétique, l'obésité, les dysfonctionnements de cellules β pancréatiques et le stress oxydatif sont tous des facteurs de risque qui contribuent à l'apparition de la maladie (Bellamy *et al.*, 2009). Il se caractérise à la fois par la résistance à l'insuline et par un défaut de sa sécrétion. Le degré de résistance à l'insuline et la carence en insuline varie selon le stade de développement. Au début de la maladie, la résistance à l'insuline commence à se produire alors que la sécrétion d'insuline augmente pour compenser la résistance. Dans ce stade précoce, les patients diabétiques ont habituellement une glycémie normale mais sont hyper-insulinémiques (Weir et Bonner-Weir, 2004). Plus tard, la sécrétion d'insuline ne permet pas de compenser la résistance à l'insuline et le taux de glycémie commence à augmenter jusqu'à une concentration anormalement élevée. Si l'hyperglycémie n'est pas bien contrôlée à long terme, éventuellement, la masse de cellules β pancréatiques diminuera en raison d'un dysfonctionnement (Figure 02) (Weir et Bonner-Weir, 2004 ; Weir et Bonner-Weir, 2013). Avant la perte dramatique de cellules β dans la dernière étape, la progression du diabète peut être inversée, et la rémission se retrouve dans les patients atteints de DT2 avec des traitements efficaces (Weir et Bonner-Weir, 2004).

La résistance s'exerce au niveau des trois principaux tissus cibles de l'hormone : le foie, le muscle squelettique et le tissu adipeux. En pratique, elle se manifeste par une augmentation de la production hépatique de glucose principalement à partir de la néoglucogenèse, une diminution des capacités de captation musculaire de glucose et une lipolyse exagérée avec élévation du taux d'acides gras libres plasmatiques (Féry et Paquot, 2005).

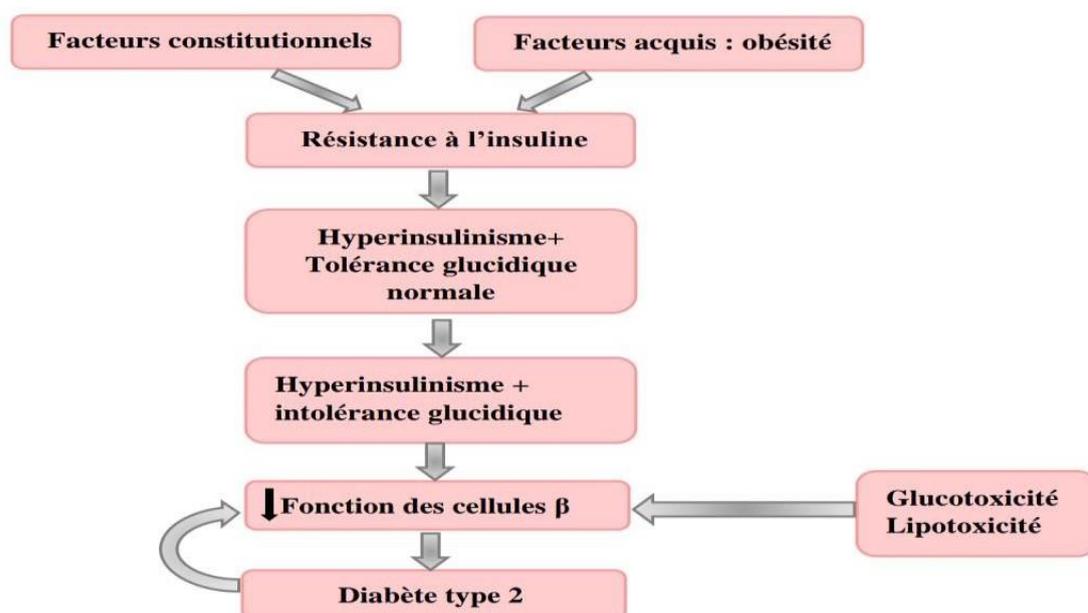


Figure 02 : Physiopathologie de la forme commune du DT2 (Girardin et Schwitzgebel, 2007).

I.3. Traitement médicale du diabète type 2

Le traitement du diabète a pour objectif d'éviter ou de retarder les complications liées à l'évolution de la maladie en contrôlant la glycémie et en évitant l'hyperinsulinisme. L'inhibition des enzymes hydrolysant les glucides, l' α -amylase et l' α -glucosidase, est l'une des principales stratégies thérapeutiques pour le traitement du diabète sucré de type 2 (Rocha *et al.*, 2019).

I.3.1. Inhibiteurs de l'enzyme α -amylase

Chez l'être humain, il est y a beaucoup d'enzymes digestives, parmi les plus importants on trouve les alpha-amylases (EC 3.2.1.1), qui sont des groupes d'enzymes qui catalysent l'hydrolyse des liaisons glycosidiques de type α (1,4) dans l'amidon et divers autres oligosaccharides (Kathirvel *et al.*, 2012 ; Agarwal et Gupta, 2016).

Les inhibiteurs de l' α -amylase font partie des médicaments qui réduisent l'hyperglycémie postprandiale en inhibant l'hydrolyse de l'amidon. Ce dernier peut aider à améliorer les symptômes du DT2, car le ralentissement de la digestion de l'amidon entraîne une absorption retardée ou interrompue du glucose. Bien que le but de l'inhibition de l'alpha-amylase soit de ralentir la production de maltose et de glucose, elle ralentit également la fonction de l'alpha-glucosidase en éliminant les substrats de cette enzyme (Jemaa *et al.*, 2017).

I.3.2. Inhibiteurs de l'enzyme α -glucosidase

Les α -glucosidases (EC.3.2.1.20) sont des enzymes complexes situés dans la membrane de bordure en brosse de l'intestin grêle (Marín-Peñalver *et al.*, 2016 ; Saleem *et al.*, 2021). Ils hydrolysent la liaison α (1-4) glycosidique terminal des polysaccharides, le produit de cette hydrolyse est un monosaccharide tel que le glucose, qui est absorbée dans la paroi intestinal (Watcharachaisoponsiri *et al.*, 2016).

Les inhibiteurs de l' α - glucosidase tels que : l'acarbose, le voglibose et le miglitol sont une classe intrigante de médicaments pharmaceutiques le plus souvent considérés comme des médicaments antidiabétiques de première ligne pour les patients de type II (Saleem *et al.*, 2021). Ils ralentissent le processus de digestion et d'absorption des glucides en bloquant de manière compétitive l'activité de la glucosidase. Par conséquent, la concentration maximale de glucose sanguin postprandial est réduite et le taux de sucre dans le sang est maîtrisé (Yin *et al.*, 2014). Le mécanisme d'action des inhibiteurs de l' α - glucosidase est illustré dans la figure 03.

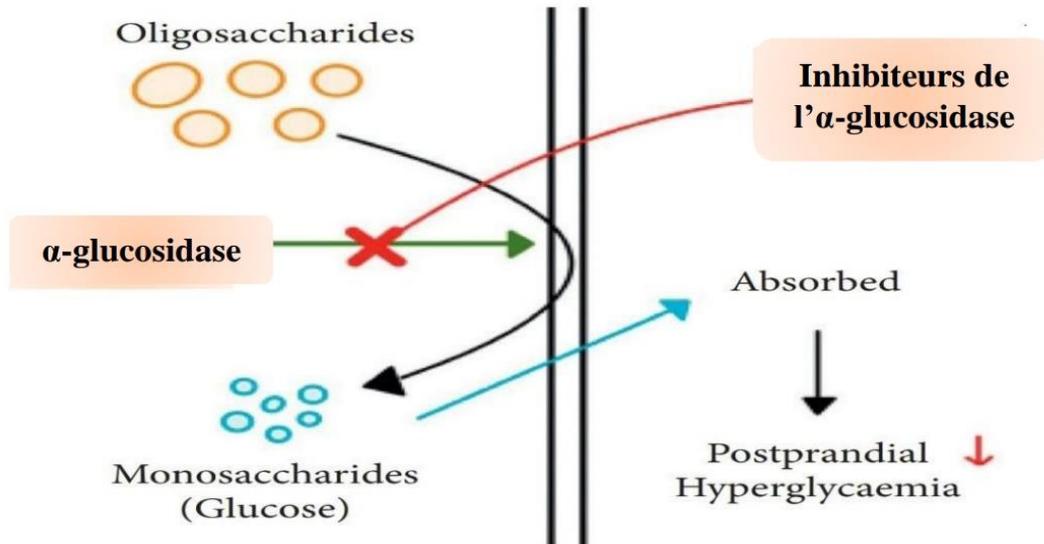


Figure 03 : Mécanisme d'action des inhibiteurs de l'alpha glucosidase (Sok Yen *et al.*, 2021).

Ces médicaments ont un très fort avantage et sont adaptés au traitement du diabète sucré non insulino-dépendant (DT2), mais induisent également des effets secondaires gastro-intestinaux qui réduisent leur utilisation dans une approche préventive (Dastjerdi *et al.*, 2015).

I.3.3. Autre traitement

Le tableau suivant, résume les médicaments actuellement utilisés dans la gestion du DT2.

Tableau I : Les médicaments utilisés pour traités le DT2 (Proença *et al.*, 2022).

Classe des agents antidiabétiques	Exemples	Premier mécanisme d'action	Avantages	Limitations
Biguanides	Metformine	-Inhibition de la gluconéogenèse hépatique.	-Aucun gain de poids. -Faible risque d'hypoglycémie.	-Effets secondaires gastro-intestinaux courants. -Possibilité d'acidose lactique.
Sulfonylurées	Gliclazide Glipizide	-Stimulation de la sécrétion d'insuline	-Action rapide - Faible coût	- Prise de poids -Risque d'hypoglycémie
Thiazolidinediones	Pioglitazone rosiglitazone	-Augmentation de la sensibilité à l'insuline dans les muscles, le foie et les tissus adipeux.	-faible risque d'hypoglycémie - Préservation des marqueurs de la fonction cellule β .	-Lenteur de l'action -Prise de poids courante -œdème et une insuffisance cardiaque nouvelle.
Agonistes des récepteurs du glucagon-like peptide-1 (GLP-1)	Exénatide, Liraglutide	-Stimulation de la sécrétion d'insuline dépendante du glucose - inhibition de la libération de glucagon, -retard gastrique vidange -suppression de l'appétit	-Perte de poids -Faible risque d'hypoglycémie	-Effets secondaires gastro-intestinaux

I.4. Place de la phytothérapie dans le traitement du diabète de type 2

La phytothérapie est le traitement ou la prévention des maladies par l'usage des plantes à propriétés thérapeutiques. Ces plantes ont été considérées comme des remèdes pour soulager les troubles physiologiques des personnes durant des siècles (Jamshidi-Kia *et al.*, 2018 ; Castagna *et al.*, 2022).

Les plantes médicinales sont une source inépuisable de substances biochimiques (alcaloïdes, flavonoïdes, polyphénols et d'autre) susceptibles de procurer des effets curatifs appréciables. Ces plantes médicinales trouvent toujours leurs places et indications thérapeutiques dans le traitement de nombreuses maladies, y compris celles du monde occidental (Mangambu *et al.*, 2014).

Depuis l'antiquité, on a traité le diabète par des plantes médicinales. Les traitements traditionnels de la maladie se sont concentrés sur le traitement de ses symptômes, tels que la soif et la polyurie. Plus de 1200 espèces végétales sont utilisées pour leurs propriétés hypoglycémiantes (Singh, 2011 ; Maniyar et Bhixavatimath, 2012).

Plus de 75 % des personnes atteintes de DT2 consomment des plantes médicinales en association avec des drogues synthétiques. Bien que seulement 10 % des personnes atteintes de diabète de type I utilisent des plantes médicinales en association avec l'insulinothérapie (Eddouks *et al.*, 2002). Les plantes les plus employées pour soigner le DT2 et leurs mécanismes d'action sont représentée dans le tableau suivant :

Tableau II : Quelques plantes médicinales utilisées pour le traitement du DT2 et leurs mécanismes d'action.

Plante	Nom vernaculaire	Mécanisme d'action
<i>Olea europea</i>	-Olive - Zitoun	Inhibition de l'activité d' α -glucosidase et α -amylase, inhibition de l'absorption du glucose (Wainstein <i>et al.</i> , 2012).
<i>Marrubiumvulgare</i>	-Marrube blanc - Meriwet	Stimulation de la sécrétion d'insuline par les cellules bêta des îlots et / ou l'inhibition du processus de dégradation de l'insuline (Boudjelal <i>et al.</i> , 2012).
<i>Phoenix dactylifera</i>	-Dattier -Nakhla	Inhibition de l'activité d' α -glucosidase et α -amylase (Khan <i>et al.</i> , 2016).
<i>Allium cepa</i>	-Oignon -Besla	Augmentation de la sécrétion d'insuline, inhibition d' α -glucosidase, augmentation de l'adiponectine (Akash <i>et al.</i> , 2014).
<i>Allium sativum</i>	-Ail - Touma	Stimulation de l'insulinosécrétion, action possible sur l'augmentation de l'utilisation du glucose et l'inhibition de son absorption intestinale (Eidi <i>et al.</i> , 2006).

Chapitre II :
Stress oxydant

II.1. Définition et généralités

L'oxygène, molécule indispensable à la vie, est susceptible d'entraîner des effets dommageables dans l'organisme via la formation de radicaux libres et d'espèces réactives de l'oxygène (ERO). Ces dernières deviennent pathologiques si elles sont formées en grandes quantités et par conséquent capables d'induire le stress oxydatif (Haleng *et al.*, 2007).

Le stress oxydatif ou stress oxydant (Figure 04) est défini comme un phénomène causé par un déséquilibre entre la production et l'accumulation d'ERO dans les cellules et les tissus et la capacité des systèmes biologiques à détoxifier ces produits réactifs (Pizzino *et al.*, 2017). Il est à noter que cette perturbation peut être provoquée par des changements de part et d'autre de l'équilibre (par exemple, une génération anormalement élevée des ERO ou de carences dans les défenses antioxydantes) (Burton et Jauniaux, 2011).

En effet, l'excès d'oxydants entraîne la diminution des antioxydants. Cela se produit lors de la synthèse d'énergie (ATP) dans les mitochondries via la phosphorylation oxydative. Evidemment, une phosphorylation oxydative inefficace peut générer des ERO, conduisant à un dysfonctionnement mitochondrial (Singh *et al.*, 2019).

Ce stress oxydant est responsable des mécanismes cytotoxiques (peroxydation des lipides membranaires, lésions de ADN...) conduisant à une mort cellulaire et une activation du système immunitaire (Barbak *et al.*, 2018).

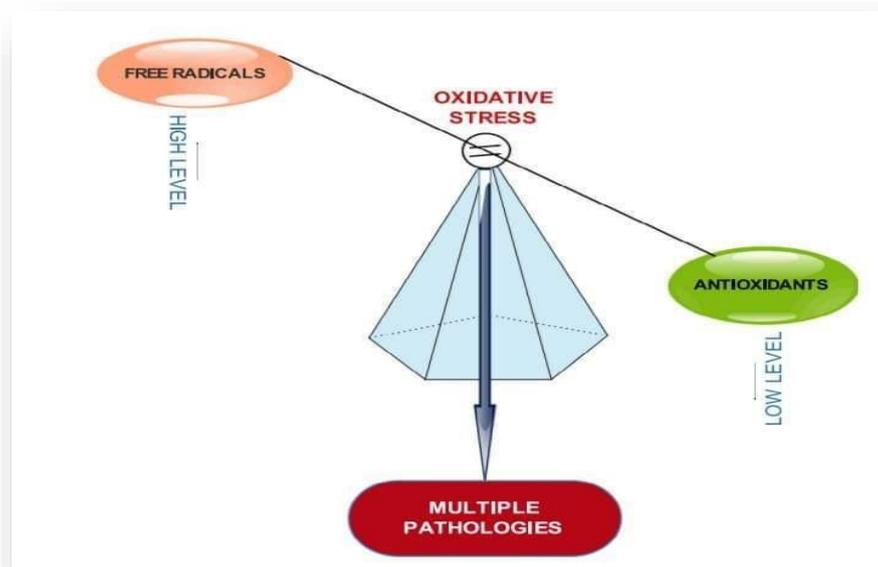


Figure 04 : Le stress oxydant : un déséquilibre entre radicaux libres et antioxydantes (Ighodaro et Akinloye, 2018).

II.1.1. Sources du stress oxydatif

La pollution, les radiations, notre mode de vie (tabagisme, alcoolisme, obésité, exercice physique intense), aussi nos mauvaises habitudes alimentaires (faibles consommations en fruits et légumes), en plus du métabolisme des xénobiotiques et certains mécanismes biochimiques (oxydation de l'hémoglobine, interventions chirurgicales...), augmentent de façon anormale la production des ERO dans notre organisme. À long terme, ceci peut contribuer à l'apparition de diverses pathologies (Haleng *et al.*, 2007 ; Yilidrim *et al.*, 2011).

II.2. Espèces réactives d'oxygène

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO ou ROS en anglais pour reactive oxygen species), sont des molécules hautement réactives contenant de l'oxygène qui résultent d'une réduction incomplète de l'oxygène moléculaire dans la cellule (Shields *et al.*, 2021). Elles peuvent être des radicaux libres dans lesquels un atome possède un ou plusieurs électrons non appariés dans son orbite externe, ou des molécules non radicalaires avec des électrons appariés (Figure 05) (Pavelescu, 2015 ; Rubio *et al.*, 2021).

Dans les conditions physiologiques normales les ERO agissent comme des molécules régulatrices et de signalisation, participent à la division, la différenciation et à la mort cellulaire (Magallón *et al.*, 2021). Mais à des concentrations élevées, elles peuvent entraîner une augmentation des dommages cellulaires ce qui conduit au développement de différents processus pathologiques, telle que le vieillissement, le cancer, la résistance à l'insuline, le diabète sucré, les maladies cardiovasculaire et la maladie d'Alzheimer (Zhang *et al.*, 2021).

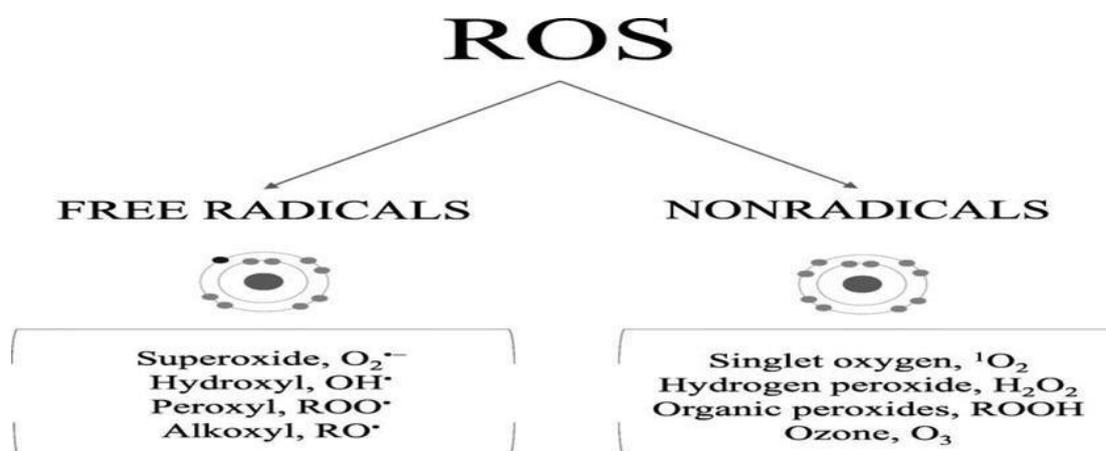


Figure 05 : Espèces réactives d'oxygène (ERO) d'intérêt majeur dans le stress oxydatif (Rubio *et al.*, 2021).

II.3. Antioxydants et mécanismes d'action

II.3.1. Définition des antioxydants

Les antioxydants sont définis comme toute substance qui, lorsqu'elle est présentée à des faibles concentrations que celle d'un substrat oxydable, sera capable de piéger les radicaux libres et retarder ou inhiber considérablement l'oxydation de ce substrat (Khizar *et al.*, 2010 ; Carochio et Ferreira, 2013) donc prévenir ou traiter les maladies liées au stress oxydatif (Valko *et al.*, 2007).

II.3.2. Principaux antioxydants

On distingue deux sources d'antioxydants (Tableau III) : l'une est endogène représentée par des enzymes fabriquées par l'organisme (antioxydants enzymatiques) et l'autre est exogène apportée par l'alimentation essentiellement les fruits et les légumes (antioxydants non enzymatiques) (Haleng *et al.*, 2007).

Tableau III : Différents types des antioxydants (Bensid *et al.*, 2022).

Antioxydants enzymatiques		Antioxydants non enzymatiques
Les enzymes primaires	<ul style="list-style-type: none"> - Glutathion peroxydase (GPx). - Superoxyde dismutase (SOD). - Catalase (CAT). 	<ul style="list-style-type: none"> - Acides phénoliques. - Flavonoïdes. - Caroténoïdes.
Les enzymes secondaires	<ul style="list-style-type: none"> - Glutathion réductase (GR). - Glucose-6-phosphate déshydrogénase. 	<ul style="list-style-type: none"> - Vitamines. - Cofacteurs. - Minéraux.

II.3.3. Mécanismes d'actions des antioxydants

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divisés en deux catégories :

A. Les antioxydants primaires ou piégeurs de radicaux

Ce genre d'antioxydants agit en arrêtant la génération de la réaction en chaîne de l'autoxydation (antioxydants brisant de chaîne).

Les antioxydants primaires donnent des électrons ou un atome d'hydrogène à l'électron non apparié du radical libre, le convertissant en un radical stabilisé par résonance. Les polyphénols, les flavonoïdes et les tocophérols sont des antioxydants primaires importants. Les amines aromatiques peuvent également prévenir l'autoxydation par le mécanisme de transfert d'électrons ainsi que les quinones (comme la vitamine K1) (Bensid *et al.*, 2022).

B. Antioxydants secondaires ou préventifs

Les antioxydants secondaires empêchent la formation ERO par différents mécanismes :

- ❖ **Les chélateurs des métaux de transition** comme le fer (Fe^{2+}) et le cuivre (Cu^+) qui interagissent avec le H_2O_2 par la chimie de Fenton pour former des radicaux hydroxyyles OH , et prévenir les oxydations (Cillard et Cillard, 2006 ; Dai et Mumper, 2010).



Les flavonoïdes sont des bons chélateurs du Fe^{2+} ce qui est un des mécanismes de leur activité antioxydant (Cillard et Cillard, 2006).

- ❖ **Les désactivateurs (quencher) de l'oxygène singulet** (caroténoïdes, lycopène).
- ❖ **L'élimination des hydro peroxydes** (intervention des enzymes GPx et CAT).
- ❖ **Les piègeurs d'oxygène** tels que les sulfites ou l'acide ascorbique (Cillard et Cillard, 2006).

II.4. Implication du stress dans le diabète

Le stress oxydatif joue le rôle principal dans la pathogenèse du diabète et leurs complications macrovasculaires et microvasculaires comme la rétinopathie diabétique, la néphropathie et la neuropathie (Zujko *et al.*, 2014).

L'état d'hyperglycémie chronique du diabète sucré conduit à un stress oxydant, c'est-à-dire un déséquilibre entre pro-oxydants et antioxydants au profit des premiers. Plusieurs mécanismes semblent impliqués dans la genèse de ce stress oxydant : auto-oxydation du glucose, glycation des protéines, voie des polyols, surproduction de radicaux superoxyde au niveau de la mitochondrie et de la NAD(P)H oxydase. L'équilibre glycémique joue un rôle très important dans la balance pro-oxydants/anti-oxydants (Figure 06) (Bonfont-Rousselot *et al.*, 2004).

❖ Auto-oxydation du glucose

En présence de fer, le glucose s'oxyde, entraînant la génération d'anions superoxydes, mais aussi la production de la forme aldéhyde du glucose, le glyoxal. Cette molécule se fixe rapidement sur les protéines dans lesquelles apparaît un résidu carboxyméthyllysine. Ce groupement capte facilement le cuivre, ce qui provoque le déclenchement de réactions de type Fenton avec production de radicaux libre il s'ensuit une augmentation de la peroxydation lipidique (Haleng *et al.*, 2007).

❖ Voie des polyols

En situation d'hyperglycémie, l'hexokinase qui permet la phosphorylation du glucose et son utilisation dans les voies de la glycolyse et des pentoses phosphates est saturée. En conséquence, le

glucose est transformé en sorbitol puis en fructose, respectivement sous l'action de l'aldose réductase et du sorbitol déshydrogénase. Suite à ces réactions, le rapport NADH/ NAD⁺ s'élève, entraînant une inhibition de la glyceraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase et une accentuation de la formation de produits terminaux de glycation (AGE). En outre, les taux cellulaires de NADPH, coenzyme nécessaire à l'activité de la glutathion réductase (régénération du GSH) ainsi qu'à l'activité de l'ascorbate réductase et de la NO-synthase, diminuent, avec pour conséquence une diminution des capacités antioxydantes (Haleng *et al.*, 2007).

❖ Glycation des protéines

Dans des conditions hyperglycémiques, les résidus aminés des protéines réagissent selon une réaction non enzymatique avec les aldéhydes des sucres réducteurs dans une série d'étapes qui se traduisent par la formation de base de Schiff et des produits d'Amadori et aboutit finalement à de gros polymères (les produits avancés de la glycation) (Naito *et al.*, 2010). Ces derniers peuvent se lier à des récepteurs présents sur les cellules endothéliales, glomérulaires et les macrophages, entraînent une augmentation de la production d'ERO (Haleng *et al.*, 2007).

La présence d'AGE chez les personnes diabétiques va contribuer au développement de pathologies associées au diabète (Haleng *et al.*, 2007).

❖ Activation des NAD(P)H oxydases vasculaires

Les cellules vasculaires telles que les cellules endothéliales ou les cellules musculaires lisses sont capables de produire des ERO via l'activation des NAD(P)H oxydases. De fortes concentrations de glucose peuvent stimuler la production d'ERO en activant la NAD(P)H oxydase par une voie dépendante de la protéine kinase C (Bonfont-Rousselot *et al.*, 2004).

❖ Voie mitochondriale

Le gradient de protons généré par la chaîne mitochondriale de transport des électrons conduit à une production intra-cellulaire de radicaux superoxyde, au niveau de deux sites principaux : la NADH déshydrogénase du complexe I, et l'interface entre l'ubiquinone et le complexe III. Cette surproduction de superoxyde est accrue en présence de fortes concentrations de glucose qui sont susceptibles d'induire la synthèse de diacylglycérol ou l'hydrolyse des phosphatidylcholines, activant ainsi la protéine kinase C (Bonfont-Rousselot *et al.*, 2004).

Le diabète est fréquemment caractérisé par une augmentation des taux ERO comme les radicaux superoxyde, H₂O₂, radical hydroxyle etc. L'augmentation anormale dans le niveau des ERO ou la

baisse simultanée des niveaux d'antioxydants conduisent à des dommages cellulaires en entervant le réticulum endoplasmique et la fonction mitochondriale, en augmentant la peroxydation des lipides et induisant une perturbation de l'ADN. Les organites endommagés déclenchent l'apoptose en cascade de signalisation en conséquence de l'augmentation du stress cellulaire (Kahkashan *et al.*, 2017).

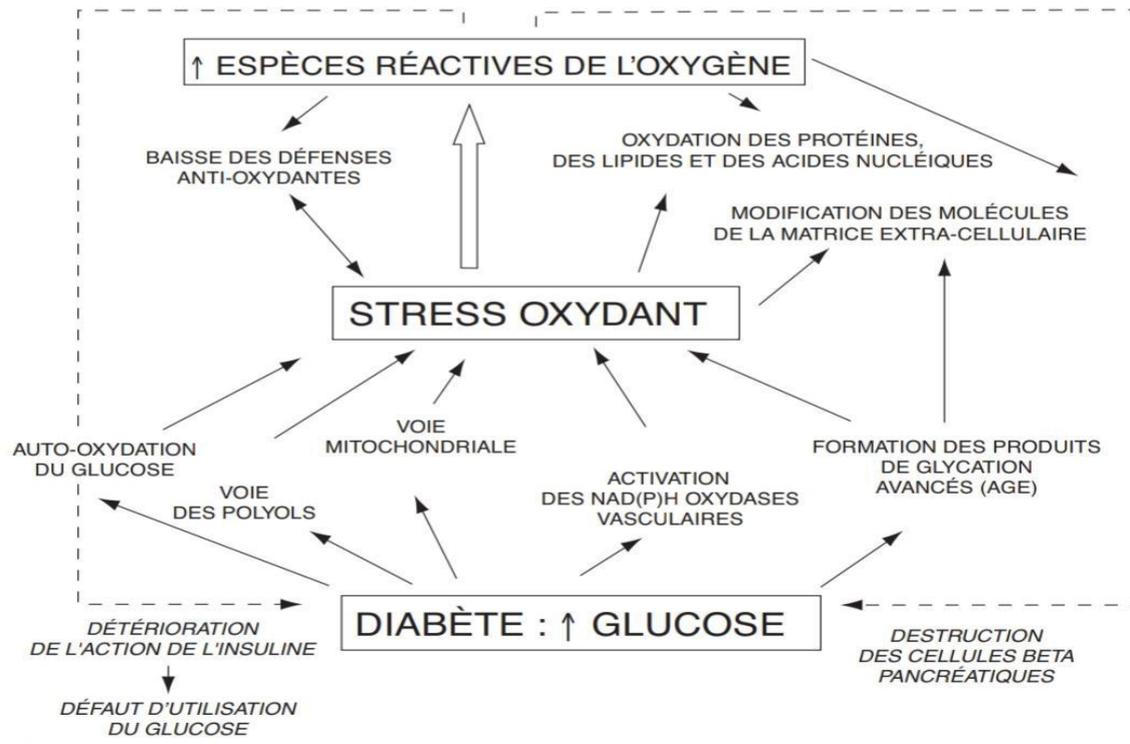


Figure 06 : Relations entre stress oxydant et hyperglycémie (Bonnefont-Rousselot *et al.*, 2004).

Chapitre III :
Présentation de
l'espèce étudiée
Fraxinus angustifolia

III.1. Description de la plante

Fraxinus angustifolia, appartenant à la famille des *Oléacées*, est un arbre qui peut atteindre plus de 30 m de hauteur et 1.5 m de diamètre. Sa couronne est dense irrégulière et en forme de dôme avec des pousses courtes et pendantes (Wallander, 2012 ; Caudullo et Durant, 2016).

Cet arbre méditerranéen possède des feuilles minces composées, disposées en groupes de 7 à 13 imparipennées, d'une longueur de 3 à 8 cm et une largeur de 1 à 1.5 cm, ayant une couleur verte brillante et sans poils (Figure 07). Cette espèce est monoïque avec des inflorescences hermaphrodites de 10 à 30 fleurs, certaines inflorescences avec des fleurs mâles pures peuvent apparaître (andromonoïques). Les fleurs sont pollinisées par le vent. Elles se développent au début du printemps ou même en automne, sans pétales, vertes avec des stigmates violet foncé et des anthères. Le fruit est un samara de 3-4 cm de long, aplati, avec une aile distale, mûrissant à la fin de l'été (Ayouni *et al.*, 2016 ; Caudullo et Durant, 2016).



Figure 07 : Photographie originale de l'arbre (A) et des feuilles (B) de *Fraxinus angustifolia* (El Ancer-Jijel, 2022).

III.2. Répartition géographique

Fraxinus angustifolia est une espèce méditerranéenne, qui se retrouve dans tout le Sud et l'Est de l'Europe, du Portugal à l'Ouest jusqu'à la mer Noire à l'Est (Temunović *et al.*, 2012), ainsi qu'en Nord de l'Afrique, plus particulièrement en Nord de l'Algérie et du Maroc (Figure 08) (Ayouni *et al.*, 2016 ; Caudullo et Durrant, 2016).

En fait, il y a plusieurs points de vue différents quant au statut taxonomique de cette espèce, mais en général, on considère que *Fraxinus angustifolia* a trois sous-espèces(*ssp*) distribuées par région géographique, *ssp.angustifolia* (dans l'ouest Méditerranée), *ssp. Oxycarpa* (dans l'est et le sud-est de l'Europe), et *ssp.syriaca* ou frêne syrien (en Turquie et en Iran vers l'est) (Temunović *et al.*, 2012).

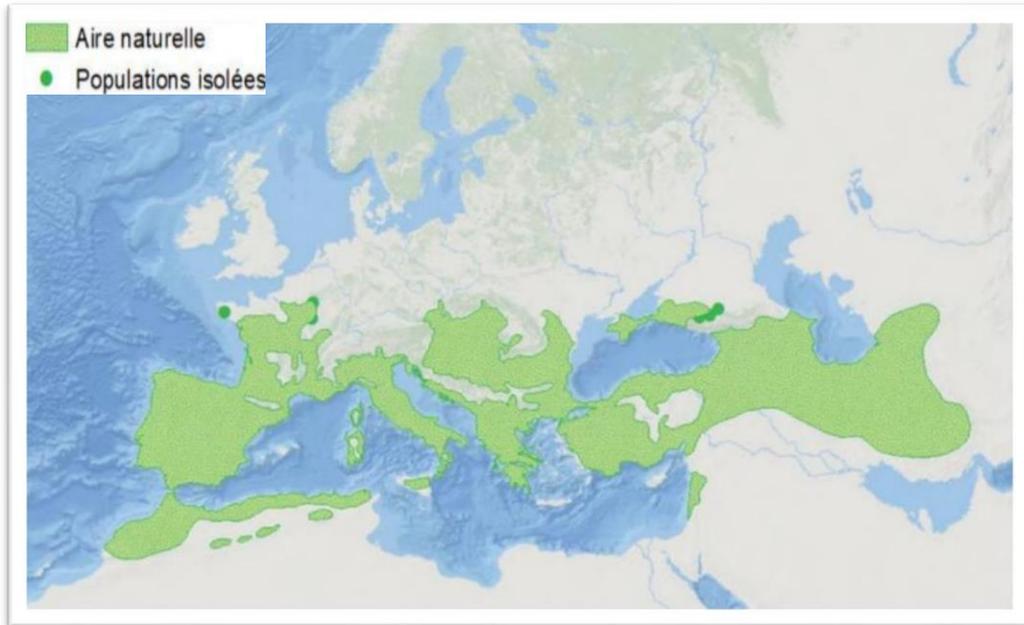


Figure 08 : Aire de répartition du *Fraxinus angustifolia* (Cano *et al.*, 2021).

III.3. Noms vernaculaires

Selon la langue et la région, plusieurs noms vernaculaires sont attribués à *Fraxinus angustifolia*, communément appelée, « Le Frêne oxyphylle, Frêne à feuilles étroites ou frêne du Midi » en français (Cano *et al.*, 2021) et en anglais « narrow leaved Ash, desert ash » (Ayouni *et al.*, 2016) ; « Dardar » est le nom arabe (Khitri *et al.*, 2016).

III.4. Position systématique

Selon (Wallander, 2008), l'espèce *Fraxinus angustifolia* est placée dans la position systématique suivante :

Règne : Végétale

Embranchement : Spermaphytes

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous classe : Astéridées

Ordre : Lamiales

Famille : *Oléacées*

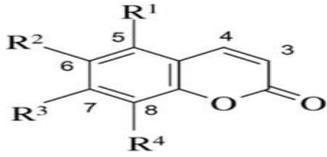
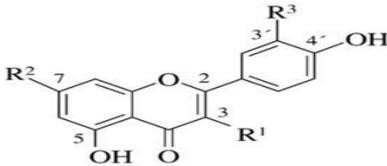
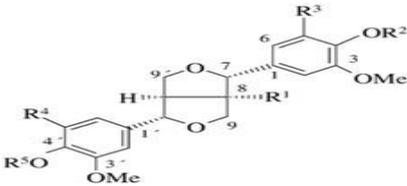
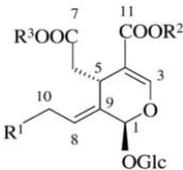
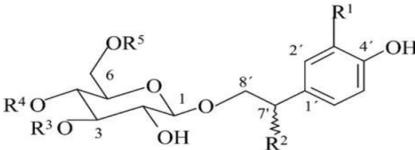
Genre : *Fraxinus*

Espèce : *Fraxinus angustifolia*.

III.5. Composition chimique

Les études phytochimiques sur l'espèce *Fraxinus angustifolia* indiquent la présence d'un éventail de composés chimiques. Parmi eux, on trouve : les coumarines, les flavonoïdes, les lignanes, les secoiridoides et les phenylthanoïdes glycosylés (Tableau IV).

Tableau IV : Principaux composés actifs de *Fraxinus angustifolia* (Kostova et Iossifova, 2007).

Composés	structure chimique	Exemple
Coumarines		Esculetin Fraxetin Fraxin
Flavonoïdes		Rutin Astragalin Nicotiflorin
Lignanes		Pinoresinol Pinoresinol-4-O- β -D-glucopyranoside
Secoiridoïdes		Oleuropein Ligstroside 10-HydroxyLigstrosid
Phénylthanoides glycosylés		Vererbascoside

III.6. Propriétés et utilisations thérapeutiques

Fraxinus angustifolia est l'un des arbres les plus répons dans le nord de l'Algérie qui est connu par ses utilisations traditionnelles (nourriture pour bétail, source principale de bois de chauffage). Cette espèce ayant également une grande valeur dans la médecine populaire (Ayouni *et al.*, 2016).

Différentes parties de la plante étaient utilisées pour traiter de nombreuses maladies, les feuilles et les samares sont employées en décoctions et infusions comme anti-rhumatismes, laxatif, sudorifique, tonique mais aussi pour la perte de poids. Elles sont aussi efficaces contre les diarrhées et les parasites intestinaux (Pedro *et al.*, 2013 ; Ayouni *et al.*, 2016). L'écorce est utilisée contre les hémorragies passives, la goutte, les chole-lithiases et surtout contre les fièvres intermittentes (Ahmane *et al.*, 2019). Elle est utilisée aussi pour traiter les pathologies du système digestif et les problèmes du système nerveux (Ayouni *et al.*, 2016).

Fraxinus angustifolia possède des effets anti-inflammatoire et antioxydante (Sarfraz *et al.*, 2017), antidiabétique (Medjahed *et al.*, 2016), anti-enzymatique (Ayouni *et al.*, 2016) mais aussi anticancéreux (Kasmi *et al.*, 2021). Ces activités biologiques ont été attribuées par ces auteurs aux métabolites secondaires de cette plante.

Partie pratique

I. Matériel et méthodes

I. Matériel et méthodes

I.1. Echantillonnage

Le présent travail a été réalisé aux laboratoires de la Faculté des Science de la Nature et de la Vie, Université Mohamed Seddik Ben Yahia-Jijel. Le matériel végétal utilisé est *Fraxinus angustifolia* précisément les feuilles, qui ont été récoltées au mois du mars 2022 dans la région d'El Ancer de la wilaya de Jijel (Figure 09).



Figure 09 : Localisation géographique de la station de récolte de *Fraxinus angustifolia* (Google earth).

I.2. Préparation de la poudre végétale

Après la récolte, le matériel végétal a été débarrassé des débris, séché à l'étuve à 40°C pendant 03 jours pour affiner le séchage et pour obtenir un meilleur broyage. Après séchage, les feuilles ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre très fine puis le broyat a été tamisé sur un tamis (Figure 10). La poudre obtenue a été ensuite conservée dans des flacons en verre et stockée à l'abri de la lumière et de l'humidité jusqu'à l'extraction.



Figure 10 : Séchage (1) broyage (2) et la poudre (3) des feuilles de *Fraxinus angustifolia*.

I.3. Extraction des composés phénoliques

Le méthanol est le meilleur solvant pour l'extraction des composés phénolique car il permet d'obtenir un meilleur rendement d'extraction et il possède l'avantage d'être plus facile à éliminer (Owen et Johns, 1999).

L'extraction des composés phénoliques à partir des feuilles de *Fraxinus angustifolia* a été réalisée par une méthode solide – liquide selon la procédure d'Owen et Johns (1999).

50 g de poudre de feuilles de *Fraxinus angustifolia* ont été macérées dans 500 ml de méthanol (80%), le mélange a été maintenu sous agitation à l'aide d'un agitateur magnétique pendant 72 h à une température ambiante et à l'abri de la lumière. Après, le macérât obtenu a été filtré à l'aide de papier Whatman N°3 et le filtrat récupéré a été soumis à une dilipidation par l'héxane. La phase méthanolique obtenue a subi une évaporation à l'aide d'un rotavapeur de type Heidolph, puis a été séchée à l'étuve 40°C jusqu' à évaporation complète et l'obtention d'un extrait sec (Figure 11). L'extrait sec constitué est conservé au réfrigérateur jusqu'à son utilisation.

Le rendement d'extraction exprimé en (%) a été déterminé selon la formule suivante (Owen et Johns, 1999).

$$\text{Rendement d'extraction (\%)} = \frac{P_S}{P_P} \times 100$$

P_S : Poids de l'extrait sec en gramme (g).

P_P : Poids de la poudre en gramme (g).

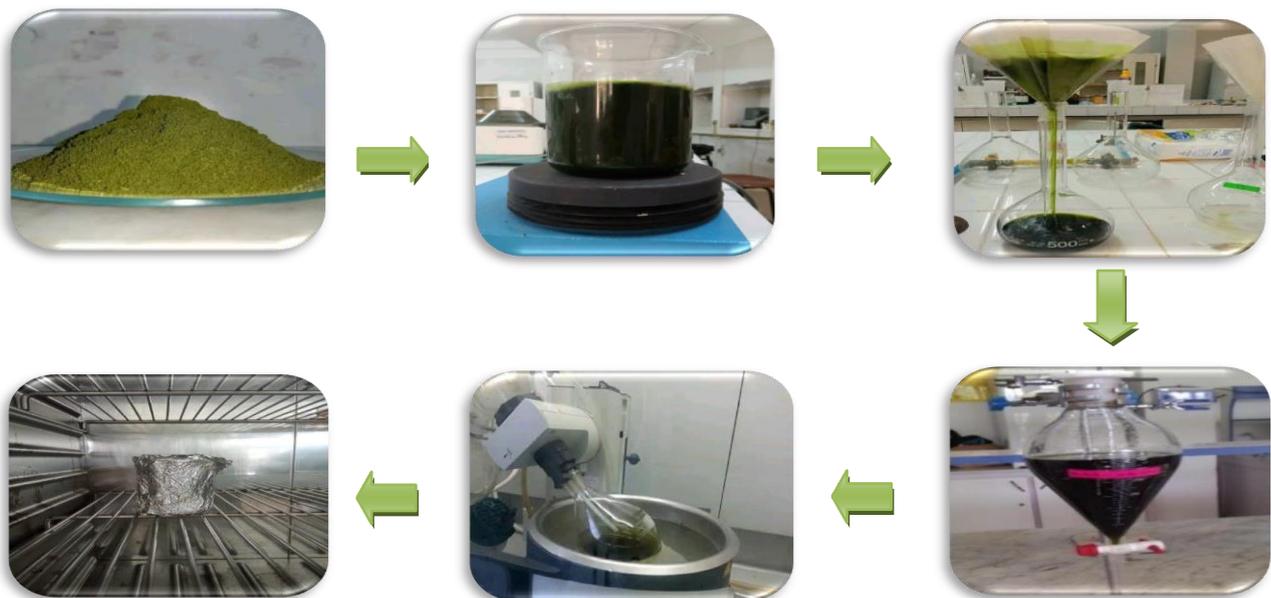


Figure 11 : Étapes de l'extraction des composés phénoliques.

1.4. Dosage phytochimique

1.4.1. Dosage des composés phénoliques totaux

❖ Principe

Les composés phénoliques totaux ont été estimés selon la méthode spectrophotométrique basée sur le réactif de Folin-Ciocalteu, ce réactif de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif Folin-Ciocalteu en un complexe ayant une couleur bleue constitué d'oxyde de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés (Boizot et charpentier, 2006).

❖ Mode opératoire

Le protocole utilisé pour ce dosage est décrit par (Heilerova *et al.*, 2003) avec quelques modifications. Un volume de 0,2 ml de l'extrait (250 µg/ml) a été mélangé avec 1,5 ml du réactif de Folin-Ciocalteu dilué (1/10). Le mélange est laissé reposer 5 minutes à l'abri de la lumière. Par la suite, 1,5 ml de la solution Na₂CO₃ (7,5%) ont été ajoutés à l'ensemble. Après 90 minutes d'incubation à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 750 nm. Il est à noter qu'un blanc a été préparé de la même manière en substituant l'extrait par le méthanol.

Les teneurs en phénols totaux ont été calculées à partir d'une courbe d'étalonnage réalisée par l'acide gallique à différentes concentrations (Annexe 01). Les résultats ont été exprimés en milligramme (mg) équivalent d'acide gallique par gramme (g) d'extrait brute (mg EAG/g EB).

1.4.2. Dosage des flavonoïdes

❖ Principe

La teneur en flavonoïdes des extraits a été déterminée selon la méthode de chlorure d'aluminium. Le principe de la méthode est basé sur la réaction du chlorure d'aluminium avec l'extrait, entraînant ainsi la formation d'un complexe jaune qui absorbe à 430 nm (Maksimovic *et al.*, 2005).

❖ Mode opératoire

La méthode utilisée a été décrite par (Brand-williams *et al.*, 1995). 100 µl de la solution d'extrait testé à différentes concentrations (25 à 200 mg/ml) ont été mélangés avec 2,9 ml d'une solution méthanolique de DPPH (0,025 g/l) fraîchement préparée. Un témoin a été préparé en parallèle en remplaçant l'extrait par le méthanol. Après incubation à l'obscurité pendant 30 min et à température ambiante, la lecture des absorbances a été effectuée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Les résultats ont été exprimés en pourcentage selon la formule :

$$\text{Activité antiradicalaire (\%)} = (A_T - A_E / A_T) \times 100$$

Où :

A_T : Absorbance du témoin après 30 min d'incubation.

A_E : Absorbance de l'échantillon après 30 min d'incubation.

❖ Détermination de la concentration inhibitrice IC₅₀

L'IC₅₀ est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% des radicaux DPPH. Elle est calculée graphiquement par la régression linéaire des graphes tracés.

1.5.2. Mesure du pouvoir réducteur de fer

❖ Principe

Le pouvoir réducteur est défini comme étant la capacité d'un antioxydant à transférer un électron ou à libérer un atome d'hydrogène. Le principe de cette méthode est basé sur la réduction de Fe³⁺ (fer ferrique) en Fe²⁺ (fer ferreux) par les antioxydants contenus dans l'extrait (Irshad *et al.*, 2012) ; en présence d'un agent chromogène : le ferricyanure de potassium [K₃Fe (CN)₆] en milieu acidifié par l'acide trichloracétique (Ribeiro *et al.*, 2008). La forme réduite donne une couleur verte qui est proportionnelle au pouvoir réducteur de l'extrait (Balasundram *et al.*, 2005).

❖ Mode opératoire

La détermination du pouvoir réducteur a été réalisée selon la méthode d'Oyaizu (1986) décrite par (Hseu *et al.*, 2008) avec une légère modification.

Un millilitre de l'extrait à différentes concentrations (25 à 200 µg/ml) a été mélangé avec 2 ml d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 1 ml de ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ à 1%. L'ensemble a été incubé au bain-marie à 50°C pendant 20 min. Un volume de 1 ml d'acide trichloracétique (TCA) à 10% a été ensuite ajouté pour stopper la réaction et les tubes ont été centrifugés à 3000 rpm pendant 10 min. Par la suite, 1,5 ml du surnageant ont été récupérés et combinés avec 1,5 ml d'eau distillée et 150 µl de chlorure ferrique ($FeCl_3$) à 0,1%. L'absorbance a été mesurée à 700 nm.

I.6. Evaluation de l'activité hypoglycémiant *in vitro*

I.6.1. Test de l'inhibition de l'activité d' α -amylase

❖ Principe

Le principe de cette méthode repose sur le dosage des groupements aldéhydes et cétones libre des sucres réducteurs libérés lors de l'hydrolyse de l'amidon par l' α -amylase.

En milieu alcalin et à chaud, l'oxydation de ces fonctions provoque simultanément la réduction l'acide 3,5-dinitrosalicylique de couleur jaune opaque en acide 3-amino 5 nitrosalicylique de couleur orange qui absorbe à 540 nm (Visvanathan *et al.*, 2020).

❖ Préparation des réactifs

Solution enzymatique

L'enzyme utilisée est l' α -amylase de pancréas de porc sous forme lyophilisée. La solution d'enzyme a été préparée par la solubilisation de 0,5 mg/ml d'enzyme lyophilisée dans le tampon phosphate (0,02 M, pH 6,9) contenant du NaCl (0,006 M).

Solution du substrat

Le substrat de cette catalyse est l'amidon soluble de pomme de terre. Un gramme d'amidon a été dissout dans 100 ml de solution tampon phosphate (0,02 M, pH 6,9) contenant du Na Cl (0,006 M) sous agitation.

Réactif 3,5-dinitrosalicylique (DNSA)

Dans un Erlen Meyer, 1 g de DNSA a été dispersé dans 50 ml d'eau distillée. A cette solution 30 g de tartrate double de sodium et de potassium ont été ajoutés sous agitation. La solution obtenue est de couleur jaune opaque. L'addition de 20 ml d'une solution de la soude (Na OH) 2N rend le réactif limpide avec une couleur orange. Le volume final a été ajusté à 100 ml avec de l'eau distillée. Le réactif obtenu a été conservé à l'abri de la lumière et à +4°C.

❖ Mode opératoire

Le test d'inhibition de l' α -amylase est déterminé selon la méthode décrite par Apostolidis *et al.* (2007) avec quelques modifications.

Différentes concentrations d'extrait (25-200 μ g/ml) ont été préparées dans 500 μ l de la solution tampon phosphate (0,02 M, pH 6,9) puis 100 μ l d' α -amylase ont été ajoutés à chaque tube. Après incubation à 25°C pendant 10 min, 500 μ l de solution d'amidon à 1% ont été ajoutés au mélange réactionnel et les tubes ont été incubés encore une fois à 25°C pendant 10 min. La réaction enzymatique a été stoppée par l'addition de 1 ml de DNSA et les tubes ont été incubés au bain marie à 95°C pendant 5 min. Après refroidissement, le mélange réactionnel a été dilué avec 10 ml de l'eau distillée et l'absorbance a été mesurée à 540 nm.

L'acarbose a été utilisé dans cette expérience comme témoin positif (standard) afin de comparer son activité vis -à-vis de l'alpha amylase par rapport à celle d'extrait.

❖ Expression des résultats

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

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

Les valeurs IC₅₀ (concentration d'inhibiteur nécessaire pour inhiber 50% de l'activité enzymatique) ont été déterminées graphiquement à partir de l'équation :

$$\text{Taux d'inhibition} = f(\log(\text{concentrations}))$$

I.6.2. Test de l'inhibition de l'activité d' α -glucosidase

❖ Principe

La méthode est basée sur la mesure par spectrophotométrie de l'hydrolyse du p-nitrophényl α -D-glucopyranoside (p-NPG) en α -D-glucopyranose et p-nitrophénol de couleur jaune (Figure 13), résultat de la réaction catalysée par l' α glucosidase (Kim *et al.*, 2005).

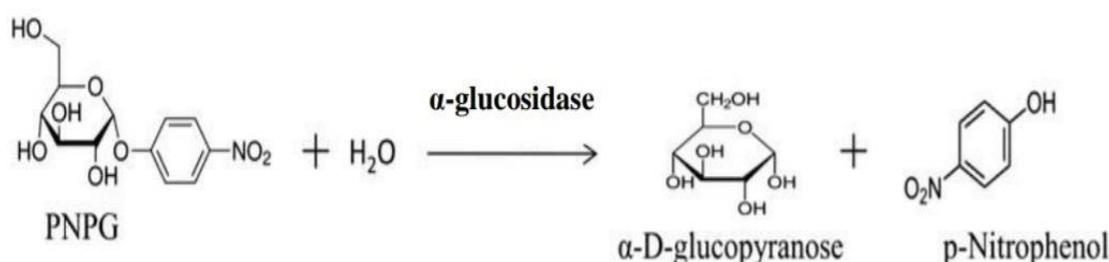


Figure 13 : Réaction d'hydrolyse du pNPG par l' α -glucosidase (Mohiuddin *et al.*, 2016).

❖ Mode opératoire

L'activité inhibitrice de l' α -glucosidase de l'extrait a été réalisée selon la méthode de Honda et Hara (1993) avec des légères modifications. Différentes concentrations de l'extrait (25-200 μ g/ml) ont été ajoutées à 200 μ l de solution d' α -glucosidase (2,4 U) et incubées pendant 10 minutes à 37°C. La réaction enzymatique a été démarrée en ajoutant 200 μ l de pNPG (5 mM). Le mélange est ensuite incubé à 37°C pendant 30 min. Après incubation, 1 ml de Na_2CO_3 (0,1 M) a été ajouté pour arrêter la réaction et l'absorbance a été mesurée par spectrophotomètre à une longueur d'onde de 400 nm.

L'acarbose a été pris comme médicament antidiabétique standard.

Les résultats de l'activité inhibitrice de l' α -glucosidase ont été exprimés en pourcentage d'inhibition, et les valeurs IC_{50} ont été déterminées de la même manière qu'au cours du test de l' α -amylase.

I.7. Analyse statistique

Les résultats des différentes évaluations sont donnés sous forme de moyenne \pm écart types. Toutes les déterminations ont été réalisées en triple exemplaire et les données ont été analysées par ANOVA suivie d'une multiple comparaison de Tukey-Kramer HSD (Logiciel JMP, Version 7.0) avec un niveau de signification de 0,05.

II. Résultats et discussion

II. Résultats et discussion

Le recours au traitement par les plantes ainsi que la recherche des nouvelles substances à activités biologiques constituent une des plus grandes préoccupations scientifiques. Cela n'est abordable que par faire d'abord un appel au dosage des composés chimiques notamment les polyphénols totaux et flavonoïdes.

Dans le présent travail, et dans le cadre de la valorisation des plantes médicinales locales, l'extraction des composés phénoliques à partir de la poudre des feuilles de la plante *Fraxinus angustifolia* a été effectuée par macération dans le méthanol et son activité antioxydante a été évaluée en utilisant la méthode de DPPH et le pouvoir réducteur de fer. Son effet sur quelques enzymes impliquées dans l'hydrolyse des glucides à savoir α -amylase et d' α -glucosidase a été testé dans le but d'élucider son effet hypoglycémiant.

II.1. Rendement de l'extraction

Le rendement en extrait brut exprimé en pourcentage par rapport au poids du matériel végétal sec de départ des feuilles de *Fraxinus angustifolia* est présenté dans le tableau suivant :

Tableau V : Rendement d'extrait de la plante étudiée exprimé en pourcentage.

La plante	Rendement (%)
<i>Fraxinus angustifolia</i>	23,11 %

Le résultat obtenu montre que les feuilles de *Fraxinus angustifolia* ont donné un bon rendement d'extraction au méthanol avec une valeur de 23,11%.

Selon Ayouni *et al.* (2016), le rendement de l'extrait des feuilles de *Fraxinus angustifolia* collectés de la région de Chemini (Bejaïa) était de 19,8% après une extraction dans l'éthanol, par contre selon Ahmane et ces collaborateurs (2019), le rendement d'extrait éthanolique des feuilles récoltées de la région d'Amizour (Bejaïa) était de 17%. Ces résultats sont inférieurs à ceux obtenus dans notre étude.

Ceci peut être dû aux différentes conditions d'extraction notamment l'effet du solvant utilisé, à la matrice végétale, à la durée et de la méthode d'extraction avec différents paramètres physiques et chimiques (Ayouni *et al.*, 2016).

II.2. Etude phytochimique

L'étude quantitative de l'extrait brut de *Fraxinus angustifolia*, au moyen des dosages spectrophotométriques, avait pour objectif de déterminer leur teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes. La raison principale pour le choix de ces substances réside dans le fait que la majorité des propriétés antioxydantes des plantes leur sont attribuées.

II.2.1. Teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes

La teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes a été déterminée par la méthode colorimétrique au réactif de Folin-Ciocalteu et au chlorure d'aluminium respectivement. Les résultats obtenus ont été exprimés en mg équivalent d'acide gallique par g de l'extrait brut et mg équivalent de quercétine par g d'extrait brut, en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée à l'aide de l'acide gallique et de la quercétine (Annexe 01 et 02).

Les résultats des teneurs en polyphénols et en flavonoïdes sont présentés dans la figure 14.

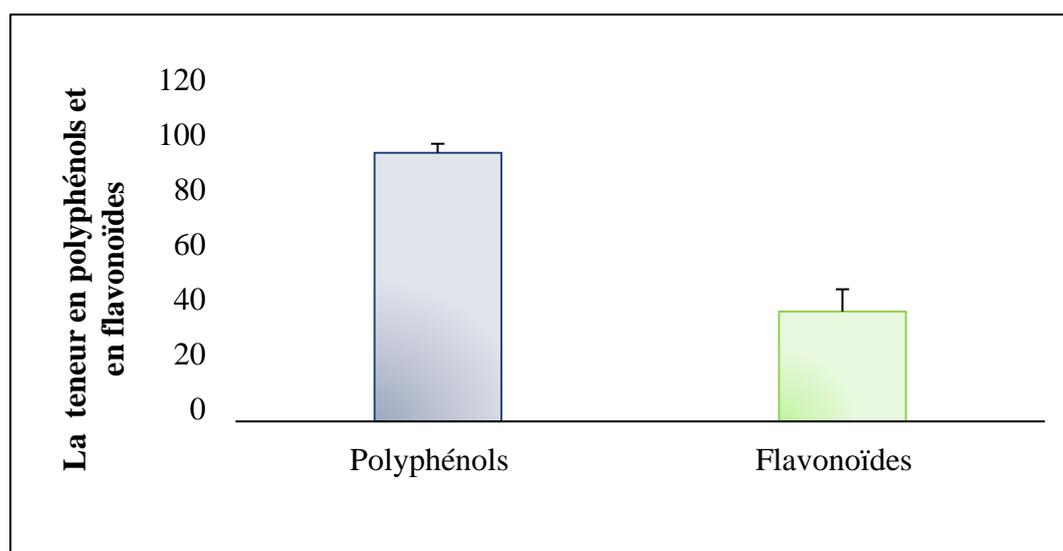


Figure 14 : Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes de *F. angustifolia* (chaque valeur représente la moyenne de quatre essais \pm écart-types).

D'après la figure précédente, nous constatons que l'extrait de la plante *Fraxinus angustifolia* est riche en polyphénols totaux avec une teneur de $94,58 \pm 3,21$ mg EAG/g EB. L'extrait renferme aussi une bonne quantité de flavonoïdes avec un teneur de $38,7 \pm 7,84$ mg EQ/g EB.

Les travaux réalisés par Medjahed *et al.* (2016), sur la même espèce récoltée de la région d'Amizour (Bejaia) en utilisant l'éthanol comme solvant d'extraction ont montré des teneurs plus élevées en polyphénols et en flavonoïdes qui étaient de $194,05 \pm 14,08$ mg EAG/g d'extrait et $100,29 \pm 17,60$ mg E Erutin/g d'extrait successivement. Ces teneurs sont nettement supérieures à nos résultats.

Une autre étude réalisée par Ahmane et ses collaborateurs (2019) montre que l'extrait éthanolique des feuilles de *Fraxinus angustifolia* présente une teneur en polyphénols supérieure à celle trouvée dans notre étude (536 ± 1 mg E Acide Vallique/g d'extrait) alors que la teneur en flavonoïdes était inférieure à la notre (31 ± 1 mg E Erutin/g d'extrait).

La différence dans le contenu phénolique (y compris les flavonoïdes) décrit dans la littérature peut être attribuée à plusieurs facteurs à savoir la méthode d'extraction et la méthode de quantification. Par ailleurs, les facteurs environnementaux (la zone géographique avec climat, sol, topographie et êtres vivants comme les microorganismes qui se trouve sur la plante et même dans le sol), la période de la récolte et le stade de développement de la plante peuvent également influencer l'estimation de la teneur en polyphénols et en flavonoïdes (Locatelli *et al.*, 2010 ; Ahmane *et al.*, 2019).

II.3. Résultats de l'activité antioxydante

La capacité antioxydante des extraits des plantes est largement dépendante de la composition de ces extraits ainsi que les conditions de manipulation des tests *in vitro*. Une seule méthode n'est pas suffisante pour caractériser le pouvoir antioxydant d'un échantillon (Wong *et al.*, 2006). C'est pourquoi notre choix s'est porté sur l'utilisation de deux tests chimiques à savoir ; le piégeage du radical libre DPPH et la réduction de fer.

II.3.1. Activité antiradicalaire (DPPH)

Le radical DPPH est largement utilisé pour l'évaluation de l'activité antioxydante des molécules biologiques. C'est un radical synthétique organique stable, qui peut être réduit en présence d'antioxydants par transfert d'électrons ou de protons, ce qui entraîne une décoloration visuellement perceptible du violet au jaune. L'intensité de cette couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons.

Les résultats de l'activité antiradicalaire de l'extrait du *Fraxinus angustifolia* ainsi que du standard (acide ascorbique), exprimés en pourcentage d'inhibition du radical DPPH sont illustrés dans la figure 15.

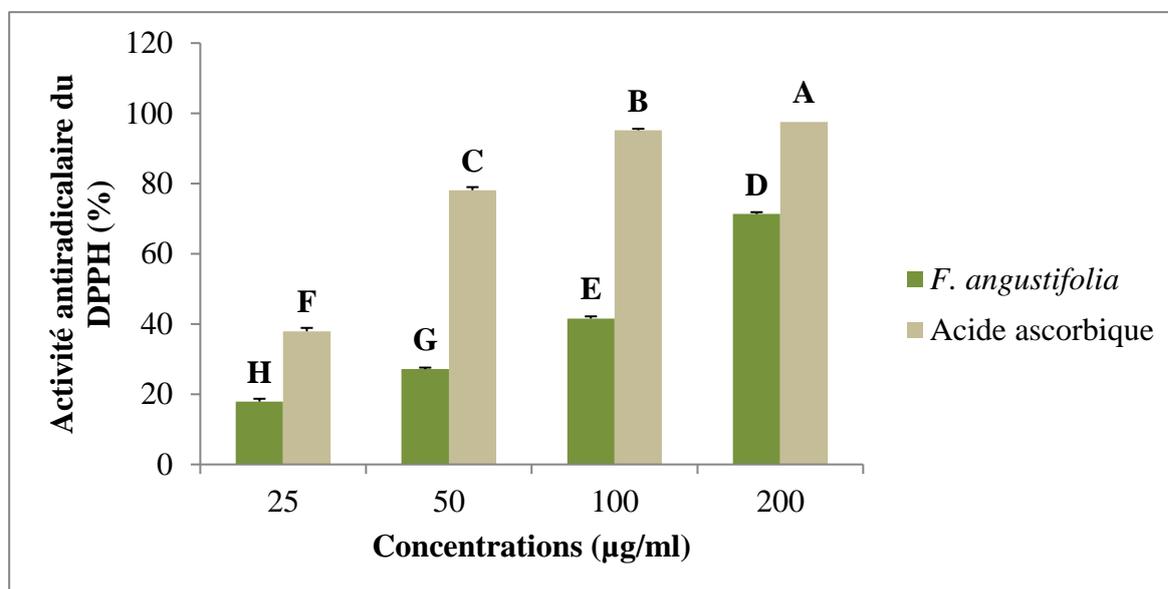


Figure 15 : Pouvoir antiradicalaire de l'extrait de la plante et du standard, exprimé en pourcentage.

Chaque valeur représente la moyenne de quatre essais \pm écart-types. Les données ont été analysées par ANOVA suivie d'une multiple comparaison de Tukey-Kramer HSD. Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives $A > B > C > D > E > F > G > H$.

Les résultats de la présente étude ont montré que l'extrait méthanolique de la plante a une action inhibitrice inférieure à celle du standard (acide ascorbique). Le pourcentage d'inhibition augmenté avec l'augmentation de la concentration de l'échantillon, il est dose-dépendant.

Les pourcentages d'inhibition du radical DPPH de l'extrait phénolique du *Fraxinus angustifolia* étudiée varient entre $17,91\% \pm 0,79$ et $71,31\% \pm 0,54$.

À la concentration $200 \mu\text{g/ml}$, l'acide ascorbique possède l'effet le plus important avec un pouvoir de $97,55\% \pm 0,31$. *Fraxinus angustifolia* a montré une activité moins importante avec un pourcentage d'inhibition inférieure à celui de standard $71,31\% \pm 0,54$.

❖ Détermination d'IC₅₀

L'IC₅₀ est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé, elle exprime la quantité d'antioxydante requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC₅₀ est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande.

Les valeurs d'IC₅₀ trouvées pour l'extrait de la plante *Fraxinus angustifolia* et l'acide ascorbique sont représentées dans le tableau VI.

Tableau VI : Concentrations inhibitrices 50 (IC₅₀) d'extrait méthanolique et du standard pour le test d'activité antiradicalaire (DPPH).

Plante	<i>Fraxinus angustifolia</i>	Acide ascorbique
IC ₅₀ (µg/ml)	107,34±1,37	27,14±0,90

Les résultats présentés dans le tableau VI montre que l'extrait testé possède une bonne activité antiradicalaire avec une valeur IC₅₀ de 107,34±1,37 µg/ml. En comparaison avec l'acide ascorbique qui a démontré une valeur IC₅₀ de 27,14±0,90 µg /ml. Nous constatons que l'extrait des feuilles de *Fraxinus angustifolia* est moins actif par rapport au standard.

Dans une étude effectuée par Boukerouis et ces collaborateurs (2016) sur des extraits de feuilles de *Fraxinus angustifolia*, des IC₅₀ de 54,46±2,38 µg/ml et de 59,32±3,39 µg/ml ont été démontré pour l'extrait éthanolique et d'acétate d'éthyle respectivement. Dans une autre étude menée par Touhami *et al.* (2017) sur les feuilles de la même espèce de la plante de la Tunisie, l'extrait a montré une IC₅₀=8,81±0,20 µg/ml. Ces résultats sont nettement supérieurs à ceux obtenus dans notre étude.

Plusieurs travaux ont montré une bonne corrélation entre les IC₅₀ et la teneur en polyphénols et en flavonoïdes (Tlili *et al.*, 2020). Par ailleurs, il est bien établi qu'il y a une relation positive entre l'activité antioxydante et la structure des polyphénols.

Généralement, les polyphénols avec un nombre élevé du groupements hydroxyles présentent l'activité antioxydante la plus élevée (Heim *et al.*, 2002) due à leur pouvoir de donner plus d'atomes pour stabiliser les radicaux libres (Torres de pinedo *et al.*, 2007), ce qui peut expliquer en partie l'activité anti-radicalaire. Cette dernière est dépendante du nombre, de la position et de la nature des substituant sur les cycles B et C (groupements hydroxyles, metaxylés, glycosylés) et le degré de polymérisation (Popovici *et al.*, 2009). Ainsi, l'effet antioxydant n'est pas seulement dose-dépendant mais également structure-dépendant (Rodriguez-Bernaldo *et al.*, 2010).

II.3.2. Pouvoir réducteur du fer

Le pouvoir réducteur est une analyse de l'activité antioxydante qui est rapide, reproductible, et facile à exécuter. Cette méthode est basée sur la capacité des polyphénols à réduire le fer ferrique en fer ferreux. La puissance de réduction est l'un des mécanismes antioxydants (karagozler *et al.*, 2008). Les résultats obtenus sont représentés dans la figure 16.

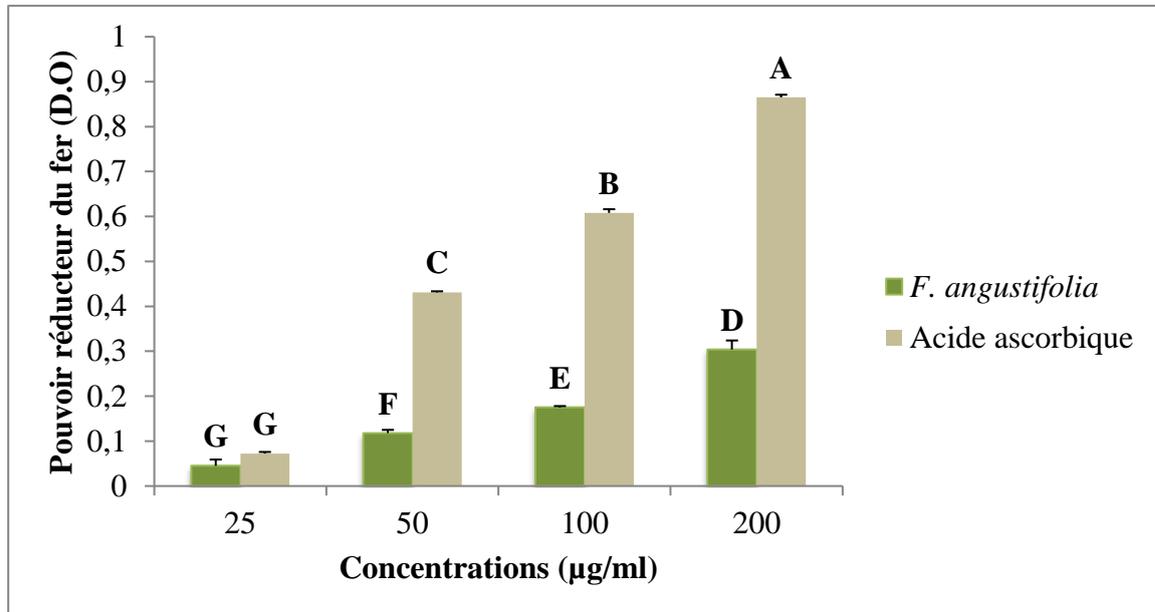


Figure 16 : Pouvoir réducteur de fer d'extrait et du standard à différentes concentrations.

Chaque valeur représente la moyenne de quatre essais \pm écart-types. Les données ont été analysées par ANOVA suivie d'une multiple comparaison de Tukey-Kramer HSD. Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives $A > B > C > D > E > F > G$.

D'après la figure 16, on remarque que l'activité réductrice augmente au fur et à mesure que la concentration de l'extrait et de standard augmente. Les valeurs du pouvoir réducteur du fer de *Fraxinus angustifolia* varient entre $0,045 \pm 0,072$ et $0,304 \pm 0,865$.

En revanche, on n'observe aucune différence significative ($p < 0,05$) entre le pouvoir réducteur du fer de l'extrait des feuilles et de standard (acide ascorbique) à la concentration 25 µg/ml.

Le pouvoir réducteur d'extrait de la plante est probablement dû à la présence de groupement hydroxyle dans les composés phénoliques qui peuvent servir comme donneur d'électron. Par conséquent, les antioxydants sont considérés comme des réducteurs et inactivateurs des oxydants. Quelques études antérieures ont également montré que le pouvoir réducteur d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle (Bougandoura et Bendimerad, 2013).

II.4. Résultats de l'activité hypoglycémiante

L'évaluation de l'activité antidiabétique *in vitro* a été réalisée par l'inhibition de deux enzymes, l' α -amylase et l' α -glucosidase qui sont impliqués dans la digestion humaine et conséquemment dans l'équilibre du glucose sanguin. Par conséquent, leur inhibition peut être une stratégie importante dans la gestion de la glycémie. Les inhibiteurs naturels de l' α -amylase et de l' α -glucosidase provenant de sources végétales est une approche attrayante pour la prévention et traitement du diabète (Subramanian *et al.*, 2008).

II.4.1. L'inhibition de l'activité de l' α - amylase

Les variations du pourcentage d'inhibition de l' α -amylase par l'extrait des feuilles de la plante étudiée à différentes concentrations sont présentées dans la figure 17.

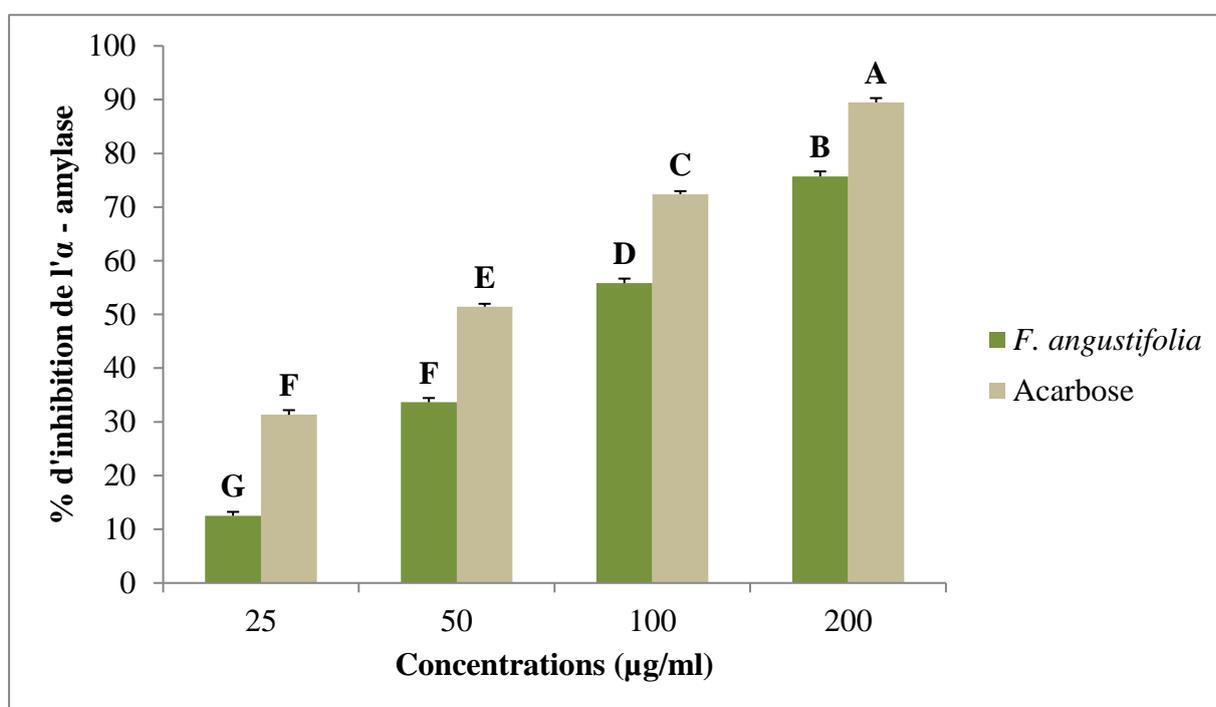


Figure 17 : Effet des différentes concentrations de l'extrait méthanolique de *Fraxinus angustifolia* sur l'activité de l' α -amylase.

Chaque valeur représente la moyenne de quatre essais \pm écart-types. Les données ont été analysées par ANOVA suivie d'une multiple comparaison de Tukey-Kramer HSD. Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives $A > B > C > D > E > F > G$.

Les résultats obtenus montrent que l'inhibition d' α -amylase est augmentée avec l'augmentation de la concentration d'extrait d'une manière significative ($p > 0,05$).

L'acarbose (agent inhibiteur utilisé comme un standard) possède l'activité la plus importante avec des pourcentages d'inhibition qui varient entre $31,32\% \pm 0,86$ et $89,49\% \pm 0,8$ par rapport à ceux de la plante qui sont de $12,52\% \pm 0,72$ à $75,72\% \pm 0,92$.

À la concentration $50 \mu\text{g/ml}$, l'extrait de *Fraxinus angustifolia* inhibe l'activité d' α -amylase d'une manière similaire à l'acarbose à la concentration $25 \mu\text{g/ml}$, aucune différence significative n'a été notée ($p < 0,05$).

❖ Détermination d'IC₅₀

Les valeurs d'IC₅₀ trouvées pour l'extrait testé et le standard sont mentionnées dans le tableau VII.

Tableau VII : Concentrations inhibitrices 50 (IC₅₀) d'extrait méthanolique et d'acarbose pour le test d'activité d' α -amylase.

Plante	<i>Fraxinus angustifolia</i>	Acarbose
IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)	$92,40 \pm 2,01$	$48,17 \pm 0,61$

Le tableau montre que l'acarbose possède l'activité la plus importante avec un IC₅₀ de $48,17 \pm 0,61 \mu\text{g/ml}$ par rapport à celle de l'extrait des feuilles ($92,40 \pm 2,01 \mu\text{g/ml}$).

Dans le travail effectué par Medjahed *et al.* (2016), l'extrait éthanolique testé a présenté une bonne activité inhibitrice d' α -amylase avec une valeur d'IC₅₀ égale à $187,42 \mu\text{g/ml}$. Cette valeur était inférieure à celle trouvée dans notre étude.

L' α -amylase pancréatique catalyse l'étape initiale de l'hydrolyse de l'amidon, principale source de glucose alimentation. Par conséquent, l'inhibition de cette enzyme empêche la libération de glucose dans le sang. L'Acarbose, le premier inhibiteur de l' α -amylase à être identifié, est actuellement utilisé pour le traitement du DT2. En outre, ce test a contribué à obtenir un aperçu du mécanisme d'action possible d'extrait de *Fraxinus angustifolia* en révélant qu'il contient des métabolites inhibitrices d' α -amylase. En fait, des études cliniques antérieures ont démontré que les composés phénoliques qui inhibent les enzymes glucidiques hydrolysantes diminuent l'hyperglycémie postprandial dans le DT2. Toutefois, ils étaient moins puissants que l'acarbose (Medjahed *et al.*, 2016).

II.4.2. L'inhibition de l'activité de l' α -glucosidase

Les résultats de l'évaluation de l'activité inhibitrice d'extrait de *Fraxinus angustifolia* sur l' α -glucosidase sont présentés dans la figure 18.

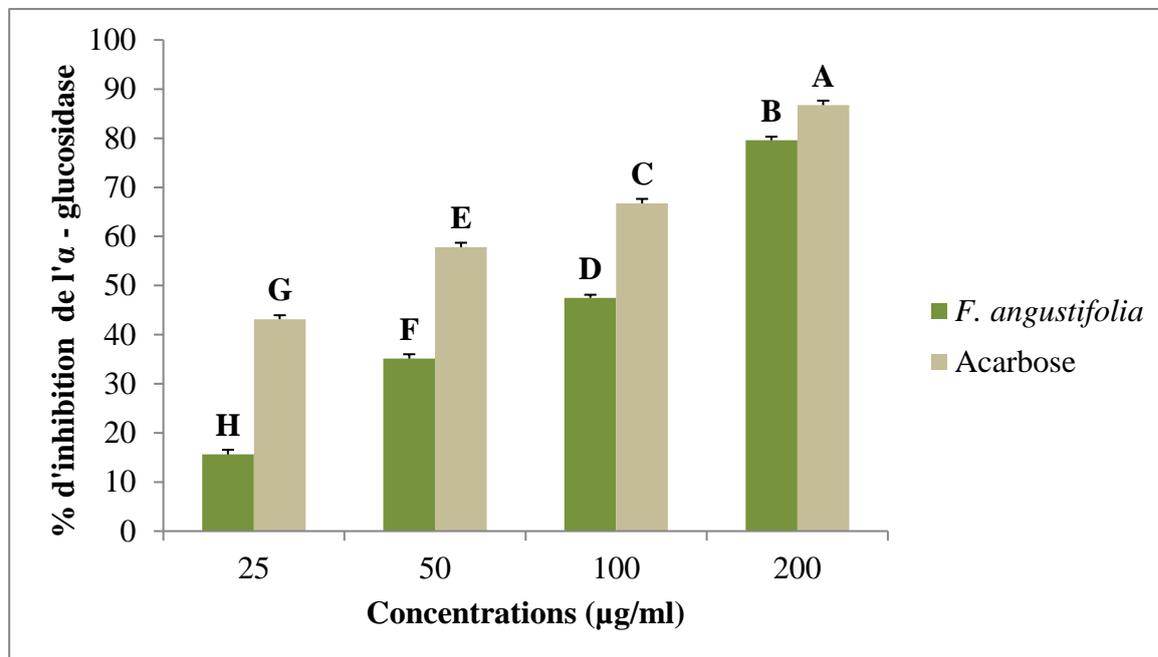


Figure 18 : Effet de différentes concentrations de l'extrait méthanolique de *Fraxinus angustifolia* sur l'activité de l' α -glucosidase.

Chaque valeur représente la moyenne de quatre essais \pm écart-types. Les données ont été analysées par ANOVA suivie d'une multiple comparaison de Tukey-Kramer HSD. Les valeurs portant des lettres différentes présentent des différences significatives $A > B > C > D > E > F > G > H$.

Comme il est montré dans la figure 18, l'extrait préparé à partir de la plante médicinale semble exercer *in vitro* un effet inhibiteur variable dose-dépendant significatif ($p > 0,05$) sur l'activité de l' α -glucosidase.

Les faibles concentrations de l'extrait méthanolique de la plante (25-100 µg/ml) montrent une activité inhibitrice moins importante par rapport à l'activité inhibitrice à la concentration 200 µg/ml.

Fraxinus angustifolia a montré une activité très importante avec un pourcentage d'inhibition atteignant $79,60\% \pm 0,71$ à 200 µg/ml. D'autre part, l'acarbose inhibe fortement l'activité α -glucosidase lorsqu'il a été comparé à l'extrait de plante. À une concentration de 200 µg/ml il atteint un taux d'inhibition de $86,74\% \pm 0,90$.

❖ Détermination d'IC₅₀

Les valeurs d'IC₅₀ trouvées pour l'extrait étudiée et le standard sont représentées dans le tableau suivant :

Tableau VIII : Concentrations inhibitrices 50 (IC₅₀) d'extrait méthanolique et d'acarbose pour le test d'activité d' α -glucosidase.

Plante	<i>Fraxinus angustifolia</i>	Acarbose
IC ₅₀ (μ g/ml)	91,26 \pm 0,21	35,67 \pm 0,62

Les résultats présentés dans le tableau ci-dessus montrent que l'acarbose possède l'effet inhibiteur d' α -glucosidase le plus important (IC₅₀ = 35,67 \pm 0,62 μ g/ml) par rapport à celui de l'extrait des feuilles (IC₅₀ = 91,26 \pm 0,21 μ g/ml).

Plusieurs études ont montré que les extraits des plantes médicinales peuvent améliorer le taux de la glycémie. Un des mécanismes possibles est l'inhibition de l' α -glucosidase par différents métabolites (Abeyssekera *et al.*, 2007 ; Bhutkar et Bhise, 2012).

Plusieurs principes actifs des plantes médicinales, appartenant aux différentes classes des métabolites (composés phénoliques, alcaloïdes, polysaccharides, terpénoïdes, etc) ont été démontrés bioactives contre l'hyperglycémie (Sales *et al.*, 2012).

Les composés qui sont présents dans notre extrait, les polyphénols et flavonoïdes, sont probablement responsables de l'inhibition d' α -glucosidase, réduisant ainsi la dégradation de l'amidon et diminuant l'absorption du glucose. Il est possible que ces composés participent en synergie dans l'inhibition de l' α -glucosidase.

Ces résultats justifient l'utilisation de cette espèce comme une plante hypoglycémiant. Sa richesse en différents métabolites la rend prometteuse dans la découverte des nouvelles molécules antidiabétiques.

En effet, les inhibiteurs d'enzyme peuvent agir selon des mécanismes variés, en se combinant soit avec l'enzyme (compétitive avec le substrat ou incompétitive), soit avec le complexe enzyme-substrat (non compétitive), soit avec le substrat lui-même (Sohrabi *et al.*, 2022).

L'activité enzymatique peut être affectée de façon spécifique par de nombreux agents chimiques et des drogues tels que l'acarbose qui a une forme proche de celle des oligosaccharides issus de la digestion des glucides. Il peut ainsi se lier aux sites de l' α -amylase ou de l' α -glucosidase, en les inhibant puissamment de façon compétitive et dose dépendante (Subramanian *et al.*, 2008).

*Conclusion et
perspectives*

Conclusion et perspectives

La phytothérapie représente l'un des domaines les plus importants de la médecine traditionnelle partout dans le monde. De plus, les plantes médicinales sont considérées comme une source importante de nouveaux médicaments à cause de leur constitutions précieux en molécules bioactives. Il existe une tendance croissante à corréler les constituants phytochimiques des plantes avec ses activités pharmacologiques.

Dans le cadre de la valorisation des ressources naturelles, la présente étude a permis l'évaluation du potentiel antioxydant et hypoglycémiant des polyphénols extraits à partir de *Fraxinus angustifolia*.

L'extraction des composés phénoliques des feuilles de la plante par macération dans le méthanol à partir d'une poudre végétale a donné un bon rendement avec un taux de 23,11%.

L'étude chimique réalisée a révélé que la plante *Fraxinus angustifolia* est riche en polyphénols totaux avec une valeur égale à $94,58 \pm 3,21$ mg EAG/g, et ayant aussi une bonne quantité en flavonoïdes avec une teneur de $38,7 \pm 7,84$ mg EQ/g EB. Ces composés peuvent être responsables des effets biologiques associés à cette plante.

L'activité antioxydante *in vitro* de l'extrait méthanolique des feuilles de *Fraxinus angustifolia* a été confirmée par deux techniques : le piégeage du radical libre DPPH et la chélation des ions métalliques du fer. Pour la première technique, l'extrait a présenté une activité anti-radicalaire très importante contre le radical DPPH avec une valeur d'IC₅₀ égale à $107,34 \pm 1,37$ µg/ml. Pour la deuxième technique, les résultats montrent que l'extrait de la plante étudiée a une bonne capacité à réduire le fer, cette capacité réductrice est proportionnelle à la concentration.

Concernant l'activité hypoglycémiant *in vitro*, l'extrait testé a montré une activité hypoglycémiant importante en inhibant les deux enzymes testés ; l' α -amylase et l' α -glucosidase avec des valeurs d'IC₅₀ égale à $92,40 \pm 2,01$ µg /ml et à $91,26 \pm 0,21$ µg/ml respectivement.

Selon les résultats obtenus, nous pouvons conclure qu'il y a une bonne corrélation entre la teneur en polyphénols et flavonoïdes totaux et l'activité antioxydante et hypoglycémiant de l'extrait de la partie aérienne de cette plante. Ces résultats constituent une justification scientifique de l'usage traditionnel du *Fraxinus angustifolia* et confirment la pertinence des remèdes traditionnels dans le traitement de nombreuses maladies.

Par conséquent des études plus approfondies *in vivo* seraient nécessaires pour examiner les activités biologiques des composés actifs présents dans l'extrait de la plante et pour mieux comprendre leur mécanisme d'action ainsi que leur site d'action au niveau de la cellule, et par conséquent, la possibilité de leurs utilisations pharmaceutiques.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

- Abeysekera, W. K. S. M., Chandrasekera, A., & Liyanage, P. K. (2007).** Amylase and glucosidase enzyme inhibitory activity of ginger (*Zingiber officinale Roscoe*) an *in vitro* study. *Tropical agricultural research*, 19, 128-135.
- Addab, N., Fetni, S., Hamlaoui, F., Zerguine, A., &Mahloul, K. (2020).** Comparative evaluation of antioxidant activity of ethanolic extracts from leaves of *Olea europaea L.* from Eastern Algeria. *Journal de la faculté de médecine d'Oran*, 4(2), 579-586.
- Agarwal, P., & Gupta, R. (2016).** Alpha-amylase inhibition can treat diabetes mellitus. *Research and Reviews Journal of Medical and Health*, 5(4), 1-8.
- Ahmane, N., Atmani-Kilani, D., Chaher, N., Ayouni, K., Rahmani-Berboucha, M., Costa, G. D., ... & Atmani, D. (2019).** Identification of bioactive compounds from *Fraxinus angustifolia* extracts with anti-NADH oxidase activity of bovine milk xanthine oxidoreductase. *Turkish Journal of Biology*, 43(2), 133-147.
- Akash, M. S. H., Rehman, K., & Chen, S. (2014).** Spice plant *Allium cepa* : Dietary supplement for treatment of type 2 diabetes mellitus. *Nutrition*, 30(10), 1128-1137.
- Apostolidis, E., Kwon, Y. I., &Shetty, K. (2007).** Inhibitory potential of herb, fruit, and fungal-enriched cheese against key enzymes linked to type 2 diabetes and hypertension. *Innovative Food Science &Emerging Technologies*, 8(1), 46-54.
- Ayouni, K., Berboucha-Rahmani, M., Kim, H. K., Atmani, D., Verpoorte, R., & Choi, Y. H. (2016).** Metabolomic tool to identify antioxidant compounds of *Fraxinus angustifolia* leaf and stem bark extracts. *Industrial Crops and Products*, 88, 65-77.
- Balasundram, N., Tan, Y. A., Sambanthamurthi, R., Sundram, K., &Samman, S. (2005).** Antioxidant properties of palm fruit extracts. *Asia Pacific journal of clinical nutrition*, 14(4), 319-324.

Bellamy, L., Casas, J. P., Hingorani, A. D., & Williams, D. (2009). Type 2 diabetes mellitus after gestational diabetes : a systematic review and meta-analysis. *The Lancet*, 373(9677), 1773-1779.

Bensid, A., El Abed, N., Houicher, A., Regenstein, J. M., & Özogul, F. (2022). Antioxidant and antimicrobial preservatives : Properties, mechanism of action and applications in food—a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(11), 2985-3001.

Berbak, S., Haddad, N., Lanseur, Z., Thiebot, P., Curis, E., Desaulle, D., ... & Lerouet, D. (2018). Évaluation du stress oxydant après une ischémie cérébrale chez le rat. *Acta discipulorum academiae medicamentariae artis*, 2, 15-19.

Bhutkar, M. A., & Bhise, S. B. (2012). *In vitro* assay of alpha amylase inhibitory activity of some indigenous plants. *International Journal of Chemical Science*, 10(1), 457-462.

Boizot, N., & Charpentier, J. P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Cahier des Techniques de l'INRA*, 79-82.

Bonnefont-Rousselot, D., Beaudeau, J. L., Théron, P., Peynet, J., Legrand, A., & Delattre, J. (2004). Diabète sucré, stress oxydant et produits de glycation avancée. In *Annales pharmaceutiques françaises*, 62(3), 147-157.

Boudjelal, A., Henchiri, C., Siracusa, L., Sari, M., & Ruberto, G. (2012). Compositional analysis and *in vivo* anti-diabetic activity of wild Algerian *Marrubium vulgare* L. infusion. *Fitoterapia*, 83(2), 286-292.

Bougandoura, N., & Bendimerad, N. (2013). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp. Nepeta* (L.) Briq. *Nature & Technologie*, (9), 14-19.

Boukerouis, D., Atmani, D., & Atmani, D., (2016). Caractérisation de l'activité Antioxydante des extraits de *Pistacia Lentiscus* et *Fraxinus Angustifolia*. *Revue des Substances Naturelles et Innovation Thérapeutique*, 2(1), 33-36.

- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995).** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.
- Burton, G. J., & Jauniaux, E. (2011).** Oxidative stress. *Best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology*, 25(3), 287-299.
- Cano, B., Cousseau, G., Dowkiw, A., Marçais, B., Husson, C., & Saintonge, F. X. (2021).** Le Frêne face à la chalarose. *Centre National de la Propriété Forestière*, 14-42.
- Carocho, M., & Ferreira, I. C. (2013).** A review on antioxidants, prooxidants and related controversy : Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspective. *Food and chemical toxicology*, 51, 15-25.
- Castagna, J., Kurihara, F., Amsler, E., Soria, A., & Barbaud, A. (2022).** Quelques déboires avec la phytothérapie. *Revue Française d'Allergologie*, 62(3), 282-284.
- Caudullo, G., & Houston Durrant, T. (2016).** *Fraxinus angustifolia* in Europe : distribution, habitat, usage and threats. *European atlas of forest tree species*, 97.
- Cillard, J., & Cillard, P. (2006).** Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti- oxydations. *Oleagineux, corps gras, lipides*, 13(1), 24-29.
- Dai, J., & Mumper, R. J. (2010).** Plant phenolics : extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10), 7313-7352.
- Dastjerdi, Z. M., Namjoyan, F., & Azemi, M. E. (2015).** Alpha amylase inhibition activity of some plants extract of *Teucrium species*. *European Journal of Biological Sciences*, 7(1), 26-31.
- Eddouks, M., Maghrani, M., Lemhadri, A., Ouahidi, M. L., & Jouad, H. (2002).** Ethnopharmacological survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes mellitus, hypertension and cardiac diseases in the south-east region of Morocco (Tafilalet). *Journal of ethnopharmacology*, 82(2-3), 97-103.

Eidi, A., Eidi, M., & Esmaeili, E. (2006). Antidiabetic effect of garlic (*Allium sativum* L.) in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine*, 13(9-10), 624-629.

Einarson, T. R., Acs, A., Ludwig, C., & Panton, U. H. (2018). Prevalence of cardiovascular disease in type 2 diabetes: a systematic literature review of scientific evidence from across the world in 2007–2017. *Cardiovascular diabetology*, 17(1), 1-19.

Favier, A. (2003). Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*, 108-115.

Fery, F., & Paquot, N. (2005). Etiopathogénie et physiopathologie du diabète de type 2. *Revue Médicale de Liège*, 60(5-6), 361-368.

Galicia-Garcia, U., Benito-Vicente, A., Jebari, S., Larrea-Sebal, A., Siddiqi, H., Uribe, K. B., ... & Martín, C. (2020). Pathophysiology of type 2 diabetes mellitus. *International journal of molecular sciences*, 21(17), 1-34.

Girardin, C., & Schwitzgebel, V. (2007). Diabète de type 2 en pédiatrie : diagnostic et prise en charge. *Rev Med Suisse*, 3, 1001-1005.

Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.O., Charlier, C., Chapelle, J.P. (2007). Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10), 628-638.

Heilerova, I., torapcik, p., silhar, s., & labuda, j. (2003). Comparaison of antioxydative activity data for aqueous extracts of lemon balm (*Melissa officinalis* L.), oregano (*Origanum vulgare* L.), thyme (*Thymus vulgare* L.), and agrimony (*Agrimonia eupatoria* L.) obtained by conventional methods and the DNA-based biosensor. *Czech journal of food sciences*, 21(2), 78-84.

Heim, K. E., Tagliaferro, A. R., & Bobilya, D. J. (2002). Flavonoid antioxidants : chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of nutritional biochemistry*, 13(10), 572-584.

Honda, M., & Hara, Y. (1993). Inhibition of rat small intestinal sucrase and α -glucosidase activities by tea polyphenols. *Bioscience, biotechnology, and Biochemistry*, 57(1), 123-124.

Hseu, Y. C., Chang, W. H., Chen, C. S., Liao, J. W., Huang, C. J., Lu, F. J., ... & Yang, H. L. (2008). Antioxidant activities of Toona Sinensis leaves extracts using different antioxidant models. *Food and chemical toxicology*, 46(1), 105-114.

Huang, D. J., Chun-Der, L. I. N., Hsien-Jung, C. H. E. N., & Yaw-Huei, L. I. N. (2004). Antioxidant and antiproliferative activities of sweet potato (*Ipomoea batatas* [L.] Lam `Tainong 57') constituents. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 45, 179-186.

Ighodaro, O. M., & Akinloye, O. A. (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX) : Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria journal of medicine*, 54(4), 287-293.

Irshad, M., Zafaryab, M., Singh, M., & Rizvi, M. (2012). Comparative analysis of the antioxidant activity of Cassia fistula extracts. *International journal of medicinal chemistry*, 2012, 1-6.

Jamshidi-Kia, F., Lorigooini, Z., & Amini-Khoei, H. (2018). Medicinal plants : Past history and future perspective. *Journal of herbmed pharmacology*, 7(1), 1-7.

Jemaa, H. B., Jemia, A. B., Khlifi, S., Ahmed, H. B., Slama, F. B., Benzarti, A., ... & Aouidet, A. (2017). Antioxidant activity and α -amylase inhibitory potential of *Rosa canina* L. *African journal of traditional, complementary and alternative medicines*, 14(2), 1-8.

Kahkashan, R., Sayantani, C., Sumit, G., & Parames, C.S. (2017). Curcumin attenuates oxidative stress induced NF κ B mediated inflammation and Endoplasmic reticulum dependent apoptosis of splenocytes in diabetes. *Biochemical Pharmacology*, 143, 140-155.

Karagözler, A. A., Erdağ, B., Emek, Y. Ç., & Uygun, D. A. (2008). Antioxidant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechas hastata*. *Food Chemistry*, 111(2), 400-407.

Kasmi, S., Hamdi, A., Atmani-Kilani, D., Debbache-Benaida, N., Jaramillo-Carmona, S., Rodríguez-Arcos, R., ... & Guillén-Bejarano, R. (2021). Characterization of phenolic compounds isolated from the *Fraxinus angustifolia* plant and several associated bioactivities. *Journal of Herbal Medicine*, 29, 1-11.

- Kathirvel A, Prem k.R et Sadasivam S., (2012).** Amylase inhibitors : potential source of anti-diabetic drug discovery from medicinal plants. *International journal of Pharmacy and Life Sciences*, 3(2), 1407-1412.
- Khan, S. A., Al Kiyumi, A. R., Al Sheidi, M. S., Al Khusaibi, T. S., Al Shehhi, N. M., & Alam, T. (2016).** In vitro inhibitory effects on α -glucosidase and α -amylase level and antioxidant potential of seeds of *Phoenix dactylifera* L. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(4), 322-329.
- Khitri, W., Lachgueur, N., Tasfaout, A., Lardjam, A., & Khalfa, A. (2016).** Plantes antilithiasiques utilisées en médecine traditionnelle dans la ville d'Oran, Algérie. Approche ethnobotanique et phytochimique. *Revue d'ethnoécologie*, (9), 1-13.
- Khizar H., Xiaoming Z., Umar F., Shabbar A., Shuqin X., Chengsheng J., Fang Z., Jing Z. (2010).** Effect of microwave treatment on phenolic content and antioxidant activity of *citrus mandarin pomace*. *Food Chemistry* 123(2), 423-429.
- Kim, Y. M., Jeong, Y. K., Wang, M. H., Lee, W. Y., & Rhee, H. I. (2005).** Inhibitory effect of *pine* extract on α -glucosidase activity and postprandial hyperglycemia. *Nutrition*, 21(6), 756-761.
- Kostova, I., & Iossifova, T. (2007).** Chemical components of *Fraxinus species*. *Fitoterapia*, 78(2), 85-106.
- Locatelli, M., Travaglia, F., Coisson, J. D., Martelli, A., Stévigny, C., & Arlorio, M. (2010).** Total antioxidant activity of hazelnut skin (Nocciola Piemonte PGI) : Impact of different roasting conditions. *Food chemistry*, 119(4), 1647-1655.
- Magallón, M., Carrión, A. E., Bañuls, L., Pellicer, D., Castillo, S., Bondía, S., ... & Dasí, F. (2021).** Oxidative stress and endoplasmic reticulum stress in rare respiratory diseases. *Journal of clinical medicine*, 10(6), 1-25.
- Maksimović, Z., Malenčić, Đ., & Kovačević, N. (2005).** Polyphenol contents and antioxidant activity of *Maydis stigma* extracts. *Bioresource technology*, 96(8), 873-877.
- Mangambu, M. D. D., Mushagalusa, K. F., & Kadima, N. J. (2014).** Contribution à l'étude photochimique de quelques plantes médicinales antidiabétiques de la ville de Bukavu et ses environs (Sud-Kivu, RD Congo). *Journal of Applied Biosciences*, 75, 6211-6220.

- Maniyar, Y., & Bhixavatimath, P. (2012).** Antihyperglycemic and hypolipidemic activities of aqueous extract of *Carica papaya* Linn. leaves in alloxan-induced diabetic rats. *Journal of Ayurveda and integrative medicine*, 3(2), 70-74.
- Marín-Peñalver, J. J., Martín-Timón, I., Sevillano-Collantes, C., & del Cañizo-Gómez, F. J. (2016).** Update on the treatment of type 2 diabetes mellitus. *World journal of diabetes*, 7(17), 354-395.
- Medjahed, Z., Atman-Kilani, D. I. N. A., Fauconnier, M. L., Richard, G., & Atmani, D. (2016).** Hepatoprotective and antidiabetic activities of *Fraxinus angustifolia* Vahl extracts in animal models : characterization by high performance liquid chromatography analysis. *Turkish journal of medical sciences*, 46(3), 910-920.
- Mohiuddin, M., Arbain, D., Islam, A. K. M., Ahmad, M. S., & Ahmad, M. N. (2016).** Alpha-glucosidase enzyme biosensor for the electrochemical measurement of antidiabetic potential of medicinal plants. *Nanoscale research letters*, 11(1), 1-12.
- Musa, T., & Dele, M. (2020).** Diabetes mellitus : Strategies to delay the onset and its management options. *Biokemistri*, 32(3), 197-217.
- Naito, Y., Masaichi, C. I. L., Kato, Y., Nagai, R., & Yonei, Y. (2010).** Oxidative stress markers. *Anti-Aging Medicine*, 7(5), 36-44.
- Owen, P. L., & Johns, T. (1999).** Xanthine oxidase inhibitory activity of northeastern North American plant remedies used for gout. *Journal of ethnopharmacology*, 64(2), 149-160.
- Oyaizu, M. (1986).** Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese journal of nutrition and dietetics*, 44(6), 307-315.
- Pavelescu, L. (2015).** On reactive oxygen species measurement in living systems. *Journal of medicine and life*, 8, 38-42.

Pedro, L. F., Catarina, F., Ana, M. R., Pedro, C., Paulo, J. A. M., Maria, H. F. N., ... & Maria, L. S. (2013). Antioxidant and anti-acetylcholinesterase activity of commercially available medicinal infusions after in vitro gastrointestinal digestion. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(20), 1370-1378.

Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., ... & Bitto, A. (2017). Oxidative stress : harms and benefits for human health. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2017, 1-13.

Popovici, C., Saykova, I., & Tylkowski, B. (2009). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel*, 4(8), 1-8.

Proença, C., Ribeiro, D., Freitas, M., & Fernandes, E. (2022). Flavonoids as potential agents in the management of type 2 diabetes through the modulation of α -amylase and α -glucosidase activity : a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(12), 3137-3207.

Rajendiran, D. E. E. P. A., Packirisamy, S. U. B. B. U. L. A. K. S. H. M. I., & Gunasekaran, K. R. I. S. H. N. A. M. O. O. R. T. H. Y. (2018). A review on role of antioxidants in diabetes. *Asian journal of pharmaceutical and clinical research*, 11(2), 48-53.

Ribeiro, S. M. R., Barbosa, L. C. A., Queiroz, J. H., Knödler, M., & Schieber, A. (2008). Phenolic compounds and antioxidant capacity of Brazilian mango (*Mangifera indica* L.) varieties. *Food chemistry*, 110(3), 620-626.

Rocha, S., Sousa, A., Ribeiro, D., Correia, C. M., Silva, V. L., Santos, C. M., ... & Freitas, M. (2019). A study towards drug discovery for the management of type 2 diabetes mellitus through inhibition of the carbohydrate-hydrolyzing enzymes α -amylase and α -glucosidase by chalcone derivatives. *Food & function*, 10(9), 5510-5520.

Rodríguez-Bernaldo de Quirós, A., Frecha-Ferreiro, S., Vidal-Pérez, A. M., & López-Hernández, J. (2010). Antioxidant compounds in edible brown seaweeds. *European Food Research and Technology*, 231(3), 495-498.

Rubio, C. P., & Cerón, J. J. (2021). Spectrophotometric assays for evaluation of Reactive Oxygen Species (ROS) in serum : General concepts and applications in dogs and humans. *BMC Veterinary Research*, 17(1), 1-13.

Saleem, H. H. M. N. M., Al-Harrasi, A., & Green, E. I. R. (2021). Fruitful decade of fungal metabolites as anti-diabetic agents from 2010 to 2019 : emphasis on α -glucosidase inhibitors. *Phytochem Rev*, 20, 145-179.

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(1), 141-183.

Sarfraz, I., Rasul, A., Jabeen, F., Younis, T., Zahoor, M. K., Arshad, M., & Ali, M. (2017). *Fraxinus* : a plant with versatile pharmacological and biological activities. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2017, 1-12.

Shields, H. J., Traa, A., & Van Raamsdonk, J. M. (2021). Beneficial and detrimental effects of reactive oxygen species on lifespan : A comprehensive review of comparative and experimental studies. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9, 1-27.

Singh, A., Kukreti, R., Saso, L., & Kukreti, S. (2019). Oxidative stress : a key modulator in neurodegenerative diseases. *Molecules*, 24(8), 1-20.

Singh, L. W. (2011). Traditional medicinal plants of Manipur as anti-diabetics. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(5), 677-687.

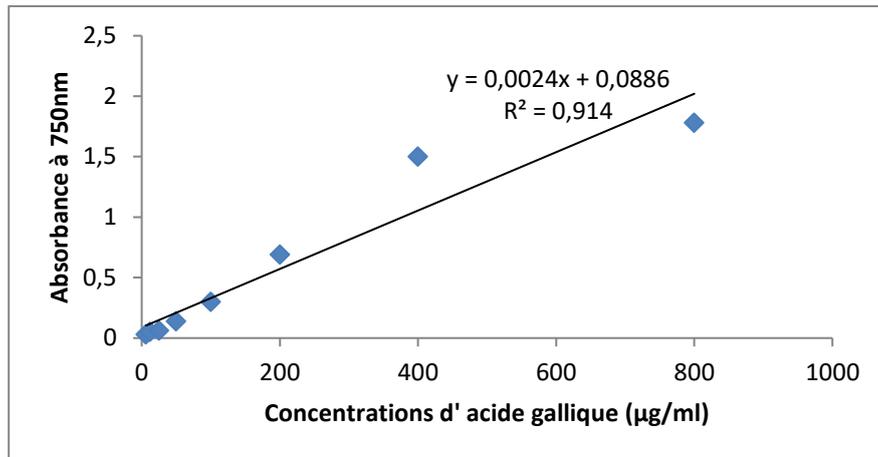
Sohrabi, M., Binaeizadeh, M. R., Iraj, A., Larijani, B., Saeedi, M., & Mahdavi, M. (2022). A review on α -glucosidase inhibitory activity of first row transition metal complexes : a futuristic strategy for treatment of type 2 diabetes. *Royal Society of Chemistry*, 12(19), 12011-12052.

Sok Yen, F., Shu Qin, C., Tan Shi Xuan, S., Jia Ying, P., Yi Le, H., Darmarajan, T., ... & Salvamani, S. (2021). Hypoglycemic Effects of Plant Flavonoids : A Review. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021, 1-12.

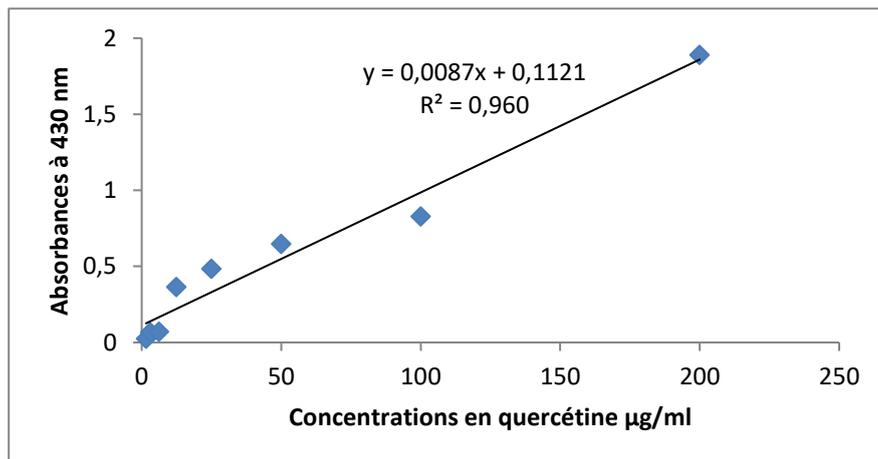
- Subramanian, R., Asmawi, M. Z., & Sadikun, A. (2008).** *In vitro* alpha-glucosidase and alpha-amylase enzyme inhibitory effects of *Andrographis paniculata* extract and andrographolide. *Acta biochimica polonica*, 55(2), 391-398.
- Temunovic, M., Franjic, J., Satovic, Z., Grgurev, M., frascaria-Lacoste, N., and Fernández-Manjarres, J.F. (2012).** Environmental heterogeneity explains the genetic structure of continental and mediterranean populations of *Fraxinus angustifolia vahl*. *PLOS ONE*, (7), 1-13.
- Tenenbaum, M., Bonnefond, A., Froguel, P., & Abderrahmani, A. (2018).** Physiopathologie du diabète. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2018(502), 26-32.
- Thabit, R. A., Cheng, X. R., Al-Hajj, N., Rahman, M. R. T., & Lei, G. (2014).** Antioxidant and Conyza bonariensis : a review. *European Academic Research*, 2, 8454-8474.
- Tlili, M. L., Hammoudi, R., Dehak, K., & Mahfoud, H. M. (2020).** Etude de l'activité antioxydante et antimicrobiennes des extraits de feuilles de *Pergularia tomentosa* issue d'EL OUED (Algérie). *Revue des bio ressources*, 10(2), 2-12.
- Torres De Pinedo, A., Pen alver, P., & Morales, J. C. (2007).** Synthesis and evaluation of new phenolic-based antioxidants : structure-activity relationship. *Food Chemistry*, 103(1), 55–61.
- Touhami, H., Ghazghazi, H., Sellimi, H., Khaldi, A., & Mahmoudi, H. (2017).** Antioxidant activities and phenolic contents of bark and leaves extracts from Tunisian native tree : *Fraxinus angustifolia vahl*. subsp. *angustifolia*. *Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology*, 45(5), 2469-2501.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. (2007).** Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 39(1), 44-84.
- Visvanathan, R., Qader, M., Jayathilake, C., Jayawardana, B. C., Liyanage, R., & Sivakanesan, R. (2020).** Critical review on conventional spectroscopic α -amylase activity detection methods : merits, demerits, and futures prospects. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(7), 2836-2847.

- Wainstein, J., Ganz, T., Boaz, M., Bar Dayan, Y., Dolev, E., Kerem, Z., & Madar, Z. (2012).** Olive leaf extract as a hypoglycemic agent in both human diabetic subjects and in rats. *Journal of medicinal food*, 15(7), 605-610.
- Wallander, E. (2012).** Systematics and floral evolution in *Fraxinus* (*Oleaceae*). *Belgische Dendrologie Belge*, 2012, 39-58.
- Wallander, E. (2008).** Systematics of *Fraxinus* (*Oleaceae*) and evolution of dioecy. *Plant Systematics Evolution*, 273(1) :25–49.
- Watcharachaisoponsiri, T., Sornchan, P., Charoenkiatkul, S., & Suttisansanee, U. (2016).** The [alpha]-glucosidase and [alpha]-amylase inhibitory activity from different chili pepper extracts. *International Food Research Journal*, 23(4), 1439-1445.
- Weir, G. C., & Bonner-Weir, S. (2004).** Five stages of evolving beta-cell dysfunction during progression to diabetes. *Diabetes*, 53(suppl_3), S16-S21.
- Weir, G. C., & Bonner-Weir, S. (2013).** Islet β cell mass in diabetes and how it relates to function, birth, and death. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1281(1), 92-105.
- Wong, S. P., Leong, L. P., & Koh, J. H. W. (2006).** Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. *Food chemistry*, 99(4), 775-783.
- Yildirim, N. C., Benzer, F., & Danabas, D. (2011).** Evaluation of environmental pollution at Munzur River of Tunceli applying oxidative stress biomarkers in *Capoeta trutta* (Heckel, 1843). *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 21(1), 66-71.
- Yin, Z., Zhang, W., Feng, F., Zhang, Y., & Kang, W. (2014).** α -Glucosidase inhibitors isolated from medicinal plants. *Food Science and Human Wellness*, 3(3-4), 136-174.
- Zhang, C., Wang, X., Du, J., Gu, Z., & Zhao, Y. (2021).** Reactive Oxygen Species-Regulating Strategies Based on Nanomaterials for Disease Treatment. *Advanced Science*, 8(3), 1-34.
- Zujko, M. E., Witkowska, A. M., Górska, M., Wilk, J., & Kretowski, A. (2014).** Reduced intake of dietary antioxidants can impair antioxidant status in type 2 diabetes patients. *Polish Archives of internal Medicine*, 124(11), 599-607.

Annexes



Annexe 1 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols totaux



Annexe 2 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes totaux

Réalisé par :

SAMI Cheyma
KHERABET Yousra
BRIOUAT Nada

Jury :

Présidente : Dr. KEBSA Widad
Examinatrice : Dr. BRIHOUM Hadjer
Encadrante : Dr. BOUTENNOUN Hanane
Date de soutenance : 12/09/2022

Thème**Composition chimique et activités antioxydante et hypoglycémiant *in vitro* de *Fraxinus angustifolia*****Résumé**

Les plantes médicinales représentent aujourd'hui une source incontournable pour la découverte de nouvelles molécules thérapeutiques, très efficaces contre de nombreuses maladies. Notre travail vise à étudier la composition chimique et évaluer l'activité antioxydante et hypoglycémiant des feuilles de *Fraxinus angustifolia* récoltées de la région de Jijel. La quantification des polyphénols totaux et des flavonoïdes a donné des valeurs élevées : 94.58 ± 3.21 mg EAG/g EB, et 38.7 ± 7.84 mg EQ/g EB respectivement. L'activité antioxydante de l'extrait a été évaluée *in vitro* par deux méthodes différentes : le DPPH, et le pouvoir réducteur de fer et l'évaluation de l'activité hypoglycémiant a été réalisée par l'inhibition de deux enzymes : l' α -amylase et l' α -glucosidase. Les résultats obtenus de cette étude ont révélé que l'extrait de *Fraxinus angustifolia* possède une activité antioxydante et hypoglycémiant importante. Ce qui indique clairement les bénéfices potentiels de la plante pour la santé dans les préparations pharmaceutiques.

Mots clés : *Fraxinus angustifolia*, composition chimique, antioxydant, hypoglycémiant.

Abstract

Medicinal plants represent today an unavoidable source for the discovery of new therapeutic molecules, which are very efficacious against many diseases. Our work aims to study the chemical composition and evaluate the antioxidant and hypoglycemic activity of *Fraxinus angustifolia* leaves collected from the Jijel region. Quantification of total polyphenols and flavonoids gave high values: 94.58 ± 3.21 mg EAG/g BE, 38.7 ± 7.84 mg EQ/g BE respectively. The antioxidant activity of the extract was evaluated *in vitro* by two different methods: DPPH and reducing power, and the evaluation of the hypoglycemic activity was carried out by the inhibition of two enzymes: α -amylase and α -glucosidase. The results obtained from this study revealed that the extract of *Fraxinus angustifolia* has significant antioxidant and hypoglycemic activity. This clearly indicates the potential health benefits of the plant for health and in pharmaceutical preparations.

Key words: *Fraxinus angustifolia*, chemical composition, antioxidant, hypoglycemic.

المخلص

تمثل النباتات الطبية اليوم مصدرًا أساسيًا لاكتشاف جزيئات علاجية جديدة، فعالة جدًا ضد العديد من الأمراض. يهدف عملنا إلى دراسة التركيبة الكيميائية والنشاط المضاد للأكسدة وتخفيض السكر في الدم لأوراق *Fraxinus angustifolia* التي تم جمعها من منطقة جيجل. أعطى القياس الكمي لمجموع البوليفينول والفلافونويد قيم عالية: 94.58 ± 3.21 ملغ / EAG غرام من المستخلص، 38.7 ± 7.84 ملغ / EQ غرام من المستخلص على التوالي. تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلص في المختبر بطريقتين مختلفتين: DPPH والقدر على ارجاع الحديد، وتم تقييم نشاط سكر الدم عن طريق تثبيط إنزيمين: ألفا أميلاز وألفا غليكوزيداز. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها من هذه الدراسة أن مستخلص *Fraxinus angustifolia* له نشاط كبير كمضاد للأكسدة ونشاط خافض لسكر الدم. يشير هذا بوضوح إلى الفوائد الصحية المحتملة للنبات في المستحضرات الصيدلانية.

الكلمات المفتاحية: *Fraxinus angustifolia*، التركيب الكيميائي، مضادات الأكسدة، تخفيض السكر في الدم.