

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université Abou Bekr Belkaïd -Tlemcen-
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers
Département de Biologie



Laboratoire de recherche

« Antibiotiques, Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique »

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention d'un diplôme de Master

Domaine : SNV

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : « Biochimie appliquée »

Thème :

**Evaluation de l'activité antioxydante et de l'effet
inhibiteur de l' α -amylase des extraits de *Prunus cerasus***

Présenté par :

M^{elle} Remaci Douaa

Soutenu devant le jury

| | | | |
|-------------------------------|-----|--------------|-----------------------|
| M ^{elle} BENARIBA N. | MCA | Présidente | Université de Tlemcen |
| M ^{me} MEDJDOUB H. | MCB | Examinatrice | Université de Tlemcen |
| M ^{me} BELKACEM N. | MCA | Promotrice | Université de Tlemcen |

Année Universitaire 2022-2023

Remerciements

Tout d'abord, je souhaite exprimer ma profonde gratitude envers M^{me} BELKACEM N., Maître de conférences A au Département de Biologie, Université Abou Bekr Belkaïd de Tlemcen. Je tiens à la remercier chaleureusement pour m'avoir accordé l'honneur de réaliser ce travail sous sa direction, sa gentillesse, sa compréhension, sa présence bienveillante et son soutien constant.

J'adresse de sincères remerciements à M^{elle} BENARIBA N., Maître de conférences A au Département de Biologie, Université Abou Bekr Belkaïd de Tlemcen et responsable de la formation « Biochimie Appliquée » d'avoir accepté d'honorer le jury par sa présidence.

J'exprime également mes vifs remerciements à M^{me} MEDJDOUB H., Maître de conférences B au Département de Biologie, Université Abou Bekr Belkaïd de Tlemcen pour avoir accepté d'examiner mon travail.

Je tiens à remercier tous les membres du « Laboratoire Antibiotiques Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique », pour leur précieuse assistance et leur bonne humeur.

Je souhaite remercier spécialement mes collègues Semmache Ibrahim, Bentouaf Chaïmaa et Benmokhtar Chaïmaa pour leurs aides et leurs soutiens tout au long du travail au laboratoire de recherche.

Liste des tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau n°1 : Les antioxydants naturels et synthétiques | 12 |
| Tableau n°2 : Plantes médicinales à effets inhibiteurs de l'α-amylase..... | 19 |
| Tableau n°3 : Travaux antérieurs consacrés à l'étude des activités biologiques de <i>P.cerasus</i> | 22 |
| Tableau n°4 : Caractéristiques des extraits bruts de <i>P. cerasus</i> | 34 |
| Tableau n°5 : Résultats de l'analyse phytochimiques des extraits bruts de <i>P.cerasus</i> | 35 |
| Tableau n°6 : Teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés dans les différents extraits bruts de <i>P. cerasus</i> | 37 |
| Tableau n°7 : Valeurs des IC ₅₀ des différents extraits et des molécules de références | 42 |
| Tableau n°8 : Valeurs des EC ₅₀ des différents extraits et des molécules de références | 46 |
| Tableau n°9 : Valeurs des IC ₅₀ des différents extraits et des molécules de l'acarbose..... | 51 |

Liste des figures

| | |
|---|----|
| Figure n°1 : Cinq étapes de l'équilibre pro-/antioxydante résultant de la relation entre la somme de niveau de ROS et RNS et la capacité de la barrière antioxydante | 3 |
| Figure n°2 : Les principaux ROS et RNS cellulaire et leurs interrelations biochimiques | 4 |
| Figure n°3 : Réduction de O ₂ en H ₂ O et de ses intermédiaires ROS, (A) Structures de Lewis, (B) la réduction par étapes de O ₂ en H ₂ O pendant la respiration aérobie | 5 |
| Figure n°4 : Enzymes oxydatives entraînant l'apparition de ROS, NO synthétase; NADPH oxydase; xanthine oxydase; myéloperoxydase..... | 6 |
| Figure n°5 : Ensemble des dommages oxydatifs | 7 |
| Figure n°6 : Blocage de l'initiation par les antioxydants | 8 |
| Figure n°7 : Piégeage des radicaux libres | 8 |
| Figure n°8 : Réduction du DPPH• en DPPH, H par un antioxydant. | 9 |
| Figure n°9 : Réduction du Fe ³⁺ en Fe ²⁺ par un antioxydant..... | 10 |
| Figure n°10 : Réduction de l'ABTS•+ en ABTS par un antioxydant | 10 |
| Figure n°11 : Réaction du β-carotène avec les radicaux peroxydes | 11 |
| Figure n°12 : Principe de dosage du glutathion | 12 |
| Figure n°13 : La localisation est le rôle de l'α-amylase et l'α-glucosidase | 16 |
| Figure n°14 : Structure tridimensionnelle de la α-amylase origine : <i>Aspergillus oryzae</i> | 18 |
| Figure n°15 : Structure chimique de l'acarbose..... | 19 |
| Figure n°16 : Structure chimique de miglitol | 19 |
| Figure n°17 : Arbre de <i>P. cerasus</i> | 20 |
| Figure n°18 : Fruits de <i>P. cerasus</i> | 20 |
| Figure n°19 : Racines de <i>P. cerasus</i> | 23 |
| Figure n°20 : Pédoncules de <i>P. cerasus</i> | 23 |

| | |
|---|----|
| Figure n°21 : Graines de <i>P. cerasus</i> | 23 |
| Figure n°22 : Poudre des racines | 23 |
| Figure n°23 : Poudre des pédoncules | 23 |
| Figure n°24 : Poudre des graines | 23 |
| Figure n°25 : Protocole général de la partie expérimentale | 25 |
| Figure n°26 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (Dosage des polyphénols totaux) (n=3) | 36 |
| Figure n°27 : Courbe d'étalonnage de la catéchine (Dosage des flavonoïdes) (n=3) | 36 |
| Figure n°28 : Courbe d'étalonnage de la catéchine (Dosage des tanins condensés) (n=3) | 37 |
| Figure n°29 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH• en fonction des différentes concentrations de l'extrait aqueux des racines de <i>P. cerasus</i> (n= 3)..... | 38 |
| Figure n°30 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH• en fonction des différentes concentrations de l'extrait hydroéthanolique des racines de <i>P. cerasus</i> (n= 3) | 38 |
| Figure n°31 : Pourcentages d'inhibition du radical DPPH• en fonction des différentes concentrations de l'extrait aqueux des pédoncules de <i>P. cerasus</i> (n=3)..... | 39 |
| Figure n°32 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH•en fonction des différentes concentrations de l'extrait hydroéthanolique des pédoncules de <i>P. cerasus</i> (n=3)..... | 39 |
| Figure n°33 : Pourcentage d'inhibition du radicale libre DPPH• en fonction des différentes concentrations de l'extrait aqueux des graines de <i>P. cerasus</i> (n=3) | 40 |
| Figure n°34 : Pourcentage d'inhibition du radicale libre DPPH• en fonction des différentes concentrations de l'extrait hydroéthanolique des graines de <i>P. cerasus</i> (n=3)..... | 40 |
| Figure n°35 : Pourcentages d'inhibition du radical DPPH• en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique (n=3) | 41 |
| Figure n°36 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH• en fonction des différentes concentrations de BHA (n=3) | 41 |

| | |
|---|----|
| Figure n°37 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH• en fonction des différentes concentrations de BHT (n=3) | 41 |
| Figure n°38 : Pouvoir réducteur du fer par l'extrait aqueux des racines de <i>P. cerasus</i> (n=3) | 43 |
| Figure n°39 : Pouvoir réducteur du fer par l'extrait hydroéthanolique des racines de <i>P. cerasus</i> (n=3)..... | 43 |
| Figure n°40 : Pouvoir réducteur du fer par de l'extrait aqueux des pédoncules de <i>P. cerasus</i> (n=3) | 44 |
| Figure n°41 : Pouvoir réducteur du fer par l'extrait hydroéthanolique des pédoncules de <i>P. cerasus</i> (n=3)..... | 44 |
| Figure n°42 : Pouvoir réducteur du fer de l'extrait aqueux des graines de <i>P. cerasus</i> (n=3). | 44 |
| Figure n°43 : Pouvoir réducteur du fer de l'extrait hydroéthanolique des graines de <i>P. cerasus</i> (n=3)..... | 44 |
| Figure n°44 : Pouvoir réducteur du fer par l'acide ascorbique (n=3) | 45 |
| Figure n°45 : Pouvoir réducteur du fer par le BHA (n=3)..... | 45 |
| Figure n°46 : Pouvoir réducteur du fer par le BHT (n=3) | 45 |
| Figure n°47 : Classement des IC ₅₀ des différents extraits bruts de <i>P.cerasus</i> et des molécules de références..... | 47 |
| Figure n°48 : Classement des EC ₅₀ des différents extraits bruts de <i>P. cerasus</i> et des molécules de références..... | 47 |
| Figure n°49 : Pourcentage d'inhibition de l'α-amylase par l'extrait aqueux des racines (n=3) | 48 |
| Figure n°50 : Pourcentage d'inhibition de l'α-amylase par l'extrait hydroéthanolique des racines (n=3)..... | 48 |
| Figure n°51 : Pourcentage d'inhibition de l'α-amylase par l'extrait aqueux des pédoncules (n=3)..... | 49 |

| | |
|---|----|
| Figure n°52 : Pourcentage d'inhibition de l' α -amylase par l'extrait hydroéthanolique des pédoncules (n=3) | 49 |
| Figure n°53 : Pourcentage d'inhibition de l' α -amylase par l'extrait aqueux des graines (n=3) | 49 |
| Figure n°54 : Pourcentage d'inhibition de l' α -amylase par l'extrait hydroéthanolique des graines (n=3) | 49 |
| Figure n°55 : Pourcentage d'inhibition de l' α -amylase par l'acarbose (n=3) | 50 |
| Figure n°56 : Classement des IC ₅₀ des différents extraits bruts de <i>P.cerasus</i> et de l'acarbose | 51 |
| Figure n°57 : Teneurs en composés phénoliques des différents extraits bruts de <i>P.cerasus</i> .. | 52 |
| Figure n°58 : IC ₅₀ , EC ₅₀ des différents extraits bruts de <i>P.cerasus</i> | 53 |

Liste des abréviations

OMS : Organisation mondiale de santé.

ROS : Les espèces réactives oxygénées.

RNS : Les espèces réactives azotées.

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

O₂^{•-} : Anion superoxyde.

HO• : Radical hydroxyle.

NO : Monoxyde d'azote.

ONOO⁻ : Peroxynitrite.

NOx : Nicotinamide adénine dinucléotide oxydase.

NAD : Nicotinamide adénine dinucléotides

SOD2 : Superoxyde dismutase.

GSH : Glutathion.

DPPH• : 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl.

DPPH, H : 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazine.

Fe³⁺ : Fer ferrique.

Fe²⁺ : Fer ferreux.

ABTS : (acide 2,2'-azinobis (3 éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)).

BHA : Hydroxyanisol butylé.

BHT : Hydroxytoluène butylé.

IC₅₀ : Concentration inhibitrice a 50%.

EC₅₀ : Concentration efficace médiane.

mg EAG/gE : Milligramme équivalent acide gallique par gramme d'extrait.

mg EQC/gE : Milligramme équivalent catéchine par gramme d'extrait.

SEM : Erreur standard de la moyenne.

Sommaire

| | |
|-------------------|---|
| Introduction..... | 1 |
|-------------------|---|

Synthèse bibliographique

Chapitre 01 : Stress Oxydatif

| | |
|--|----|
| 1. Stress oxydatif..... | 3 |
| 1.1. Définition..... | 3 |
| 1.2. Les pro-oxydants (radicaux libres)..... | 3 |
| 1.3. Sources des pro-oxydants..... | 4 |
| 1.3.1. Sources endogènes..... | 5 |
| 1.3.2. Sources exogènes..... | 6 |
| 1.4. les dommages oxydatifs..... | 7 |
| 2. Défense antioxydante..... | 8 |
| 2.1. Actions des antioxydants..... | 8 |
| 2.2. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante..... | 9 |
| 2.3. Les antioxydants naturels et synthétiques..... | 11 |

Chapitre 02 : Diabète sucré et α -amylase

| | |
|---|----|
| 1. Diabète sucré..... | 15 |
| 1.1. La classification de diabète..... | 15 |
| 1.1.1. Diabète I (diabète insulino-dépendant ou juvénile)..... | 15 |
| 1.1.2. Diabète II (diabète non insulino-dépendant)..... | 15 |
| 1.2. Hyperglycémie postprandiale..... | 15 |
| 2. Alpha-amylase..... | 17 |
| 2.1. Définition..... | 17 |
| 2.2. Origine..... | 17 |
| 2.3. Structure..... | 17 |
| 3. Inhibition de l' α -amylase..... | 18 |
| 3.1. Acarbose..... | 18 |
| 3.2. Miglitol..... | 19 |
| 4. Plantes médicinales et inhibition de l' α -amylase..... | 19 |

Chapitre 03 : Présentation de la plante *Prunus cerasus*

| | |
|-------------------------------|----|
| 1. Nom vernaculaire..... | 20 |
| 2. Description botanique..... | 20 |

| | |
|--|----|
| 3. Classification Systématique | 20 |
| 4. Origine et Répartition géographique | 21 |
| 5. Propriétés thérapeutiques et utilisation traditionnelle | 21 |
| 6. Activités biologiques | 22 |

Matériel et méthodes

| | |
|--|----|
| 1. Matériel Végétal..... | 23 |
| 2. Analyse phytochimique | 26 |
| 3. Dosage des composés phénoliques | 27 |
| 3.1. Dosage des polyphénols totaux | 27 |
| 3.2. Dosage des flavonoïdes | 28 |
| 3.3. Dosage des tanins condensés | 28 |
| 3.4. Expression des résultats | 29 |
| 4. Evaluation de l'activité antioxydante | 29 |
| 4.1. Piégeage du radical libre DPPH•..... | 29 |
| 4.2. La méthode FRAP (Ferric Reducing Antioxydant Power)..... | 30 |
| 5. Evaluation de l'activité inhibitrice d' α -amylase | 30 |
| 6. Expression des résultats..... | 32 |
| 7. Analyse statistique..... | 33 |

| | |
|---|-----------|
| Résultats et interprétation..... | 34 |
|---|-----------|

| | |
|------------------------|-----------|
| Discussion..... | 54 |
|------------------------|-----------|

| | |
|------------------------|-----------|
| Conclusion..... | 57 |
|------------------------|-----------|

| | |
|---|-----------|
| Références bibliographiques..... | 58 |
|---|-----------|

المخلص

يركز البحث الحالي على تطوير النباتات الطبية كمصدر للمواد النشطة بيولوجيًا ذات الأهمية العلاجية.

في هذه الدراسة ، كنا مهتمين بالتحليل النوعي للكيمويات النباتية و الفحوصات الكمية للمركبات الفينولية للمستخلصات المائية و مستخلصات الكحول المائي (30 :70، ح/ح)،الخام للجنور وسويقات وبنور شجرة الكرز الحامض، المحضرة بواسطة الغلي تحت التكتيف لمدة ساعة ، بالإضافة الى تقييم نشاطهم المضاد للأكسدة بطريقة كسح الجذر •DPPH و اختبار إرجاع الحديد (FRAP) . وكذلك قمنا بتقييم تأثيرها المثبط على أنزيم ألفا أميلاز.

كشفت الفحص الكيميائي النباتي عن ثراء مستخلص المائي و مستخلص الكحول المائي للسويقات و الجنور بمواد العفص ، الفلافونويد ، الكينون و التربينويدات. أظهر مستخلص الكحول المائي الخام للسويقات أعلى مستويات البوليفينول المقدر ب $345,17 \pm 9,24$ ميكروغرام مكافئ حمض غاليك لكل غرام مستخلص جاف ، وللعفص بقيمة $36,16 \pm 4,64$ ميكروغرام مكافئ كاتشين لكل غرام مستخلص جاف. بالإضافة إلى ذلك يمثل المستخلص المائي الخام للسويقات أعلى نسبة للفلافونويد ($475,39 \pm 1,66$ ميكروغرام مكافئ كاتشين لكل غرام مستخلص جاف) .

نتائج كسح الجذر •DPPH للمستخلصات المائية للجنور والسويقات، مثيرة جدًا للاهتمام مع قيم IC_{50} البالغة 0.81 ميكروغرام / مل و 1.38 ميكروغرام / مل على التوالي و ظهرت أعلى قوة لإرجاع الحديد من خلال المستخلص الخام المائي للجنور والسويقات مع EC_{50} متساوية تقريبًا (0.17 ميكروغرام/مل و 0.18 ميكروغرام/مل ، على التوالي).

أظهرت جميع المستخلصات الخامة للكرز الحامض تأثيرًا مثبطًا على نشاط الألفا أميلاز مع تركيز متوسطي يتراوح بين 2 ميكروغرام/مل و 9 ميكروغرام/مل ، حيث تم تسجيل أفضل تثبيط للمستخلص الخام المائي للجنور مع IC_{50} قدرت ب 2.40 ميكروغرام/مل.

تشير النتائج التي تم الحصول عليها إلى أن مختلف المستخلصات الخام للكرز الحامض يمكن اعتبارها مصدرًا طبيعيًا لمضادات الأكسدة ويمكن استخدامها على نطاق واسع في الوقاية من مرض السكري وعلاجه ، لا سيما للحد من ارتفاع السكر في الدم بعد الأكل.

الكلمات المفتاحية: الكرز الحامض ، المركبات الفينولية ، نشاط مضاد للأكسدة ، تثبيط أنزيم ألفا أميلاز

Résumé

La recherche actuelle porte essentiellement sur la valorisation des plantes médicinales comme une source de substances bioactives d'intérêts thérapeutique.

Dans cette étude, nous nous sommes intéressées à l'analyse phytochimique qualitative et au dosage quantitatif des composés phénoliques des extraits bruts aqueux et hydroéthanoliques (30:70, v/v) des racines, des pédoncules et des graines de *Prunus cerasus*, préparés par une décoction sous reflux pendant 1h. Ainsi, l'évaluation de leurs activités antioxydante par la méthode de piégeage du radical DPPH• et le test de réduction du fer. De plus, nous avons évalué leurs effets inhibiteurs sur l' α -amylase.

Les tests phytochimiques ont révélé la richesse des extraits bruts aqueux et hydroéthanoliques des racines et des pédoncules en tanins condensés, en flavonoïdes, en quinones libres et en terpénoïdes. L'extrait brut hydroéthanolique des pédoncules contient une teneur élevée en polyphénols totaux estimée à $345,17 \pm 9,24$ mg EAG/gE ainsi qu'en tanins condensés avec une teneur de $36,16 \pm 4,64$ mg EQC/gE. Par ailleurs, l'extrait brut aqueux des pédoncules présente la teneur la plus élevée en flavonoïdes ($475,39 \pm 1,66$ mg EQC/gE).

Les résultats de piégeage de radical DPPH• par les extraits bruts aqueux des racines et des pédoncules sont très intéressants avec des IC₅₀ de 0,81 mg/ml et 1,38 mg/ml, respectivement. Le pouvoir réducteur du fer le plus élevé est présenté par l'extrait brut aqueux des graines et des pédoncules avec des EC₅₀ presque égales (0,17 mg/ml et 0,18 mg/ml, respectivement).

Tous les extraits bruts de *P. cerasus* ont montré un effet inhibiteur sur l' α -amylase avec des IC₅₀ qui varient entre 2 mg/ml et 9 mg/ml, dont la meilleure inhibition a été enregistrée par l'extrait brut aqueux des graines avec une IC₅₀ de 2,40 mg/ml.

Les résultats obtenus montrent que les différents extraits bruts de *P. cerasus* pourraient être considéré comme une source naturelle d'antioxydants et être plus largement utilisé dans la prévention et le traitement du diabète, en particulier pour réduire l'hyperglycémie postprandiale.

Mots clés : *Prunus cerasus*, composés phénoliques, activité antioxydante, inhibition de l' α -amylase

Abstract

The current research focuses on the valorization of medicinal plants as a source of bioactive substances of therapeutic interest.

In this study, we were interested in the qualitative phytochemical analysis and quantitative determination of phenolic compounds of aqueous and hydroethanolic crude extracts (30:70, v/v) of roots, fruit stalks and seeds of *Prunus cerasus*, which have been prepared by decoction under reflux for 1h, as well as, The evaluation of their antioxidant activity by DPPH• free radical scavenging method and iron reduction test. In addition, we evaluated their inhibitory effects on α -amylase.

Phytochemical tests were revealed the richness of the aqueous and hydroethanolic crude extracts of roots and fruit stalks in condensed tannins, flavonoids, free quinones and terpenoids. The hydroethanolic crude extract of the fruit stalks contains a high content of total polyphenols estimated at 345.17 ± 9.24 mg GAE/gE and condensed tannins with a content of 36.16 ± 4.64 mg CQE/gE. Furthermore, the aqueous crude extract of the peduncles exhibits the highest content of flavonoids (475.39 ± 1.66 mg CE/gE).

The DPPH• radical scavenging results of the aqueous extracts of the roots and fruit stalks are very interesting, with an IC₅₀ of 0.81 mg/ml and 1.38 mg/ml, respectively. The highest iron reducing power is presented by the aqueous crude extract of seeds and fruit stalks with almost equal EC₅₀ (0.17 mg/ml and 0.18 mg/ml, respectively).

All crude extracts of *P.cerasus* showed a moderate inhibitory effect on α -amylase with an IC₅₀ that varied between 2 mg/ml and 9 mg/ml, which the best inhibition was recorded by the aqueous seed extract with an IC₅₀ of 2.40 mg/ml.

The results obtained indicate that the various crude extracts of *P.cerasus* could be considered as a natural source of antioxidants and be more widely used in the prevention and treatment of diabetes, in particular to reduce postprandial hyperglycemia.

Keywords: *Prunus cerasus*, phenolic compound, antioxidant activity, α -amylase inhibition

Introduction

Le stress oxydatif survient lorsqu'il existe un déséquilibre entre les espèces pro-oxydantes et les espèces anti-oxydantes. Par conséquent, l'attaque soutenue des espèces réactives oxygénées/azotées endogènes et exogènes entraîne des altérations conformationnelle et oxydatifs des biomolécules clés : peroxydation des lipides, carbonylation des protéines et altération d'ADN. Cette série d'événements conduit à des pathologies dégénératives tels que le cancer, les maladies cardiovasculaires, l'Alzheimer, le Parkinson ainsi que le diabète sucré (**Pisoschi *et al.*, 2021**).

Le diabète sucré est parmi les principales pathologies qui sévissent dans le monde. Il est classé en deux types majeurs, le diabète de type 1 et de type 2. Ce dernier est lié à une hyperglycémie postprandiale (**Agarwal & Gupta, 2016**).

Le stress oxydatif est étroitement associé au diabète sucré, car une hyperglycémie de diabète 2 inhibe l'activité antioxydante tout en favorisant la production excessive des radicaux libres. De plus, les espèces réactives oxygénées peuvent endommager des cellules bêta pancréatiques, entraînant une sécrétion d'insuline réduite ou absente, ainsi qu'une résistance à la signalisation de l'insuline (**Aouacheri *et al.*, 2015 ; Pisoschi *et al.*, 2021**).

Cependant, l'utilisation des substances chimiques de synthèse, antioxydantes et antidiabétiques s'accompagne souvent d'effets secondaires importants et inévitables et un coût élevé. C'est pourquoi la recherche des composés naturels à base de plantes médicinales possédant des propriétés similaires devient importante, offrant une alternative thérapeutique plus sûre et potentiellement plus efficace à moindre coût (**Salehi *et al.*, 2019 ; Sindhi *et al.*, 2013**).

En Algérie, grâce aux conditions climatiques variées, allant du climat méditerranéen à la température plus fraîche dans les zones montagneuses et à la désertification du Sahara, cette région abrite de nombreux types d'habitats où une vaste gamme de flore médicinale peut s'épanouir. Les peuples de cette région ont utilisé ces précieuses ressources depuis l'antiquité en phytothérapie pour la guérison et la prévention des maladies (**Bouasla & Bouasla, 2017**).

Prunus cerasus également connu sous le nom de cerisier acide, est une plante fruitière appartenant à la famille des Rosacées, largement cultivée dans les régions de haute altitude d'Algérie telles que Tlemcen, Média, haute de Kabylie, Miliana et Blida. De plus, cette plante possède des propriétés médicinales bien connues en phytothérapie. Elle est appréciée pour sa richesse en molécules bioactives qui confèrent à la plante des propriétés thérapeutiques telles

que l'activité diurétique, anti-inflammatoire, antipyrétique, antioxydante et antidiabétique (Chebouti *et al.*, 2006 ;Shamsi *et al.*, 2017).

Dans ce contexte, l'objectif global de notre étude est d'effectuer une analyse biologique *in vitro*, en particulier l'activité antioxydante des extraits bruts des racines, des pédoncules et des graines de *P.cerasus* par le test de piégeage du radical DPPH• (2 ,2-diphényle-1-picrylhydrazyl) et le test du pouvoir réduction du fer (FRAP), ainsi que l'activité antidiabétique par l'étude de l'effet inhibiteur sur l' α -amylase.

La première partie de l'étude est une synthèse bibliographique composée de trois chapitres. Le premier représente le stress oxydatif (ses origines et ses dommages), ainsi que la défense antioxydante. Le deuxième chapitre aborde une généralité sur le diabète sucré et l' α -amylase ainsi que les inhibiteurs de l' α -amylase d'origine végétale, dans le troisième chapitre, nous rappelons la description botanique et systématique de *P. cerasus*, sa répartition géographique et ses diverses propriétés thérapeutiques et utilisation traditionnelle.

La deuxième partie est la partie expérimentale, regroupe le matériel et les méthodes utilisés dans cette étude. La dernière partie est consacrée sur l'interprétation des résultats obtenus, suivie d'une discussion, puis une conclusion finale qui abordera les différentes perspectives de recherche basées sur les résultats obtenus.

Synthèse bibliographique

Chapitre 01 : Le stress oxydatif

1. Stresse oxydatif

1.1. Définition

La perturbation de l'équilibre pro-/antioxydant entraîne l'état dysfonctionnel des cellules connu sous le nom de stress oxydatif. Le maintien de la quantité de facteurs oxydatifs à une valeur non destructive pour la cellule nécessite cet équilibre dynamique, qui est une composante nécessaire de tous les organismes aérobies. Trois situations impliquent des altérations qui déplacent l'équilibre pro-/antioxydant vers des processus oxydatifs sévères résultant soit d'une augmentation de la concentration de ROS et/ou de RNS (Fig. n°1. III), ou affaiblissement de la barrière antioxydante (Fig. n°1. IV), ou bien les deux (Fig. n°1.V) (Moniczewski *et al.*, 2015).

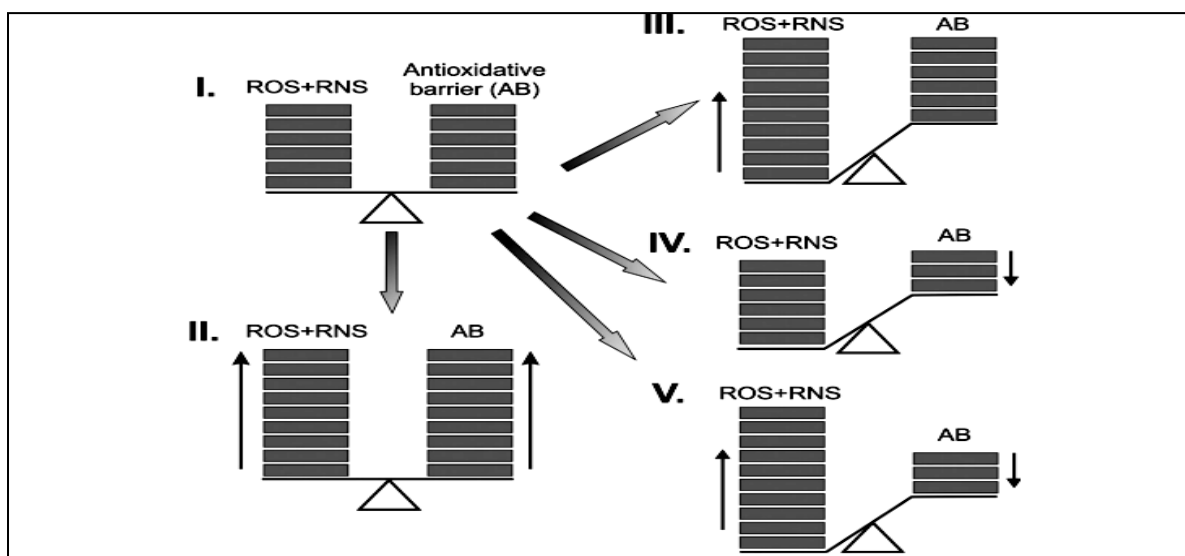


Figure n°1 : Les étapes de déséquilibre pro-/antioxydante résultant de la relation entre la somme de niveau de ROS et RNS et la capacité de la barrière antioxydante (Moniczewski *et al.*, 2015)

1.2. Les pro-oxydants (radicaux libres)

Les pro-oxydants sont des espèces chimiques (atomes ou molécules), possèdent un électron non apparié dans leur orbitale externe, qui provoque l'instabilité de ses espèces. Ainsi, ils sont caractérisés par leur interaction rapide avec la molécule stable la plus proche, à fin d'arracher l'électron nécessaire pour acquérir leur stabilité. La molécule ciblée se transforme alors en molécule instable (Sarma *et al.*, 2010).

Les radicaux libres peuvent être classés en deux espèces chimiquement réactives, espèces réactives de l'oxygène (ROS) et espèces réactives de l'azote (RNS) (Goshtasbi *et al.*, 2022).

Les (ROS) et les (RNS) les plus répondu sont le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), le superoxyde ($\text{O}_2^{\bullet-}$), le hydroxyle (OH^\bullet), le monoxyde d'azote (NO^\bullet) et le peroxyde d'azote (ONOO^-) (Prasad *et al.*, 2019). Les principales ROS et RNS et leurs interrelations biochimiques sont illustrées à la Fig. n°2.

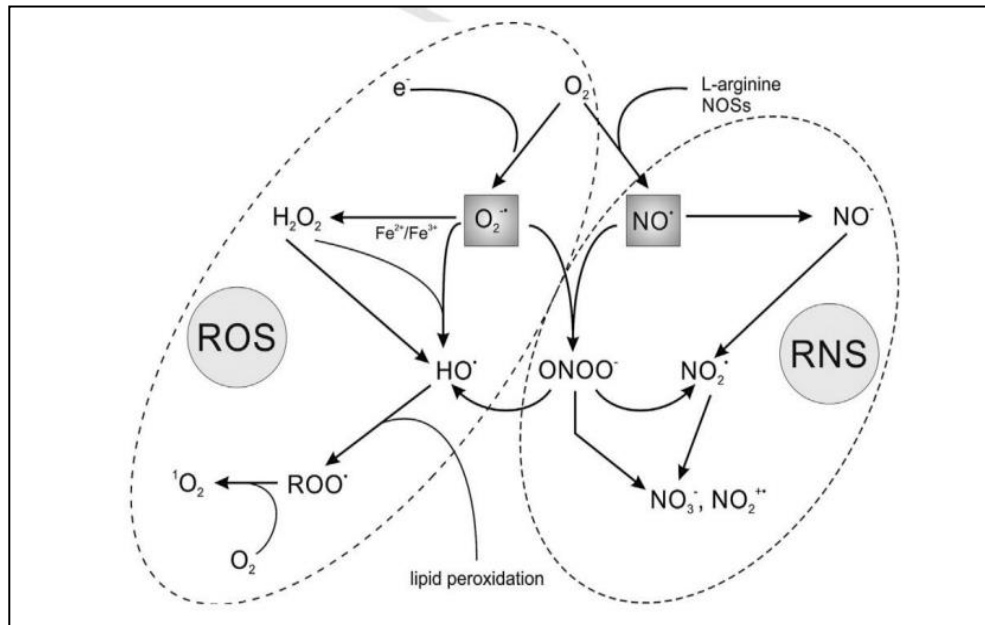


Figure n°2 : Les principaux ROS et RNS cellulaire et leurs interrelations biochimiques (Moniczewski *et al.*, 2015)

1.3. Sources des pro-oxydants

Dans des conditions physiologiques normales et à des doses raisonnables, les radicaux libres sont des intermédiaires importants pour les cellules, impliquant dans des nombreux processus naturels, y a compris la cytotoxicité (la destruction des cellules tumorales par apoptose), le contrôle du tonus vasculaire, la signalisation, la production d'énergie, la maturation des ovocytes, la défense contre les agents étrangers tels que les virus et les bactéries et à la régulation de certains neurones et le contrôle redox des gènes (Hussain *et al.*, 2016 ; Lenaz, 2012).

En tant que sources de ROS / RNS, les sources endogènes et exogènes doivent être considérés (Sies, 2018).

1.3.1. Sources endogènes

- **Le système immunitaire** : Monoxyde d'azote (NO•), un puissant antioxydant, est utilisé par les cellules du système immunitaire pour neutraliser les agents pathogènes (cellules tumorales, les parasites, les champignons, les protozoaires, les helminthes et les mycobactéries). Les radicaux libres sont également produits par ce processus d'oxydation (Çenesiz, 2020 ; Sarma *et al.*, 2010).

- **La production d'énergie** : La plupart des ROS sont produites dans la chaîne respiratoire lors des phases de conversion énergétique, nécessaires au maintien de la vie. La réaction globale est représentée par la réduction de l'oxygène pour former de l'eau, mais des réactions secondaires indésirables génèrent des ROS (Fig. n°3). Les donneurs d'électrons sont principalement des composés d'origine alimentaire. La réduction partielle d'O₂ entraîne la production d'anion superoxyde (O₂•⁻), peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et radical hydroxyle (HO•). Ces espèces intermédiaires sont dangereuses, car douées d'une forte réactivité, difficiles à contrôler (comme HO•, un oxydant agressif), où ils deviennent des précurseurs d'autres espèces réactives et incontrôlables comme le O₂•⁻ et le NO• (Cheignon *et al.*, 2018).

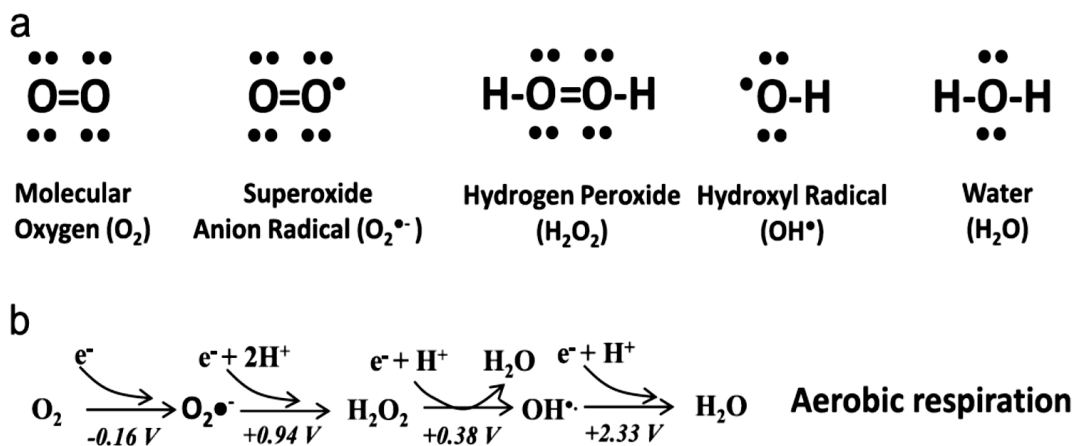


Figure n° 3 : Réduction de O₂ en H₂O et de ses intermédiaires ROS, (A) Structures de Lewis, (B) la réduction par étapes de O₂ en H₂O pendant la respiration aérobie (Mailloux, 2015)

- Le système enzymatique cellulaire :** La paroi vasculaire contient des enzymes appelées les nicotinamides adénines dinucléotides oxydases (NOX), qui utilisent le NADH ou le NADPH comme substrat pour produire de l' $O_2^{\bullet-}$. Ainsi, la xanthine oxydase (XOD) génère les (ROS) endothéliales, en particulier le $O_2^{\bullet-}$ et le H_2O_2 . La myéloperoxydase (MPO) catalyse la conversion du H_2O_2 en espèces réactives oxygénées ou azotées, y compris OH^{\bullet} , $ONOO^-$, acide hypochloreux (HClO) et NO_2 (Schröder *et al.*, 2017; Ho *et al.*, 2013). Les différents enzymes oxydatives qui entraînent l'apparition de ROS, sont représentés dans la Fig. n°4.

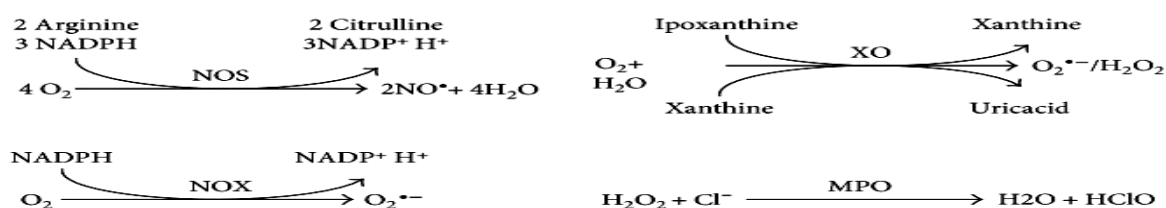


Figure n°4 : Enzymes oxydatives entraînant l'apparition de ROS, NO synthétase; NADPH oxydase; xanthine oxydase; myéloperoxydase (Marrocco *et al.*, 2017)

1.3.2. Sources exogènes

Les sources exogènes des (ROS) sont les rayons UV, X, gamma et les micro-ondes. En plus, le mode de vie et les conditions physiologiques difficiles comme l'exercice, la grossesse et la vieillesse, le tabagisme, la consommation de l'alcool et l'alimentation riche en graisses polyinsaturées et facilement peroxydables (Çenesiz, 2020).

Le choc oxydatif peut aussi être causé et aggravé par des facteurs environnementaux tels que les produits chimiques (produits de nettoyage, colles, peintures, Parfums, Pesticides). Ainsi que, d'autres polluants atmosphériques comme le toluène, l'amiante, le benzène, le monoxyde de carbone, le chlore, le formaldéhyde, et le chloroforme sont tous des puissants générateurs de radicaux libres (Kalyanaraman, 2013 ; Karabulut & Gülay, 2016).

De nombreux médicaments (antibiotiques, anticancéreux, etc.) et xénobiotiques (toxines, pesticides, herbicides, etc.) peuvent contribuer à la formation des radicaux libres, qui sont des sous-produits de leur métabolisme (Valko *et al.*, 2007).

1.4. Les dommages oxydatifs

Les radicaux libres attaquent trois composants cellulaires principaux. Les premiers sont les lipides, la peroxydation des lipides dans les membranes cellulaires peut les endommager en perturbant leur fluidité et leur perméabilité. Ainsi, les protéines liées à la membrane, telles que les enzymes et les récepteurs, pourraient être affectées négativement par la peroxydation lipidique. Les dommages directs aux protéines peuvent aussi être causés par les radicaux libres. Cela peut modifier leur configuration, entraînant une perte de leurs fonctionnalités biochimiques. Les oxydants peuvent attaquer l'ADN, qui va provoquer l'activation de l'enzyme poly (ADP-ribose) polymérase. Celle-ci scinde le NAD⁺ pour faciliter la réparation de l'ADN. Cependant, si les dommages sont importants, les niveaux de NAD⁺ peuvent s'épuiser au point que la cellule ne peut plus fonctionner et entraîne la mort cellulaire, par nécrose ou apoptose.

Les altérations irréversibles des lipides, des protéines et des acides nucléiques, ainsi que les dommages induits des fonctions cellulaires, ont été identifiés comme cause de plusieurs problèmes pathologiques (Fig. n°5) (Çenesiz, 2020 ; Sarma *et al.*, 2010).

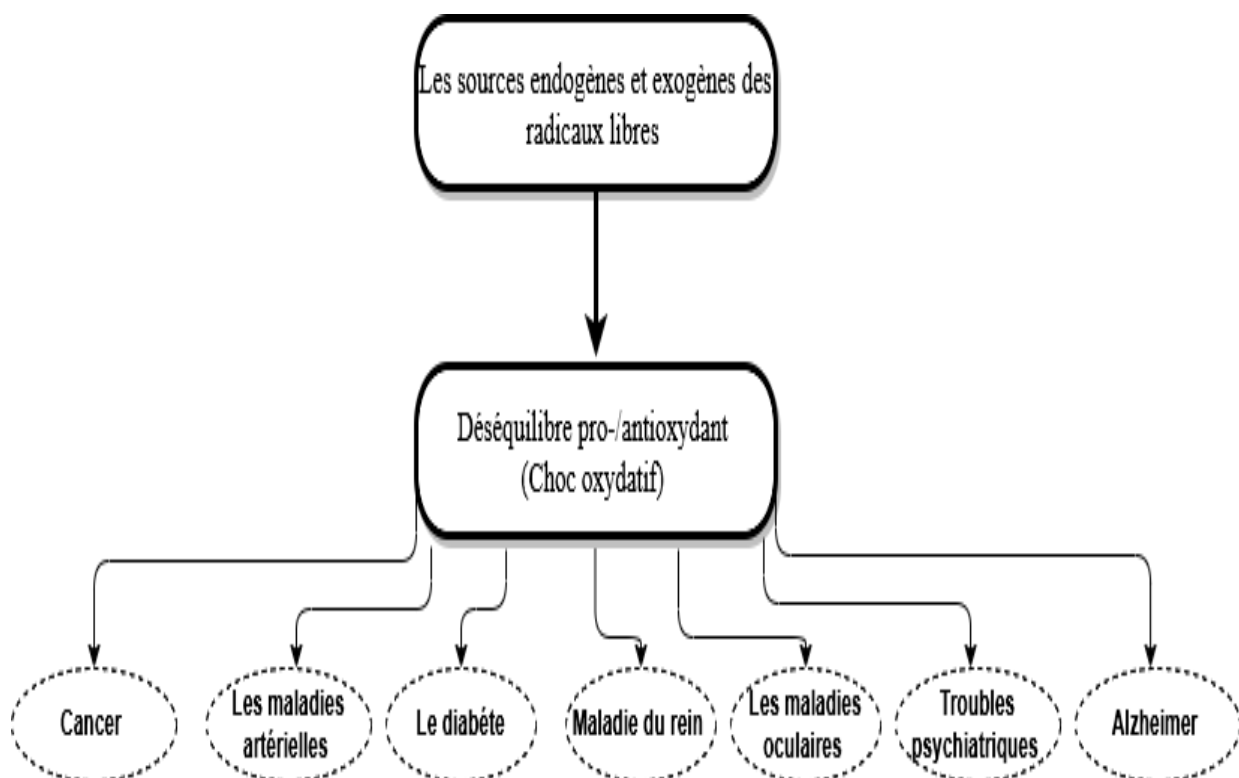


Figure n°5 : Ensemble des dommages oxydatifs

2. Défense antioxydante

Toutes les cellules aérobies maintiennent un système élaboré de défense anti radicalaire, également connu sous le nom de système antioxydant. Le terme antioxydant fait référence à une substance capable d'empêcher ou de retarder l'oxydation d'une cible biologique, agissant à une concentration plus faible à celle de la cible protégée (Dangles, 2020 ; Pisoschi & Pop, 2015 ; Sarma *et al.*, 2010).

2.1. Actions des antioxydants

L'oxydation est souvent une chaîne de réactions liée (initiation, prolongation et terminaison) et les antioxydants peuvent soit prévenir l'oxydation (bloquent l'initiation) ou piéger les radicaux libres (stoppent la propagation et la terminaison) (Yin *et al.*, 2011).

Les antioxydants peuvent empêcher l'initiation des processus oxydatifs (Fig. n°6), en chélatant les ions métalliques peroxydant (les ions de fer et de cuivre) qui accélèrent la formation ROS, réagissant avec l'oxygène ou absorbant les rayons UV (Pisoschi & Pop, 2015).



Figure n°6 : Blocage de l'initiation par les antioxydants (Marc *et al.*, 2004)

Ainsi, les antioxydants rompent les réactions de propagation par le piégeage des radicaux libres, convertissant en radicaux plus stables ou en espèces non radicalaires (Fig. n°7). La capacité de piégeage est exercée par les antioxydants qui peuvent céder leurs électrons ou leurs protons. Cette catégorie comprend les antioxydants hydrophiles (acide ascorbique, glutathion, acide urique), ainsi que lipophiles (α -tocophérol et ubiquinol) en plus de composées phénoliques qui possèdent un groupement hydroxyles qui sont capables de donner leur électron et un noyau aromatique qui stabilise la molécule par le phénomène de résonance (Pisoschi *et al.*, 2021).

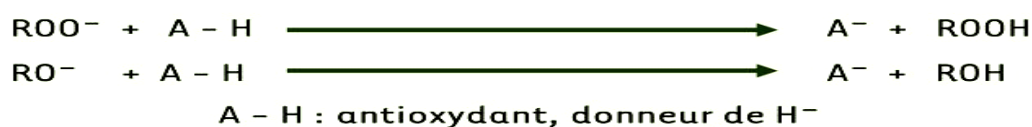


Figure n°7 : Piégeage des radicaux libres (Marc *et al.*, 2004)

D'autres antioxydants tels que les flavonoïdes, ont la capacité d'inhiber les enzymes oxydoréductases qui font intervenir des espèces radicalaires au cours de leurs cycles catalytiques (lipoxygénase, xanthine oxydase, protéine kinase, monoxygénase, etc.) (Olivier Dangles & Dufour, 2009).

2.2. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante

2.2.1. Méthodes *in vitro*

Ce sont des méthodes utilisées pour la mesure directe de piégeage des radicaux libres par des antioxydants potentiels dans des systèmes expérimentaux simplifiés (Sindhi *et al.*, 2013).

a. Test de piégeage de radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH[•])

La méthode de piégeage de DPPH[•] est l'une des méthodes les plus fréquemment utilisées pour évaluer l'activité antioxydante. Cette méthode est basée sur le transfert d'atomes d'hydrogène d'un antioxydant au DPPH[•] afin de le réduire en DPPH, H (Fig. n°8). Cette réaction s'accompagne d'un changement de couleur, allant du bleu-violet (forme oxydée) au jaune (forme réduite) (Topçu *et al.*, 2007).

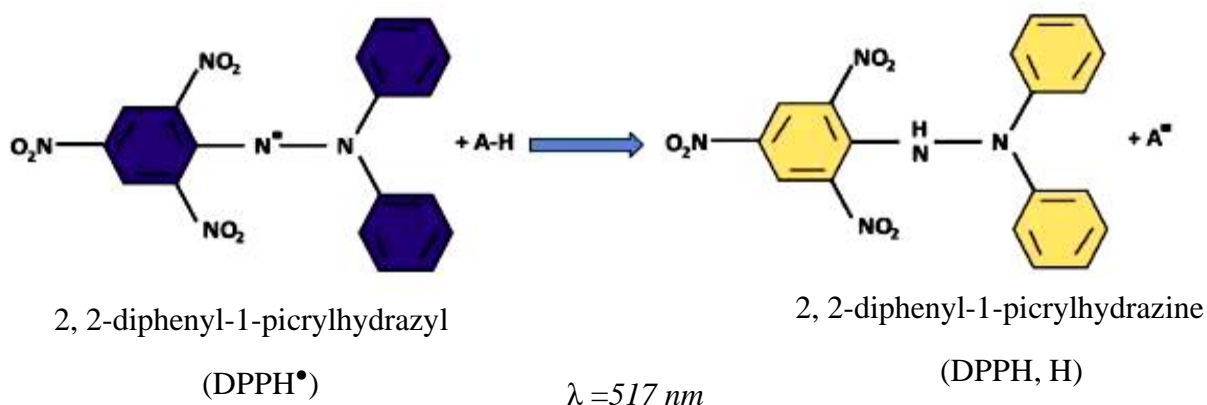


Figure n°8 : Réduction du DPPH[•] en DPPH, H par un antioxydant (Bibi Sadeer *et al.*, 2020).

b. Test de réducteur de fer (FRAP) : Ferric Reducing Antioxidant Power

Cette méthode mesure la capacité des antioxydants à réduire le fer ferrique (Fe³⁺) en fer ferreux (Fe²⁺) par le transfert d'un électron (Fig. n°9). Il est basé sur la réduction de ferricyanure en ferrocyanure, qui lie le Fe³⁺ libre dans la solution et forme le bleu de Prusse (Topçu *et al.*, 2007).

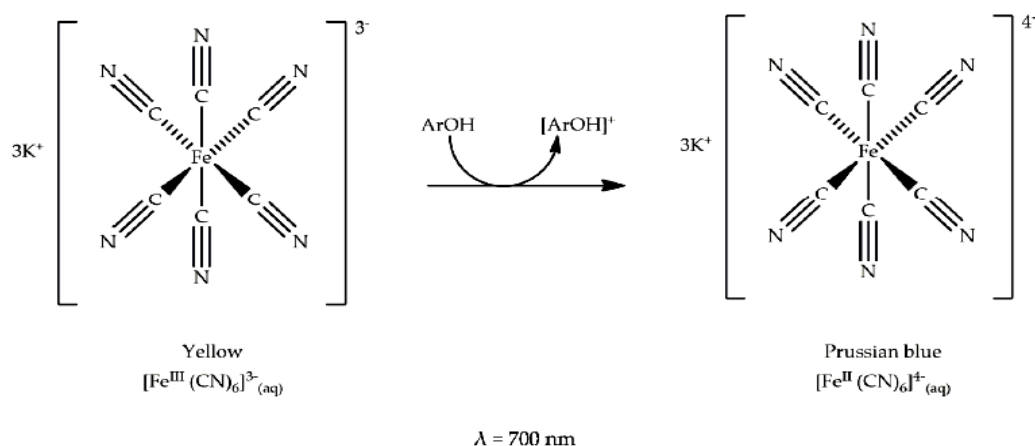


Figure n°9 : Réduction du Fe³⁺ en Fe²⁺ par un antioxydant

(Bibi Sadeer *et al.*, 2020)

c. Test de décoloration radicalaire des cations ABTS

Le test mesure la capacité des antioxydants à piéger le cation radicalaire stable ABTS^{•+} (acide 2,2'-azinobis (3 éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)), un chromophore bleu-vert avec une absorption maximale à 734 nm qui diminue en intensité en présence d'antioxydants. L'ABTS^{•+} peut être généré à partir de l'ABTS en présence d'agents oxydants puissants comme le persulfate d'ammonium (NH₄)₂S₂O₈). Les antioxydants peuvent neutraliser le radical ABTS^{•+} soit par le transfert d'un électron ou de proton (Fig. n° 10). L'équilibre de ces deux mécanismes est généralement déterminé par la structure antioxydante et le pH du milieu (Prior *et al.*, 2005).

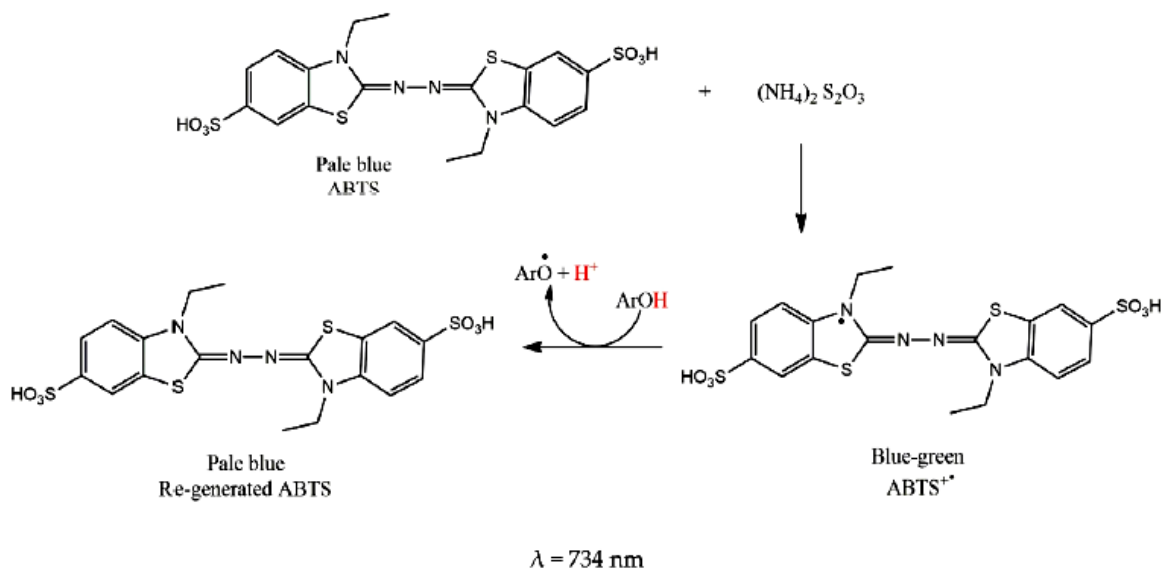


Figure n°10 : Réduction de l'ABTS^{•+} en ABTS par un antioxydant

(Bibi Sadeer *et al.*, 2020)

d. Test de blanchiment du β -carotène

C'est une méthode couramment utilisées pour estimer l'activité antioxydante dans une émulsion huile/eau. Dans cette méthode, l'état oxydant d'une émulsion composée de β -carotène, d'acide linoléique et d'eau, est mesuré par spectrophotométrie en l'absence et en présence de l'antioxydant. Les radicaux libres générés par l'oxydation de l'acide linoléique dans l'émulsion entraînent une décoloration (blanchiment) du β -carotène, qui peut être mesurée à 470 nm (Fig. n°11). La présence d'antioxydants peut réduire la décoloration du β -carotène lors de l'oxydation couplée de l'acide linoléique et du β -carotène (**Dawidowicz & Olszowy, 2010**).

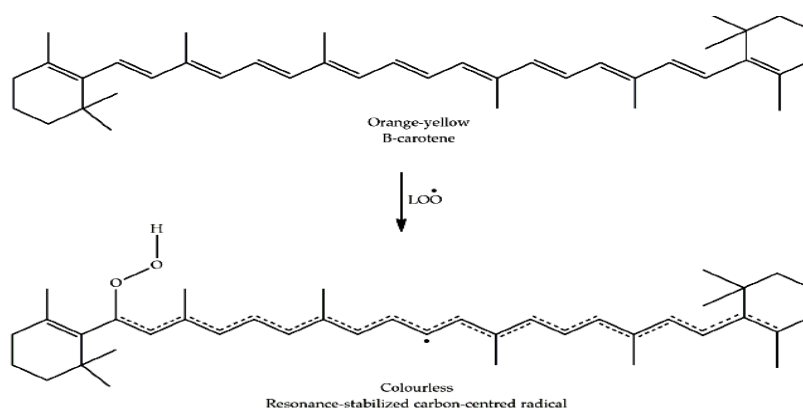


Figure n°11 : Réaction du β -carotène avec les radicaux peroxydes
(Bibi Sadeer *et al.*, 2020).

2.2.2. Méthodes *in vivo*

a. Dosage de la catalase

La méthode spectrophotométrique utilisée pour doser la catalase repose sur la mesure de l'absorbance du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) à une longueur d'onde de 240 nm. La catalase décompose le H_2O_2 en eau et en oxygène, entraînant ainsi une diminution proportionnelle de l'absorbance de la solution, qui est directement liée à la quantité de H_2O_2 décomposée (**Aebi, 1984**).

b. Dosage du glutathion (GSH)

C'est une méthode spectrophotométrique, basée sur la réaction d'oxydation du GSH par l'acide 5, 5'-Dithiobis 2-nitrobenzoïque (DTNB) libérant l'acide thionitrobenzoïque (TNB) absorbant à 412 nm (Fig. n°12) (**Alam *et al.*, 2013**).

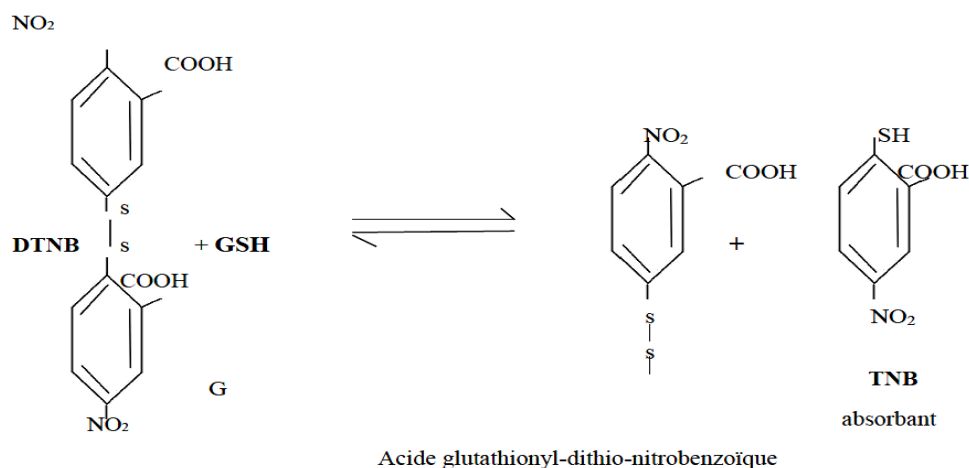


Figure n°12 : Principe de dosage du glutathion

2.3. Les antioxydants naturels et synthétiques

Les antioxydants naturels sont une alternative prometteuse aux antioxydants synthétiques dans les industries alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques en raison de leur faible coût, de leur compatibilité avec la consommation alimentaire et de l'absence d'effets nocifs sur l'organisme. (Pisoschi *et al.*, 2021 ; Sindhi *et al.*, 2013). Le tableau n°1 regroupe l'ensemble des antioxydants naturels et synthétiques.

Tableau n°1 : Les antioxydants naturels et synthétiques

| Antioxydant | Description | Référence |
|---|---|---------------------------------|
| Antioxydants naturelles | | |
| La vitamine C (Acide ascorbique) | Est une vitamine hydrosoluble représentant un excellent donneur d'électrons, qui piègeait les espèces réactives oxygénées et azotées, y compris l'anion radical superoxyde, le radical hydroxyle, le radical alcoyle, le peroxyde d'hydrogène et l'oxygène singulet. Elle peut réduire à la fois les radicaux tocophéryl quinone et tocophérol par sa forme radicalaire intermédiaire (radical ascorbyl). | (Pehlivan, 2017) |
| Les tocophérols | Sont des antioxydants liposolubles, connue sous le nom de vitamine E protégeant les lipides membranaires. L' α -tocophérol a été confirmé | (Pisoschi <i>et al.</i> , 2021) |

| | |
|----------------------------------|---|
| | comme un inhibiteur efficace de la peroxydation lipidique induite par le peroxynitrite. |
| Les caroténoïdes | Essentiellement le β -carotène, sont des terpénoïdes (Rahman, 2007) liposolubles. L'activité antioxydante des caroténoïdes comprend : le piégeage de l'oxygène singulet, des radicaux peroxy, des radicaux sulfonyles, thiyle et NO_2 , conférant une protection contre l'hydroxyle et l'attaque radicalaire superoxyde. |
| Les composées Phénoliques | Les composées Phénoliques - flavonoïdes (Trinidad et al., 2019) (flavones, flavonols, flavanols, flavanones, isoflavones, anthocyanes) et non flavonoïdes (acides phénoliques, dérivés du stilbène, lignanes) ont une forte capacité confirmée à réduire les effets des radicaux libres. |
| Les acides phénoliques | Essentiellement, les acides 3,4-dihydroxycinnamique (caféique), 3,4-dihydroxybenzoïque (protocatéchuïque) et 2,3-dihydroxybenzoïque (o-pyrocatechuïque), se sont révélés avoir un pouvoir antioxydant et antiradicalaire important qu'est étroitement liée au nombre et à la position des groupes-OH présents sur le cycle aromatique. (Pisoschi et al., 2021) |
| Flavonoïdes | Tels que la quercétine, la silibine, peuvent inhiber la xanthine oxydase. De plus les anthocyanes, les proanthocyanidines et les procyanidines peuvent conférer une protection aux lymphocytes sanguins humains, contre le stress oxydatif induit par les rayonnements ionisants, responsable de la génération de radicaux hydroxyles et de radicaux anions superoxyde. (Hussain et al., 2016) |

Zinc Le zinc est un oligo-élément qui entre en compétition avec le fer et le cuivre dans la membrane cellulaire contribuant à l'inhibition de la NADPH oxydase, réduisant ainsi la production d'anions radicaux superoxyde et de peroxyde d'hydrogène. (Prasad, 2014)

Sélénium Le sélénium est un minéral, qui joue un rôle d'un cofacteur des enzymes antioxydants tels que la glutathion peroxydase. (Leskovec *et al.*, 2019)

Antioxydants synthétiques

Hydroxyanisole butylé (BHA) Un antioxydant synthétique, empêchant le rancissement oxydatif des graisses et des huiles et la perte de l'activité des vitamines solubles dans les huiles. (Felter *et al.*, 2021)

Hydroxytoluène butylé (BHT) Un antioxydant de synthèse, qui sert à retarder ou empêcher l'oxydation des lipides (Yıldız & Çabuk, 2022)

Synthèse bibliographique

Chapitre 02 : Diabète sucré et α -amylase

1. Diabète sucré

Le diabète sucré est une maladie métabolique caractérisée par une hyperglycémie chronique, causé soit par une altération de l'action d'insuline, une absence de production d'insuline ou bien les deux. C'est l'une des maladies les plus répandues dans le monde et selon l'OMS, la prévalence mondiale du diabète était estimée à 463 millions en 2019 et devrait atteindre 700 millions en 2045 (**Kaur et al., 2021**).

Un groupe d'affections caractérisé l'hyperglycémie, telle que la polyurie (miction fréquente), la polydipsie (soif excessive), la polyphagie (faim excessive), une faiblesse, un amaigrissement ou une obésité et une cicatrisation lente des plaies (**Koevi et al., 2015**).

1.1. La classification de diabète

1.1.1. Diabète de type 1 (diabète insulino-dépendant ou juvénile)

C'est une destruction auto-immune des cellules bêta pancréatiques productrices de l'insuline. La carence en insuline qui en résulte oblige les patients à recevoir un traitement à vie (insuline exogène) pour maintenir leur glycémie dans l'énorme. Il est fréquemment diagnostiqué chez les enfants et les jeunes adultes (**Agarwal & Gupta, 2016 ; Atkinson et al., 2014**).

1.1.2. Diabète de type 2 (diabète non insulino-dépendant)

Le diabète 2 est un trouble métabolique chronique de système endocrinien, due à une diminution de la production de l'insuline (insulinopénie) par les cellules bêta et/ou à une résistance accrue des cellules périphériques à l'insuline (insulinorésistance). C'est la forme de diabète la plus fréquente (95 % de la population des diabétiques), causée par nombreux facteurs génétiques ou environnementaux, tels que l'obésité, la sénilité, le vieillissement et les antécédents familiaux (**Kahn et al., 2014**).

1.2. Hyperglycémie postprandiale

Hyperglycémie postprandiale est un sous-groupe de diabète de type 2, caractérisée par une augmentation de glycémie sanguine qui survient après 2 h d'un repas et qui résulte d'une sécrétion anormale de l'insuline ou une absorption défectueuse de glucose par les tissus périphériques. Selon l'OMS, hyperglycémie postprandiale est un symptôme courant de diabète II si elle dépasse 140 mg/ml (7,8 mmol/ml) (**Agarwal & Gupta, 2016**).

L'hyperglycémie postprandiale prolongée peut entraîner des complications à long terme pour la santé. Tout d'abord, elle peut altérer la fonction endothéliale, augmentant le risque de maladies cardiovasculaires telles que l'athérosclérose, l'insuffisance cardiaque et l'hypertension artérielle. De plus, elle peut perturber la capacité de coagulation du sang et provoquer de caillots sanguins et d'accidents vasculaires cérébraux. En outre, une HGPP peut également déclencher une inflammation systémique, ce qui peut entraîner des dommages aux tissus et des maladies chroniques telles que l'arthrite, l'asthme, la maladie inflammatoire de l'intestin et même le cancer (**Rebolledo & Actis Dato, 2005**).

Chez l'homme, plusieurs enzymes digestives sont impliquées dans le développement de l'hyperglycémie postprandiale. Parmi elles, l' α -amylase qui catalyse le clivage des grosses molécules d'amidon en plusieurs petits fragments, que ce soit dans la bouche (amylase salivaire) ou dans l'intestin (amylase pancréatique). L' α -glucosidase, d'autre part, catalyse l'étape finale de la dégradation des glucides pour libérer les monosaccharides finaux qui peuvent traverser la barrière hémato-encéphalique. Une conversion excessive de l'amidon en sucre peut augmenter la glycémie (**Agarwal & Gupta, 2016 ; Tabák *et al.*, 2012**). La localisation et le rôle de l' α -amylase et l' α -glucosidase sont illustrés dans la Figure n°13.

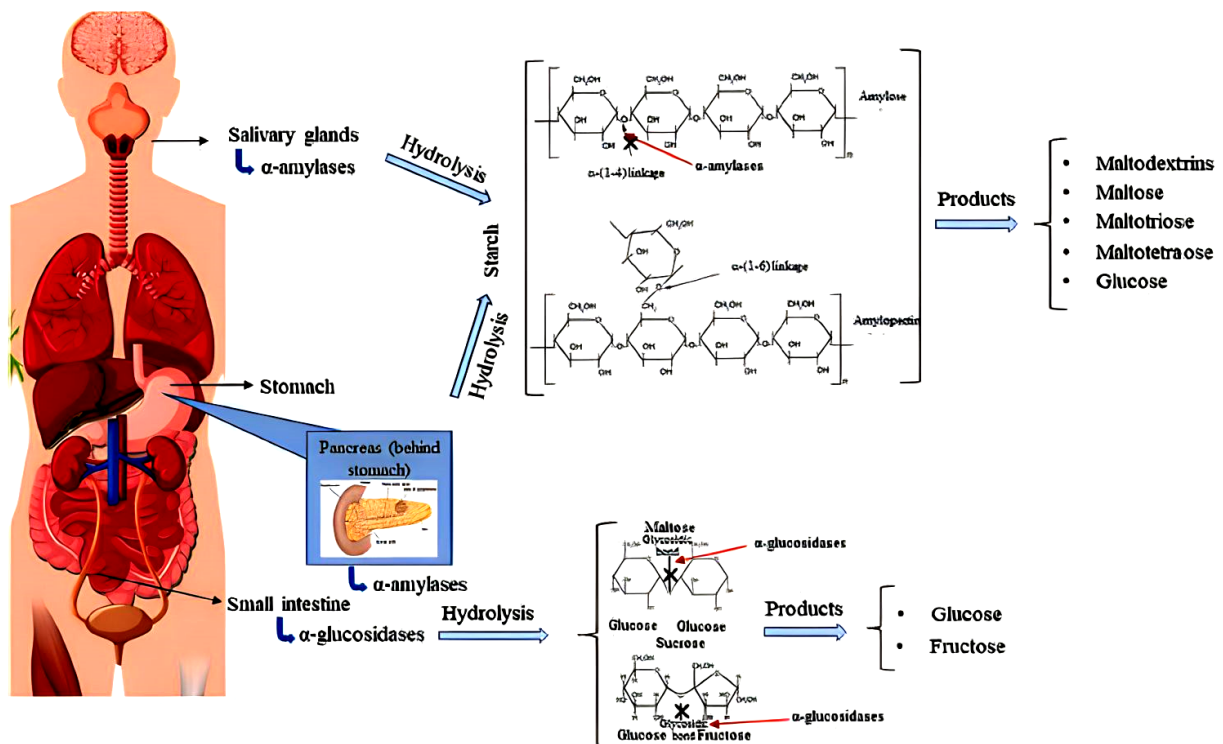


Figure n° 13 : La localisation et le rôle de l' α -amylase et l' α -glucosidase
(Papoutsis *et al.*, 2021)

2. Alpha-amylase

2.1. Définition

L' α -amylase (EC 3.2.1.1, α -1,4-glucan-4-glucanohydrolase) est une glycoside hydrolase qui catalyse l'hydrolyse des liaisons α -1,4-glycosidiques dans l'amidon et les α -glucanes apparentés, en sucre plus simple comme le glucose, le maltose et la dextrine. C'est l'un des glycosidases les plus couramment utilisées, avec des applications dans les industries alimentaires, pharmaceutiques et chimiques (Janeček *et al.*, 2014).

2.2. Origine

L' α -amylase peut être produite par différentes espèces de micro-organismes, principalement les champignons du genre *Aspergillus*, tels que *Aspergillus oryzae* et *Aspergillus niger* et les bactéries du genre *Bacillus*, tels que *Bacillus licheniformis*, *Bacillus stearothermophilus* et *Bacillus amyloliquefaciens*, qui sont de bons producteurs d' α -amylase thermostable utilisée pour leur rentabilité, leur cohérence et leur facilité de modification. Les plantes oléagineuses constituent la principale source d' α -amylase d'origine végétale. Chez les mammifères, l' α -amylase est principalement produite par les glandes salivaires et pancréatiques (Tiwari *et al.*, 2015)..

2.3. Structure

L' α -amylase est une métalloenzyme calcique qui possède trois domaines et deux sites différents. Le domaine A est le domaine catalytique qui se trouve à l'extrémité N-terminale de l'enzyme, correspondant à un pli en barillet $8(\beta/\alpha)$. C'est dans ce domaine que la triade catalytique (Asp, Asp, Glu) est présente et joue un rôle important dans la catalyse. Le domaine B est le domaine de liaison au substrat. Le domaine C se replie en un tonneau β antiparallèle à l'extrémité C-terminale. De plus, le premier site de l' α -amylase est le site actif (liaison au substrat) situé dans une longue fente entre les domaines A et B, et le deuxième site est le site de liaison avec le calcium (Ca^{2+}), ce dernier peut agir en stabilisant la structure de l'enzyme et en tant qu'activateur allostérique (Sales *et al.*, 2012). La structure tridimensionnelle est représentée dans la figure n°14.

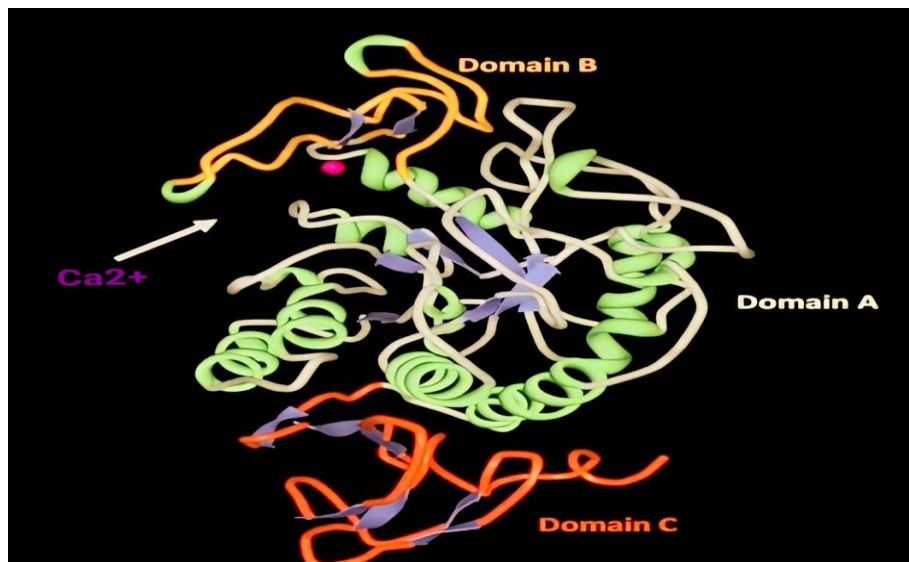


Figure n°14 : Structure tridimensionnelle de la α -amylase origine : *Aspergillus oryzae* (Zhang *et al.*, 2017)

3. Inhibition de l' α -amylase

L' α -amylase pancréatique est une enzyme qui catalyse l'étape clé de l'hydrolyse de l'amidon en maltose, finalement, en glucose. Le glucose issu de la digestion est absorbé par les cellules intestinales via des GLUT2, entraînant une hyperglycémie postprandiale. L'inhibition de l' α -amylase est une cible thérapeutique bien connue pour le traitement et le maintien des élévations postprandiales de la glycémie et le développement de nouveaux médicaments. Actuellement, les inhibiteurs d' α -amylase les plus utilisés sont l'acarbose et le miglitol (Mahmood, 2016 ; Kaur *et al.*, 2021).

3.1. Acarbose

L'acarbose est un composé pseudotétracosaccharide d'origine microbienne (Fig. n°15). Il fonctionne comme un médicament antidiabétique orale par l'inhibition compétitive, en se liant de manière réversible à l' α -amylase dans l'intestin (Agarwal & Gupta, 2016 ; Mahmood, 2016).

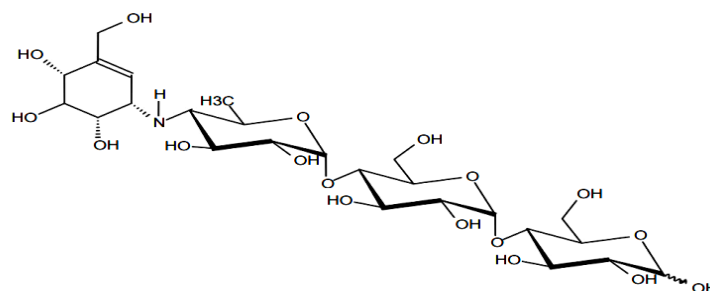


Figure n°15 : Structure chimique de l'acarbose (Sales *et al.*, 2012)

3.2. Miglitol

Le miglitol est un médicament de synthèse chimique, appartient à la classe des inhibiteurs de l' α -amylase (Fig. n°16). C'est un dérivé de la 1-désoxynojirimycine, il inhibe fortement les activités du saccharose, de la glucoamylase et de l'isomaltase (Agarwal & Gupta, 2016).

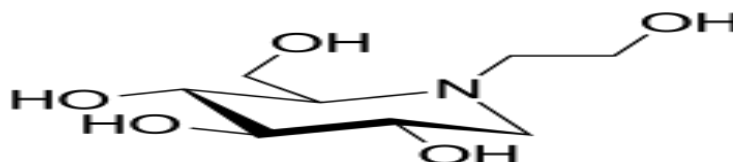


Figure n°16 : Structure chimique de miglitol (Sales *et al.*, 2012)

4. Plantes médicinales et inhibition de l' α -amylase

Le tableau ci-dessous récapitule les plantes médicinales ayant un effet inhibiteur de l' α -amylase, ainsi que leur concentration inhibitrice à 50% (IC₅₀).

Tableau n°2 : Plantes médicinales à effets inhibiteurs de l' α -amylase

| Plante | Extraits | IC ₅₀ | Référence |
|----------------------------|--------------------------|------------------|---|
| <i>Punica granatum</i> | Extrait hydro-alcoolique | 3,65 g /l | (Belkacem <i>et al.</i> , 2010) |
| <i>Prunus persica</i> | Extrait Aqueux | 59,95 mg/ml | (Prakash & Sagar, 2019) |
| | Extrait acétonique | 50,00 mg/ml | |
| <i>Citrus aurantifolia</i> | Extrait hydro-alcoolique | 0,375mg/ml | (Şeker Karatoprak <i>et al.</i> , 2021) |
| <i>Murraya Koenigii</i> | Extrait chloroforme | 56,64 mg/ml | (Bhat <i>et al.</i> , 2011) |
| <i>Phyllanthus amarus</i> | Extrait éthanolique | 17,78 µg/ml | (Thengyai <i>et al.</i> , 2020) |
| <i>Senna siamea</i> | Extrait éthanolique | 14,12 µg/ml | (Thengyai <i>et al.</i> , 2020) |

Synthèse bibliographique

*Chapitre 03 : Présentation de la plante *Prunus*
*Cerasus**

1. Nom vernaculaire

Prunus cerasus communément appelé « cerisier acide », « cerisier aigre », « griottier acide » et « cerisier acidulé» (Turcati, 2020).

2. Description botanique

P. cerasus est une petite plante portant des drageons racinaires, appartient à la famille de Rosacée et du genre *prunus*. L'arbre atteint généralement une hauteur de 4 à 10 mètres, avec une couronne étalée ou arrondie (Fig. n°17). Les fruits de cerisier sont des drupes (Fruit à noyau) globuleuse attachées aux branches (pédoncules), de couleur rouge pâle à presque noir de 0.6-1.25 cm de diamètre et de saveur acidulée (Fig. n°18) (Shamsi *et al.*, 2017 ; Tarhan *et al.*, 2006).



Figure n°17 : Arbre de *P.cerasus*



Figure n°18 : Fruit de *P.cerasus*

3. Classification Systématique

D'après Hummer et Janick (2009), la classification taxonomique de *P.cerasus* est la suivante :

Règne : Plantae

Division : Magnoliophyta (plante à fleurs)

Classe : Magnoliopsida (Dicotylédones)

Ordre : Rosales

Famille : Rosaceae

Sous-famille : Amygdaloïdeae

Genre : Prunus

4. Origine et Répartition géographique

P.cerasus est une espèce fascinante d'arbre fruitier originaire d'Europe centrale et dans les régions entourant la mer Caspienne et la mer Noir, et il est répandu à travers l'Europe continentale, le Nord Amérique et dans les régions d'Asie occidentale (Wojdylo *et al.*, 2014 ; Wunsch & Hormaza, 2002).

En Algérie, Selon deuxième le rapport national sur l'état des ressources phylogénétiques (2006), les cerisiers acides sont également cultivés dans les zones de hautes altitudes : Tlemcen, média, haute de Kabylie, Miliana et Blida.

5. Propriétés thérapeutiques et utilisation traditionnelle

P.cerasus est une plante médicinale cultivée en tant que culture fruitière, et elle a été utilisée en particulier les fruits, graines et pédoncules depuis l'antiquité pour ses vertus thérapeutiques (Shamsi *et al.*, 2017).

Les cerises aigres sont utilisées surtout pour le traitement des infections comme les infections urinaires, la néphrolithiase (les calculs rénaux), la cysto-lithiase (les calculs dans la vessie) et la dysurie (miction douloureuse et gênante). En plus, Les fruits frais avec les noyaux étaient traditionnellement utilisés pour préparer le sirop de cerises qui était utilisée pour traiter la fièvre et les maladies de foie (jaunisse). Les cerises acides avec son action analgésique, ils ont les capacités de soulager les douleurs musculaires ou les réduire après une activité sportive (Laurent, 2017 ; Shamsi *et al.*, 2017 ; Steinmetz, 1954).

Les bienfaits physiologiques des cerises sur l'homme se sont concentrés principalement sur la nutrition sportive pour la récupération musculaire, les effets antigoutteux, fonctions vasculaires (Blando & Dave Oomah ,2019).

L'infusion ou le décocté des pédoncules de *P.cerasus* sont largement utilisés à des fins médicinales telles que diurétiques, dépuratifs et anti-inflammatoires et destiné au traitement de la bronchite et la diarrhée. Son action diurétique (anti-aldostérone) rendre le traitement par les pédoncules très intéressant contre la rétention d'eau lors d'un manque progestérone (Djerroumi & Nacef, 2013 ; Hooman *et al.*, 2009).

Les graines de griotte sont très utilisées en médecine douce pour plusieurs vertus curatives y compris l'amélioration de la qualité de sommeil, car elles contiennent de la mélatonine (hormone de sommeil). Les graines ont des propriétés gastroprotecteurs (contre le

gastrique ulcère), anti-inflammatoires et anti-nociceptives (Howatson *et al.*, 2012 ; Raafat *et al.*, 2020).

6. Activités biologiques

P. cerasus est une plante médicinale à fort potentiel en métabolites primaires, secondaires et en activités biologiques. À ce jour, la recherche de nouvelles activités se poursuit. Le tableau suivant montre les travaux antérieurs dans le cadre des activités biologiques de cette plante.

Tableau n°3: travaux antérieurs consacrés à l'étude des activités biologiques de *P.cerasus*

| Activité biologique | extraits ou molécules bioactives isolés | Références |
|---|--|---|
| Hypoglycémiant (aigus et subchroniques) | Extraits d'acétate d'éthyle des graines | (Saleh, 2017) |
| Anti-obésité et antidiabétiques | Cyanidine-3-O-rutinoside Malvidine-3,5-diglucoside Cyanidine-3-O-glucoside | (Homoki <i>et al.</i> , 2016) |
| Effet sur la pression diastolique | Poly phénols et anthocyanes des fruits de (<i>P.cerasus</i>) | (Han <i>et al.</i> , 2020) |
| Antimicrobienne | Extrait brut aqueux des feuilles | (Berroukche <i>et al.</i> , 2018) |
| Effet insecticide | Extrait d'éther de pétrole Graines de <i>Prunus cerasus</i> | (Slemm <i>et al.</i> , 2021) |
| Effet sur la production de prostaglandine E2 (PGE2) | Extrait de l'anthocyanine pure | (Phuong Nguyen <i>et al.</i> , 2018) |
| Anticancéreuse anti-arythmique | Les composés phénoliques Extrait de graine | (Khoo <i>et al.</i> , 2012) (Kalantari <i>et al.</i> , 2015) |
| Antioxydante | Acide chlorogénique Tétrahydroxyflavonol-3-rhamnoside trihydroxyflavonol-3-rutinoside Mélatonine (N-acétyl-5-méthoxytryptamine) | (Ferretti <i>et al.</i> , 2010 ; Kirakosyan <i>et al.</i> , 2009) |

Matériel et méthodes

La partie expérimentale de notre étude a été effectuée au niveau de laboratoire de recherche « Antibiotique, Antifongique : Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique » (LAPSAB).

1. Matériel Végétal

Le matériel végétal sur lequel portait notre étude est *Prunus cerasus*, composé de racines, de pédoncules et de graines (Fig. n°19, 20, 21).



Figure n°19: Racines de *P. cerasus* Figure n°20: Pédoncules de *P. cerasus* Figure n°21: Graines de *P. cerasus*

1.1. Préparation du matériel végétal

Les racines, les pédoncules et les graines de *P. cerasus* ont été nettoyés par l'eau de robinet afin de débarrasser toutes impuretés puis séchées à température ambiante et à l'abri de la lumière pour la conservation des substances bioactives. Les échantillons ont été finement broyés à l'aide d'un mortier et la poudre obtenue a été conservée jusqu'à son utilisation (Fig. n°26, 27, 28).



Figure 22 : Poudre des racines Figure 23 : Poudre des pédoncules Figure 24 : Poudre des graines

1.2. Extraction du matériel végétal

Les différents extraits étudiés dans la partie expérimentale, ont été préparés par une décoction sous reflux pendant 1 h (Fig. n°25).

- **Les extraits aqueux**

10 g de poudre végétale de tous les échantillons (racines, pédoncules et graines) ont été mis en contact avec 300 ml d'eau distillée. Les mélanges ont été portés sous reflux pendant 1h. Après filtration, les différents extraits bruts aqueux obtenus ont été évaporés à sec dans l'étuve à 37°C.

- **Les extraits hydroéthanoliques**

10 g de poudre végétale de tous les échantillons (racines, pédoncules et graines) ont été mis en contact avec 300 ml d'un solvant eau/éthanol (30 : 70, v : v). Les mélanges ont été portés sous reflux pendant 1h. Après filtration, l'éthanol a été éliminé du filtrat par évaporation à 50°C à l'aide d'un rotavapeur. Les différents extraits bruts obtenus ont été séchés dans l'étuve à 37°C.

Les différents extraits étudiés dans ce travail sont :

- Extrait brut aqueux des racines (EAR)
- Extrait brut hydroéthanolique des racines (EéthR)
- Extrait brut aqueux des pédoncules (EAP)
- Extrait brut hydroéthanolique des pédoncules (EéthP)
- Extrait brut aqueux des graines (EAG)
- Extrait brut hydroéthanolique de graines (EéthG)

1.3. Rendement

Le rendement de différents extraits a été déterminé par apport à 10 g de matériel végétal sec selon la formule suivante :

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

R% : rendement en pourcentage

m : masse en gramme de l'extrait brut sec

M : masse en gramme de matière végétal sèche

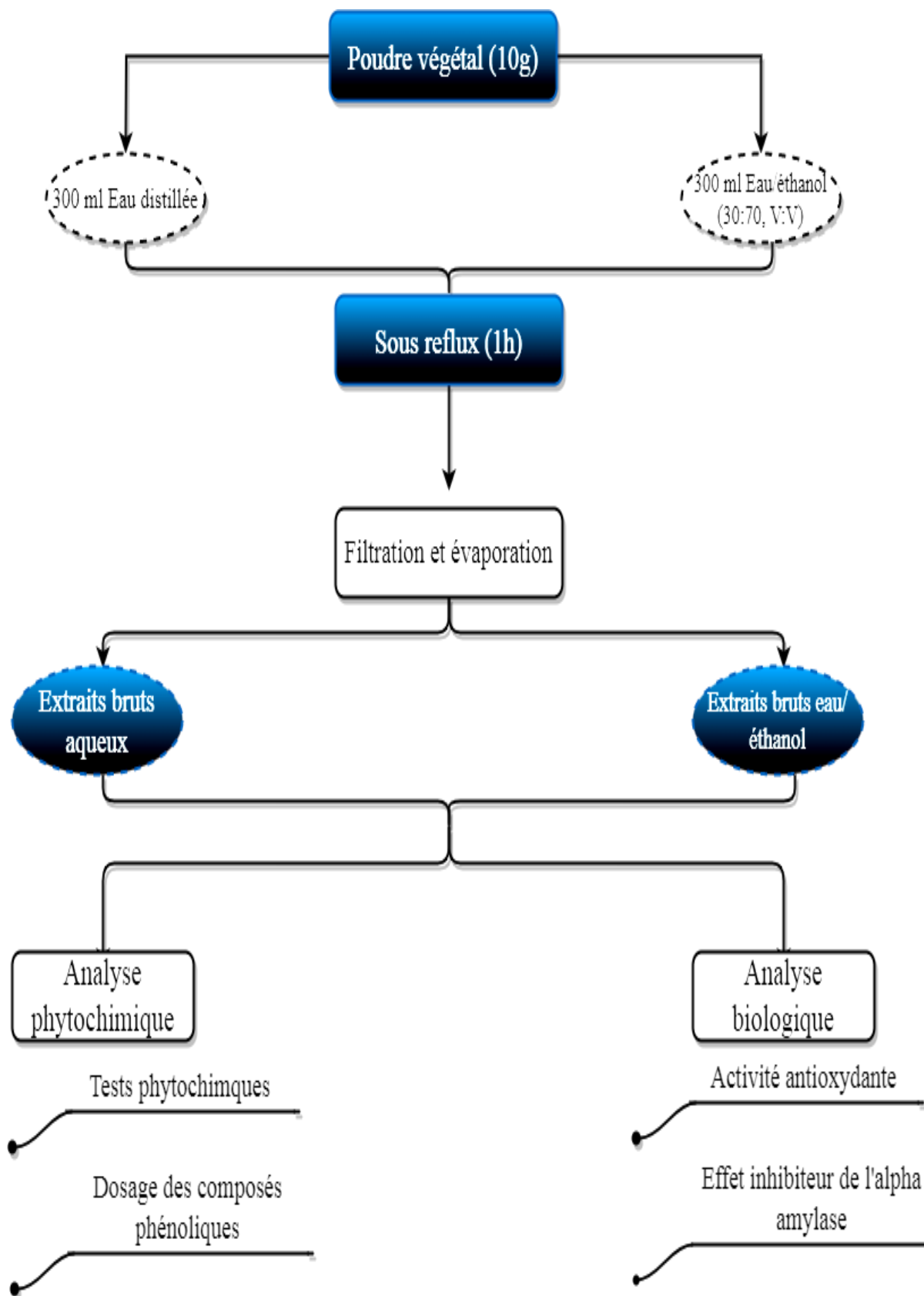


Figure n°25 : Protocole général de la partie expérimentale

2. Analyse phytochimique

Les extraits préparés ont été soumis à des tests de coloration et de précipitation en tubes, à fin de détecter la présence ou l'absence des groupes de familles chimiques tel que :

- **Les tanins**

Pour caractériser les tanins, 1 ml de chaque extrait a été mélangé avec 0,25 ml d'une solution aqueuse de FeCl_3 (1 %), le mélange a été incubé à température ambiante pendant 15 min. L'apparition d'une couleur bleu-noirâtre ou verdâtre indique la présence des tanins (**Karumi, 2004**).

- **Les Flavonoïdes**

Les flavonoïdes ont été recherchés en ajoutant pour chaque volume d'extrait 1 ml d'acide chlorhydrique concentré (HCL) puis quelques copeaux de magnésium. L'apparition d'une couleur rouge, orange ou rose indique la présence des flavonoïdes (**Karumi, 2004**).

- **Les quinones libres**

Dans un tube à essai, 0,1 ml hydroxyde de sodium (NaOH à 1 %) a été ajouté a 1 ml de chaque extrait a analysé. L'apparition d'une couleur jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones libre (**Oloyede, 2005**).

- **Les anthraquinones**

Les anthraquinones ont été mises en évidence en ajoutant 1 ml de NH_4OH (10 %). Après agitation, l'apparition d'une couleur violette, indiquée la présence des anthraquinones (**Oloyede, 2005**).

- **Les terpénoïdes**

Les terpénoïdes ont été recherchés à l'aide du test de Slakowski en ajoutant 0,4 ml de chloroforme et 0,6 ml d'acide sulfurique concentré à 1 ml d'extrait. L'apparition de deux phases et une couleur marron à l'interface indiquent la présence de terpénoïdes (**Khan et al., 2011**).

- **Les saponosides**

Les saponosides ont été recherchés par le test de mouse, après agitation de 10 ml de chaque extrait, une mousse supérieur à 1cm et qui persiste entre 10 et 20 min confirme la présence des saponosides (**N'Guessan et al., 2009**).

- **Les alcaloïdes**

Les tests ont été réalisés par des réactions de précipitation avec le réactif de Mayer et Wagner. Dans deux tubes contenant 0,5 ml d'extrait, 0,5ml de réactif de Mayer était ajouté dans le premier tube et 0,5 ml de réactif de Wagner dans le deuxième. L'apparition d'un précipité blanc et marron indique la présence des alcaloïdes (**Majob et al., 2003**).

- **Les composés réducteurs**

Leur détection consiste à introduire 1 ml d'extrait dans un tube à essai, puis 2 ml de liqueur de Fehling (1 ml de réactif A et 1 ml de réactif B). Ensuite, l'ensemble était porté au bain-marie bouillant durant 10 min. L'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs (**Edeoga et al., 2005**).

3. Dosage des composés phénoliques

3.1. Dosage des polyphénols totaux

3.1.1 Principe

La détermination des polyphénols totaux a été effectuée selon la méthode de Folin-Ciocalteu, ce réactif est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique $H_3 [P (W_3O_{10})_4]$ et d'acide phosphomolybdique ($H_3 PMO_{12} O_{40}$) de couleur jaune. Cette méthode est basée sur l'oxydation des composés phénoliques par le réactif de Folin-Ciocalteu, qui entraîne la formation de complexe molybdène-tungstène de couleur bleue qui absorbe à 700 nm (**Vermerris & Nicholson, 2007**).

3.1.2 Mode opératoire

100 μ l de chaque extrait brut a été mélangé avec 2 ml d'une solution de carbonate de sodium à 2 %, le mélange a été incubé durant 5 min. 100 μ l de réactif de Folin-Ciocalteu (1N) a été ajouté au mélange, une deuxième incubation à température ambiante pendant 5 min a été effectuée.

La densité optique a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à 700 nm contre un blanc.

Dans les mêmes conditions opératoires, la gamme d'étalonnage de l'acide gallique a été préparée à différentes concentrations (0,05 ; 0,1 ; 0,2 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8 ; 1 mg /ml).

3.2. Dosage des flavonoïdes

3.2.1. Principe

C'est une méthode spectrophotométrique utilisant le trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) qui forme un complexe jaune avec les flavonoïdes et la soude (NaOH) qui forme un complexe de couleur rose qui absorbe dans le visible à 510 nm (Ardestani & Yazdanparast, 2007).

3.2.2. Mode opératoire

Dans des tubes, 2 ml d'eau distillée ont été ajoutés à 500 μ l de chaque extrait puis, 150 μ l d'une solution de nitrite de sodium ($NaNO_2$) à 15 % ont été additionnés. Ensuite, les tubes ont été incubés pendant 6 min à température ambiante. Après le temps d'incubation, 150 μ l de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) à 10 % sont ajoutés. Une seconde incubation de 6 min à une température ambiante a été effectuée, suivie de l'ajout de 2 ml d'hydroxyde de sodium (NaOH) à 4 %. Le volume total est ajusté à 5 ml avec l'eau distillée.

La densité optique a été mesurée par rapport à un blanc à une longueur d'onde de 510 nm par spectrophotomètre.

Une courbe d'étalonnage de la catéchine a été effectuée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires à différentes concentrations (0,05 ; 0,1 ; 0,2 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8 mg/ml).

3.3. Dosage des tanins condensés

3.3.1. Principe

La quantité de tanins condensés a été estimée par la méthode de la vanilline. En milieu acide, les tanins condensés se dépolymérisent et en réagissant avec la vanilline se transforment en anthocyanidols de couleur rouge mesurable par spectrophotomètre à 550 nm (Sun *et al.*, 1998)

3.3.2. Mode opératoire

50 μ L de chaque extrait à analyser ont été ajoutés à 1500 μ l d'une solution méthanolique de la vanilline (4%). Après agitation, un volume de 750 μ L d'HCl concentré a été additionné. Le mélange était ensuite laissé réagir à température ambiante pendant 20 min.

Une gamme d'étalonnage de la catéchine a été réalisé à différentes concentrations (0,05 ; 0,1 ; 0,2 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8 ; 1 mg/ml).

La densité optique a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à 550 nm contre un blanc.

3.4. Expression des résultats

Les teneurs en polyphénols, en flavonoïdes et en tannins condensés ont été calculées selon la formule suivante :

$$T = a*f/b$$

T : Teneur

a : Concentration à partir de la courbe d'étalonnage respective

f : Facteur de dilution

b : Concentration initiale de l'extrait

4. Evaluation de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante des extraits aqueux et eau/éthanol de *P.cerasus* a été effectuée en utilisant le test de piégeage du radical 2,2'-diphényle-1-picrylhydrazyle (DPPH•) et le test de réduction du fer (FRAP).

4.1. Piégeage du radical libre DPPH•

4.1.1. Principe

La présence de ce radical donne à la solution une couleur violacée qui absorbe aux environ de 515 nm. La réduction des radicaux DPPH• par un agent antioxydant entraîne une décoloration de la solution en virant au jaune et par conséquent une diminution de l'absorbance (Atoui *et al.*, 2005).

4.1.2. Mode opératoire

1950 µl d'une solution méthanolique de DPPH• (0,025 mg/ml) ont été mélangés avec 50 µl de différentes concentrations des extraits. En parallèle, des tubes blancs sont préparés en mélangeant 50 µl de chaque concentration d'extrait et 1950 µl de méthanol. Le témoin négatif a été préparé par l'addition de 50 µl de méthanol à 1950 µl DPPH•.

Les séries des tubes ont été conservés à l'abri de la lumière à la température ambiante pendant 30 minutes. L'absorbance a été mesurée à 515 nm contre les tubes blancs à l'aide d'un spectrophotomètre.

L'acide ascorbique, le BHA et le BHT ont été également préparés comme contrôles positifs dans les mêmes conditions expérimentales. Les concentrations utilisés pour le BHA et le BHT était (0,05 ; 0,1 ; 0,2 ; 0,3 ; 0,4 ; 0,5 mg/ml), et (0,01 ; 0,03 ; 0,04 ; 0,05 ; 0,1 ; 0,2 mg/ml) pour l'acide ascorbique.

4.2. La méthode FRAP (Ferric Reducing Antioxydant Power)

4.2.1. Principe

Cette méthode est basée sur la détermination de la capacité des extraits à réduire l'ion ferrique (Fe^{3+}) en ion ferreux (Fe^{2+}). Cette réduction se traduit par l'apparition d'une couleur verte qui absorbe à 700nm dont l'intensité est proportionnelle au pouvoir réducteur (Topçu *et al.*, 2007).

4.2.2. Mode opératoire

Dans des tubes à essai contenant 2,5 ml d'extrait à différentes concentrations, 2,5 ml de tampon phosphate (0,2 M : pH 6,6) puis 2,5 ml de ferricyanure de potassium à 10 %, ont été ajoutés. Le mélange obtenu a été incubé pendant 20 min à 50°C. Un volume de 2,5 ml d'acide trichloroacétique (TCA) à 10% a été additionné. Après la centrifugation pendant 10 min à 3000 rpm, un aliquote de 2,5 ml du surnageant a été mélangé avec 2,5 d'eau distillée et 0,5 ml d'une solution de FeCl_3 à 0,1 %.

La lecture des absorbances du milieu réactionnel a été faite à 700 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre.

L'acide ascorbique, le BHA et le BHT sont utilisés comme contrôles positifs dans les mêmes conditions expérimentales à différentes concentrations (0,1 ; 0,2 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8 et 1 mg/ml).

5. Evaluation de l'activité inhibitrice de l' α -amylase

L'activité inhibitrice de l' α -amylase a été évaluée selon la méthode de dosage des sucres réducteurs de Bernfeld 1955. Dans un milieu alcalin et à chaud, l'oxydation des groupements aldéhydes et cétones libres des sucres réducteurs, provoque simultanément la réduction de l'acide 3,5-dinitrosalicylique (DNSA) de couleur jaune orange en acide 3-amino 5-nitrosalicylique de couleur rouge orange qui absorbe à 540 nm. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de sucres réducteurs présents dans le milieu réactionnel.

5.1. Préparation des réactifs

- **Réactif 3,5-dinitrosalicylique (DNSA)**
 - ❖ Solubilisation de 1g de DNSA dans 40 ml d'eau distillée ;
 - ❖ Addition de 30 g de tartrate double (sodium, potassium) sous agitation ;
 - ❖ Obtention d'une solution de couleur jaune opaque ;
 - ❖ L'addition de 20 ml d'une solution de NaOH (2N) rend le réactif limpide d'une couleur orange ;

- ❖ Le volume obtenu est ajusté à 100 ml avec l'eau distillée ;
- ❖ Conservation de réactif obtenue à +4°C.

- **Solution de l' α -amylase**

L'enzyme utilisé est l' α -amylase *d'Aspergillus oryzae* (E.C.3.2.1.1) sous forme lyophilisée (Sigma), son poids moléculaire est de 51000 Da avec une activité spécifique de 26 UI/mg, conservée à +4°C.

- ❖ La solubilisation de 0,015g d' α -amylase dans 1 ml de solution tampon phosphate (0,02 M, pH 6), la solution a une activité de 390UI /ml.
- ❖ L'activité enzymatique finale de l' α -amylase dans le milieu réactionnelle est 1,3 UI/ml.
- ❖ L'optimum de l'activité amylasique *d'Aspergillus oryzae* est à pH 6 pour une température de 25°C.

- **Solution de substrat (amidon)**

L'amidon soluble (Biochem "Chemopharma") est préparé dans la solution tampon phosphate (0,02 M, pH 6) à 1%.

- **Solution d'extraits**

Différentes concentrations des extraits ont été préparées dans la solution tampon phosphate (0,02 M, pH 6) afin d'évaluer leur effet sur l'activité enzymatique de l' α -amylase.

- **Solution d'acarbose**

L'acarbose (**Corect acarbose 50 mg**) est le contrôle positif qui a été utilisé à différentes concentrations préparées à partir d'une solution mère de 2 mg /ml.

5.2. Mode opératoire

Cette méthode a été réalisée selon le protocole de **Thalapaneni et al**, (2008) :

- **Réaction enzymatique en absence d'inhibiteur**

- ❖ Contrôle négatif : 0,5 ml de tampon + 0,5 ml d'amidon + 0,5 ml d' α -amylase
- ❖ Blanc : 1 ml de tampon +0,5 ml d'amidon

- **Réaction enzymatique en présence d'inhibiteur (Acarbose)**

- ❖ Contrôle positif : 0,5 ml d'acarbose + 0,5 d'amidon + 0,5 d' α -amylase
- ❖ Blanc : 0,5 ml d'acarbose + 0,5 ml d'amidon + 0,5 ml de tampon

- **Réaction enzymatique en présence des extraits à différentes concentrations**

- ❖ Tube expérimentale : 0,5 ml d'extrait +0,5 ml d'amidon + 0,5 ml d' α -amylase
- ❖ Blanc : 5 ml d'extrait +0,5 ml d'amidon + 0,5 ml tampon

Après ces différentes expériences, chaque tube a été agité et incubé à 25°C pendant 10 min. Après l'addition de 1 ml de DNSA au mélange, les tubes ont été placés dans un bain mari bouillant pendant 8 min, suivie par un choc thermique dans un bain d'eau glacée afin de stopper la réaction entre le maltose et le réactif DNSA et à la fin, 2 ml de l'eau distillée ont été ajoutés.

Les densités optiques sont lues par rapport à un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à 540 nm.

6. Expression des résultats

Les absorbances mesurés ont permis de calculer les pourcentages d'inhibitions du radical DPPH[•] et de l'inhibition de l' α -amylase, en utilisant la formule suivante :

$$\% I = [(AC - AE) / AC] \times 100$$

% I: Pourcentage d'inhibition.
AC : Absorbance de contrôle négatif
AE : Absorbance de l'échantillon

L'IC₅₀ (concentration inhibitrice à 50 %) a été calculée graphiquement pour chaque échantillon testé par l'équation des régressions logarithmiques ou linéaires des pourcentages d'inhibitions en fonction des différentes concentrations [Pourcentages d'inhibitions=f (concentrations)].

L'EC₅₀ (Concentration efficace à réduire 50% du fer) a été également calculée graphiquement pour chaque échantillon testé par l'équation des régressions logarithmiques ou linéaires des absorbances en fonction des différentes concentrations [Absorbances =f (concentrations)].

7. Analyse statistique des données

Toutes les expériences ont été répétées trois fois. Les résultats ont été exprimés par le calcul de la moyenne \pm ESM (erreur standard de la moyenne) à l'aide du logiciel Excel, tandis que les courbes ont été tracées à l'aide du logiciel SigmaPlot (12.0).

➤ **Moyenne:** $\bar{X} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n X_i$

➤ **Ecart type :** $\sigma_{(x)} = \sqrt{\frac{1}{n} \sum (X_i - \bar{X})^2}$

➤ **Erreur standard :** $ES = \frac{\sigma}{\sqrt{n-1}}$

Résultats et interprétation

1. Rendement d'extraction

Les résultats du tableau n°4 représentent le rendement, l'aspect, la couleur et le solvant de solubilisation des extraits bruts aqueux et hydroéthanoliques des racines, des pédoncules et des graines de *P. cerasus*.

Tableau n°4 : Caractéristiques des extraits bruts de *P. cerasus*

| Extraits bruts | Extraits des racines | | Extraits des pédoncules | | Extraits des graines | |
|-------------------|----------------------|---------------------|-------------------------|---------------------|----------------------|-------------------|
| | Aqueux | Hydro-éthanolique | Aqueux | Hydro-éthanolique | Aqueux | Hydro-éthanolique |
| Rendement | 16,15 % | 13,45 % | 28,00 % | 4,57 % | 5,50% | 6,15% |
| Aspect | Poudre cristallisée | Poudre cristallisée | Pâte | Poudre cristallisée | Poudre cristallisée | Pâte |
| Couleur | Marron foncé | Marron clair | Marron foncé | Marron foncé | Jaune pâle | Jaune pâle |
| Solubilité | Eau /éthanol | Eau /éthanol | Eau /éthanol | Eau /éthanol | Eau /éthanol | eau /éthanol |

Les résultats obtenus montrent que le rendement varie considérablement entre les différents extraits bruts de différentes parties de *P. cerasus*. Le rendement le plus élevé a été obtenu par l'extrait brut aqueux des pédoncules (28 %), suivie de l'extrait brut aqueux des racines (16,15 %), tandis que les rendements les plus faibles ont été obtenus par l'extrait brut hydroéthanolique des pédoncules (4,57%) et l'extrait aqueux et hydroéthanolique des graines (5,5% et 6,15%, respectivement).

En ce qui concerne l'aspect, les extraits bruts présentent un aspect de poudre cristallisée, à l'exception de l'extrait brut aqueux des pédoncules et l'extrait brut hydroéthanolique des graines qui ont un aspect de pâte. Les couleurs des extraits sont également très variées, allant de marron foncé pour les deux extraits bruts des pédoncules ainsi que pour l'extrait brut aqueux des racines, au jaune pâle pour les deux extraits bruts des graines.

Il est également intéressant de noter que tous les extraits bruts sont solubles dans le mélange eau/éthanol.

2. Analyse phytochimique

L'ensemble des tests de précipitation et de coloration permet de détecter la présence ou l'absence de différents composants phytochimiques dans les extraits de la plante. Le tableau ci-dessous résume les résultats de l'analyse phytochimique des différents extraits bruts de *P. cerasus*.

Tableau n°5 : Résultats de l'analyse phytochimique des extraits bruts de *P. cerasus*

| Extraits bruts | Extraits des racines | | Extraits des pédoncules | | Extraits des graines | |
|------------------------------|----------------------|-------------------|-------------------------|-------------------|----------------------|-------------------|
| | Aqueux | Hydro-éthanolique | Aqueux | Hydro-éthanolique | Aqueux | Hydro-Ethanolique |
| Tanins | ++ | + | +++ | ++ | - | - |
| Flavonoïdes | ++ | ++ | +++ | +++ | - | - |
| Quinones libres | + | + | ++ | +++ | - | - |
| Anthraquinones | - | - | + | + | - | - |
| Terpénoïdes | + | ++ | +++ | ++ | - | ++ |
| Saponosides | - | + | - | - | - | - |
| Alcaloïdes (Mayer) | - | + | - | - | - | + |
| | (Wagner) | - | + | - | - | + |
| Composés réducteurs | - | - | - | - | - | - |

(+++): Forte présence ; (++) : Moyenne présence ; (+) Faible présence ; (-) Absence

D'après les résultats obtenus, les extraits bruts aqueux et hydroéthanoliques des racines et des pédoncules ont montrés une présence forte à moyenne des tanins condensés, des flavonoïdes et des quinones libres, tandis que ces composés étaient absents dans les deux extraits bruts des graines.

Les anthraquinones sont faiblement présentes dans l'extrait bruts aqueux et hydroéthanolique des pédoncules et absents dans les autres extraits bruts.

A l'exception de l'extrait brut aqueux des graines, les terpénoïdes ont été retrouvés dans tous les extraits étudiés. Par ailleurs, les saponosides ont été révélés uniquement dans l'extrait hydroéthanolique des racines.

On peut également noter que les alcaloïdes ont été faiblement détectés dans les extraits bruts hydroéthanoliques des racines et des graines et absents dans les autres extraits, et que les composés réducteurs sont absents dans tous les extraits bruts.

3. Dosage des composés phénoliques

Les différents extraits bruts étudiés ont été soumis à un dosage quantitatif par méthodes spectrophotométriques, à fin de déterminer les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés.

Les teneurs en composés précédents ont été calculées en se référant à des courbes d'étalonnages, de l'acide gallique (Fig. n°26) pour les polyphénols totaux et de la catéchine (Fig. n°27, 28) pour les flavonoïdes et les tanins condensés, respectivement.

Les teneurs en composés phénoliques sont exprimées en milligramme équivalent acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/gE) pour les polyphénols totaux et en milligramme équivalent catéchine par gramme d'extrait (mg EQC/gE) pour les flavonoïdes et les tanins condensés. Les résultats sont représentés dans le tableau n°6.

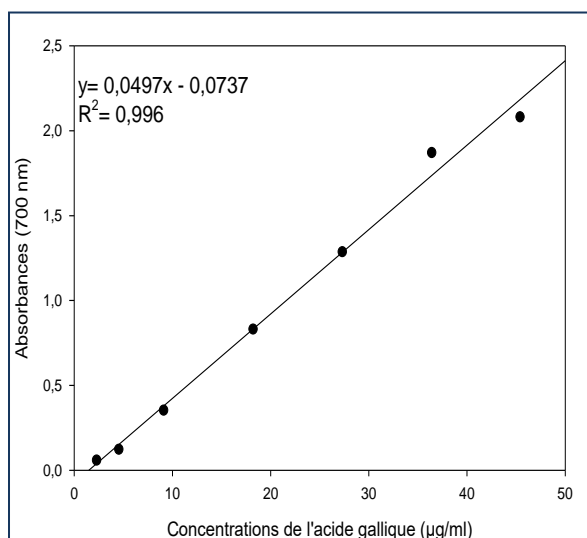


Figure n°26 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (Dosage des polyphénols totaux) (n=3)

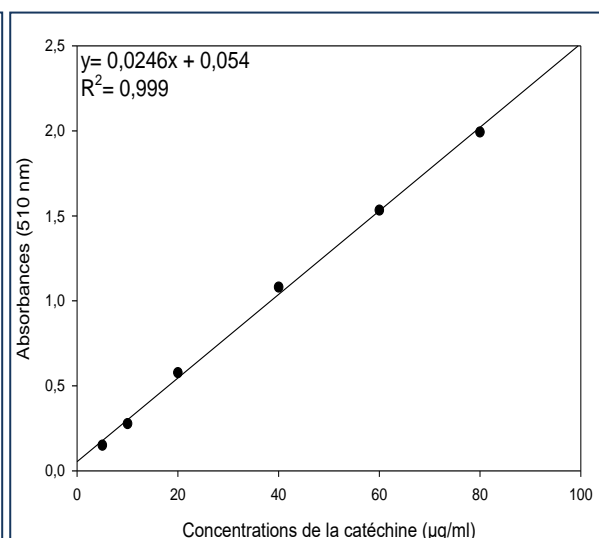


Figure n°27 : Courbe d'étalonnage de la catéchine (Dosage des flavonoïdes) (n=3)

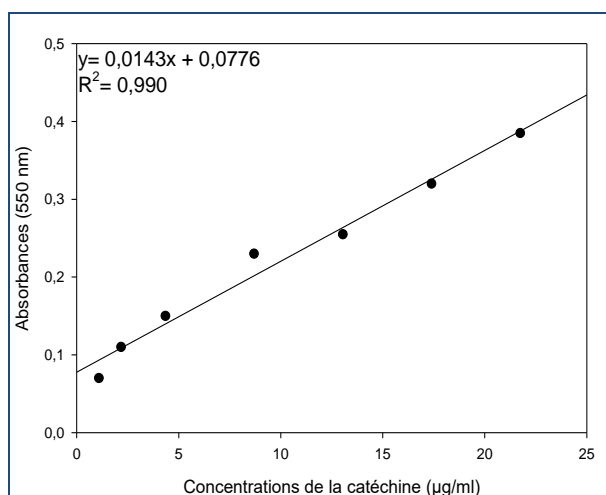


Figure n°28 : Courbe d'étalonnage de la catéchine (Dosage des tanins condensés) (n=3)

Tableau n°6 : Teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés dans les différents extraits bruts de *P. cerasus*

| Extrait brut | Extraits des racines | | Extraits des pédoncules | | Extraits des graines | |
|-------------------------------|----------------------|-------------------|-------------------------|-------------------|----------------------|-------------------|
| | Aqueux | Hydro-éthanolique | Aqueux | Hydro-éthanolique | Aqueux | Hydro-éthanolique |
| Polyphénols (mgEAG/gE) | 190,00 ±10,01 | 117,48 ±16,85 | 278,49 ± 8,36 | 345,17 ± 9,24 | 94,08 ±2,14 | 100,01 ±4,42 |
| Flavonoïdes (mgEQC/gE) | 48,5 ±4,99 | 18,70 ±4,99 | 475,39 ±1,66 | 104,07 ±5,77 | 2,44 ±0,001 | 4,47 ±2,87 |
| Tanins (mg EQC/gE) | 27,05 ±4,54 | 8,81 ±2,068 | 28,48 ±2,27 | 36,16 ±4,64 | ND | ND |

Chaque valeur représente la Moyenne ±ESM (n=3)

Les résultats du dosage montrent que les extraits bruts étudiés contiennent des quantités variables de polyphénols totaux. Les extraits bruts, hydroéthanoliques et aqueux des pédoncules présentent les teneurs les plus élevées (345,17 ±9,24 mg EAG/gE et 278,49 ± 8,36 mg EAG/gE, respectivement), suivie de l'extrait brut aqueux des racines (190 ±10,01 mg EAG/gE). Tandis que, l'extrait brut aqueux des graines présente la plus faible teneur en polyphénols totaux (94,08 ±2,14 mg EAG/gE).

En ce qui concerne les flavonoïdes, l'extrait aqueux des pédoncules est le plus riche en flavonoïdes (475,39 ±1,66 mg EQC/gE), suivie de l'extrait hydroéthanolique des pédoncules (104,07 ± 5,77 mg EQC/gE), et de l'extrait aqueux des racines (48,5 ±4,99 mg EQC/gE).

Il convient de noter que la plus faible teneur en flavonoïdes a été déterminée par l'extrait brut hydroéthanolique et aqueux des graines ($4,47 \pm 2,87$ mg EQC/gE et $2,44 \pm 0,001$ mg EQC/gE, respectivement).

Par ailleurs, nous avons observés que les extraits bruts aqueux des pédoncules et des racines présentent des teneurs en tanins condensés presque égales ($28,48 \pm 2,27$ mg EAG/gE et $27,05 \pm 4,54$ mg EAG/gE, respectivement). Cependant, les extraits bruts aqueux et hydroéthanoliques des graines ne révèlent aucune présence de tanins condensés.

4. Activité antioxydante des extraits de *P. cerasus*

Deux méthodes ont été utilisées dans cette étude pour évaluer l'activité antioxydante des extraits bruts de *P. cerasus* : la méthode DPPH• et la méthode FRAP. Dans ces deux méthodes, les extraits bruts ont été comparés à des molécules de références qui sont l'acide ascorbique, le BHA et le BHT.

4.1. Piégeage du radical DPPH•

4.1.1. Piégeage du radical DPPH• par les extraits des racines de *P. cerasus*

Les pourcentages d'inhibition des extraits bruts aqueux et hydroéthanoliques des racines de *P. cerasus* sont représentés graphiquement dans les figures n°29 et 30, respectivement.

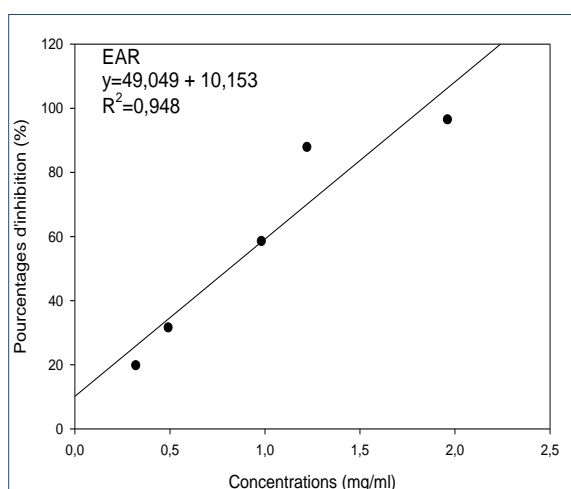


Figure n°29 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH• en fonction des différentes concentrations de l'extrait aqueux des racines de *P. cerasus* (n= 3)

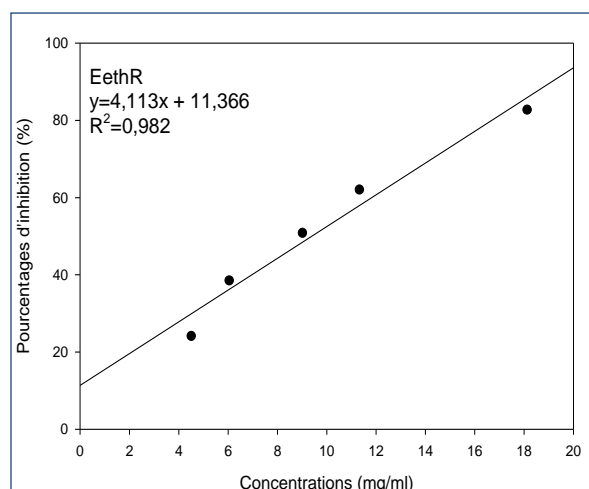


Figure n°30 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH• en fonction des différentes concentrations de l'extrait hydroéthanolique des racines de *P. cerasus* (n= 3)

Selon la figure n°29, les différentes concentrations de l'extrait brut aqueux des racines présentent des pourcentages d'inhibition importants, avec une régression linéaire bien corrélée ($R^2=0,948$). À 0,32 mg/ml, le pourcentage d'inhibition atteint 19,83 %. Cependant, à la concentration de 1 mg/ml, on observe une augmentation considérable de l'activité antioxydante, avec un pourcentage d'inhibition de 58,62 %. La concentration la plus élevée (1,96 mg/ml), donne un pourcentage d'inhibition de 96,55 %, ce qui indique que l'extrait a une très forte activité antioxydante à cette concentration.

La figure n°30, montre que le pourcentage d'inhibition du radical DPPH• augmente en fonction des différentes concentrations de l'extrait brut hydroéthanolique des racines, avec une régression linéaire fortement corrélée ($R^2=0,982$). À une concentration de 4,5 mg/ml, le pourcentage d'inhibition est relativement faible, atteignant 12,06%, mais il augmente régulièrement avec l'augmentation de la concentration de l'extrait. À une concentration de 18,12 mg/ml, le pourcentage d'inhibition est de 82,75%, ce qui suggère une activité antioxydante considérable de l'extrait à cette concentration.

En comparaison entre les deux extraits des racines, on note que l'extrait aqueux présente des pourcentages d'inhibition plus importants que l'extrait hydroéthanolique.

4.1.2. Piégeage du radical DPPH• par les extraits des pédoncules de *P. cerasus*

Les régressions linéaires représentées sur la figure n°31 et 32, représentent les variations des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations des extraits bruts aqueux et hydroéthanoliques des pédoncules de *P. cerasus*, respectivement.

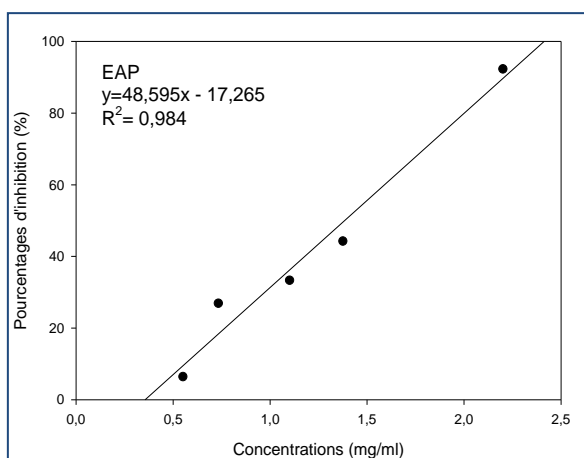


Figure n°31 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH• en fonction des différentes concentrations de l'extrait aqueux des pédoncules de *P. cerasus* (n=3)

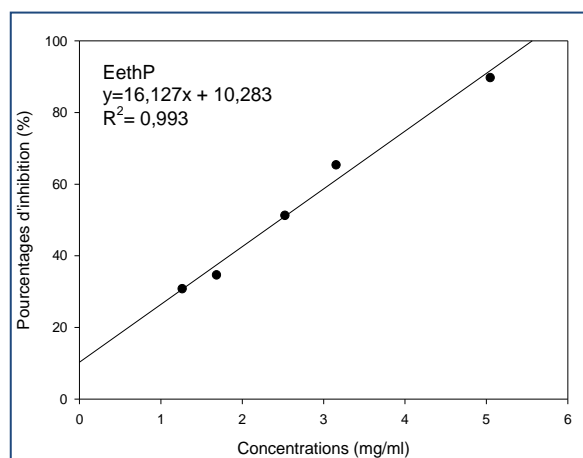


Figure n°32 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH• en fonction des différentes concentrations de l'extrait hydroéthanolique des pédoncules de *P. cerasus* (n=3)

Selon la figure n°31, on remarque qu'il y a une augmentation des pourcentages d'inhibitions proportionnelle aux concentrations de l'extrait brut aqueux des pédoncules. À faible concentration (0,55 mg/ml), le pourcentage d'inhibition est de 6,41%, mais il augmente significativement pour atteindre 26,92% à 0,73 mg/ml, 44,23% à 1,37 mg/ml, et 92,30% à 2,2 mg/ml.

D'après la figure n°32, la régression linéaire établie entre les pourcentages d'inhibitions de DPPH• et les concentrations de l'extrait hydroéthanolique des pédoncules, donne une corrélation très forte ($R^2=0,993$). En comparaison avec la figure précédente, cette figure montre également une augmentation des pourcentages d'inhibitions proportionnelle aux concentrations, mais avec des pourcentages d'inhibition plus faibles. Les pourcentages d'inhibitions sont de 30% à 1,26 mg/ml, 51,28% à 2,52 mg/ml et 89,74% à 5,04 mg/ml.

4.1.3. Piégeage du radical DPPH• par les extraits bruts des graines de *P. cerasus*

Les variations des pourcentages d'inhibition des extraits aqueux et hydroéthanolique des graines de *P. cerasus* sont représentées sur par les régressions linéaires des figures n°33 et 34, respectivement.

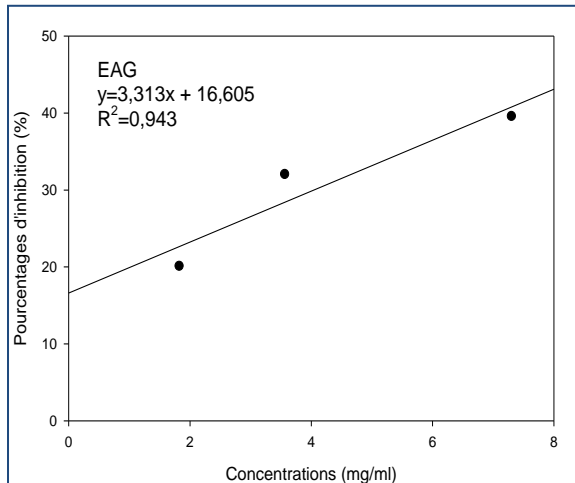


Figure n°33 : Pourcentages d'inhibition du radical DPPH• en fonction des différentes concentrations de l'extrait aqueux des graines de *P. cerasus* (n=3)

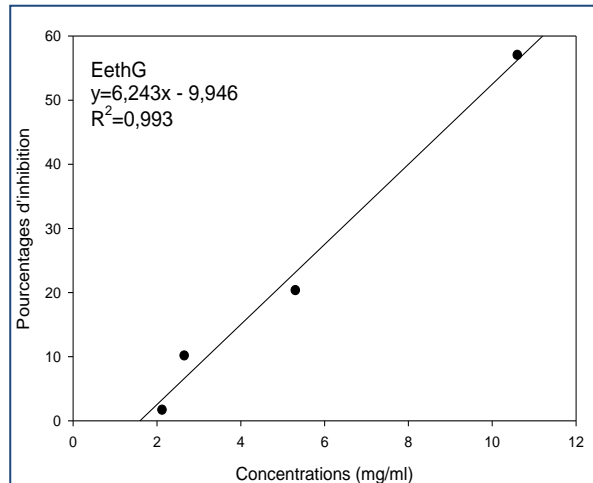


Figure n°34 : Pourcentages d'inhibition du radical DPPH• en fonction des différentes concentrations de l'extrait hydroéthanolique des graines de *P. cerasus* (n=3)

D'après les résultats représentés sur la figure n°33, on peut constater que la faible concentration de l'extrait aqueux des graines (1,28 mg/ml) inhibe 20,13% de DPPH•, ce qui indique une activité antioxydante modérée. Néanmoins, les pourcentages d'inhibition ont

significativement augmentés, atteignant 32,03% et 39,62%, respectivement à des concentrations plus élevées de 3,56 mg/ml et 7,3 mg/ml.

Selon les données de la figure n°34, l'extrait hydroéthanolique des graines de *P. cerasus* a montré un faible pourcentage d'inhibition (1,69%) à une concentration de 2,12 mg/ml et il a augmenté considérablement à des concentrations croissantes, atteignant 10,17% à 2,65 mg / ml, 20,34% à 5,3 mg / ml et 57,06% à 10,6 mg / ml.

4.1.4. Piégeage du radical libre DPPH• par les molécules de références

Trois composés de référence, l'acide ascorbique, le BHA et le BHT, ont été testés pour leur capacité à piéger le radical libre DPPH•. Les résultats, représentés sur les figures n°35, 36 et 37, montrent des pourcentages d'inhibition corrélés de manière significative à des concentrations croissantes de ces composés.

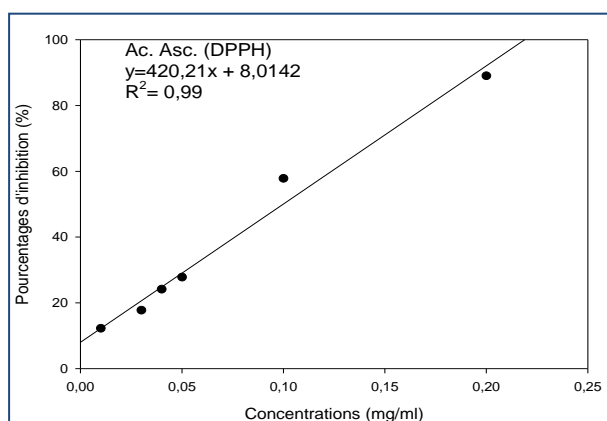


Figure n°35 : Pourcentages d'inhibition du radical DPPH• en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique (n=3)

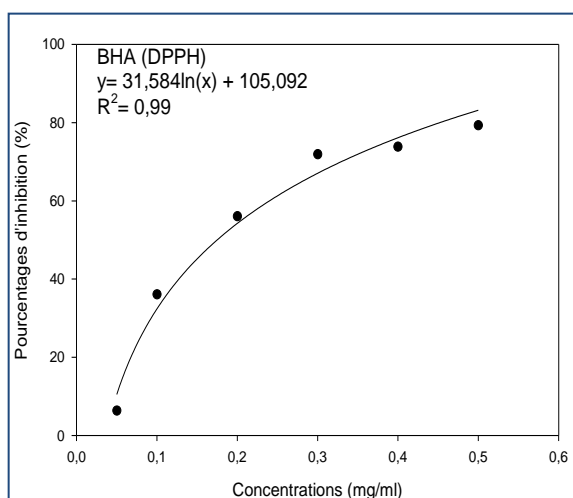


Figure n°36 : Pourcentages d'inhibition du radical DPPH• en fonction des différentes concentrations de BHA (n=3)

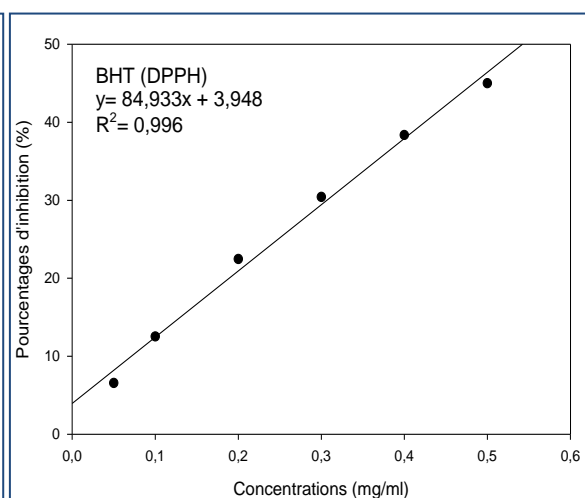


Figure n°37 : Pourcentages d'inhibition du radical DPPH• en fonction des différentes concentrations de BHT (n=3)

Résultats et interprétation

Les résultats obtenus indiquent que, à une concentration de 0,2 mg/ml, l'acide ascorbique a présenté le pourcentage d'inhibition le plus élevé parmi les trois molécules de référence testées, avec un pourcentage d'inhibition de 89,02%. En revanche, pour le BHA et le BHT, le pourcentage d'inhibition était significativement plus faible, atteignant respectivement 79,33% et 45% à une concentration de 0,5 mg/ml.

D'après les trois figures, on peut observer que l'acide ascorbique présente l'activité antioxydante la plus élevée, suivie du BHA, et enfin du BHT.

4.1.5. Calcul des IC₅₀

Le tableau n°7 représente les IC₅₀ des différents extraits bruts et des molécules de référence.

Tableau n°7 : Valeurs des IC₅₀ des différents extraits et des molécules de référence

| | Extraits des racines | | Extraits des pédoncules | | Extraits des graines | | Molécules de référence | | |
|---------------------------|----------------------|-------------------|-------------------------|-------------------|----------------------|-------------------|------------------------|------|------|
| | Aqueux | Hydro-éthanolique | Aqueux | Hydro-éthanolique | Aqueux | Hydro-éthanolique | Acide ascorbique | BHA | BHT |
| IC ₅₀ mg/ml | 0,81 | 9,39 | 1,38 | 2,46 | 10,08 | 9,60 | 0,099 | 0,17 | 0,54 |

D'après les résultats présentés dans le tableau ci-dessus, il est observé que l'acide ascorbique présente la plus forte activité antioxydante avec une IC₅₀ de 0,099 mg/ml, suivie de près par le BHA avec une valeur de 0,17 mg/ml, et le BHT avec une IC₅₀ de 0,54 mg/ml.

Pour les différents extraits bruts de *P. cerasus*, les extraits bruts aqueux des racines et des pédoncules ont montré les valeurs les plus faibles d'IC₅₀ (0,81 mg/ml et 1,38 mg/ml, respectivement), suivie de l'extrait brut hydroéthanolique des pédoncules avec une IC₅₀ de 2,46 mg/ml, indiquant une forte activité antioxydante, bien que toujours inférieure aux molécules de référence. Les autres extraits ont également montré une activité antioxydante considérable avec des IC₅₀ comprises entre 9 et 10 mg/ml.

4.2. Pouvoir réducteur du fer (méthode de FRAP)

4.2.1. Réduction du fer par les extraits bruts des racines de *P. cerasus*

Les figures n°38 et 39 montrent l'évolution de la densité optique du milieu réactionnel en fonction des différentes concentrations des extraits bruts aqueux et hydroéthanoliques des racines de *P. cerasus*, respectivement.

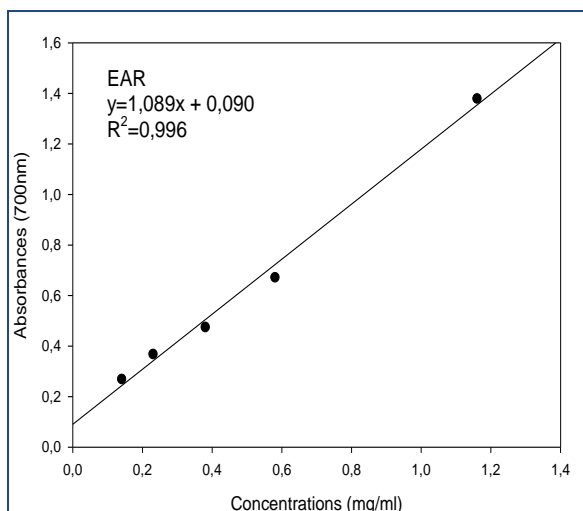


Figure n° 38 : Pouvoir réducteur du fer par l'extrait aqueux des racines de *P. cerasus* (n=3)

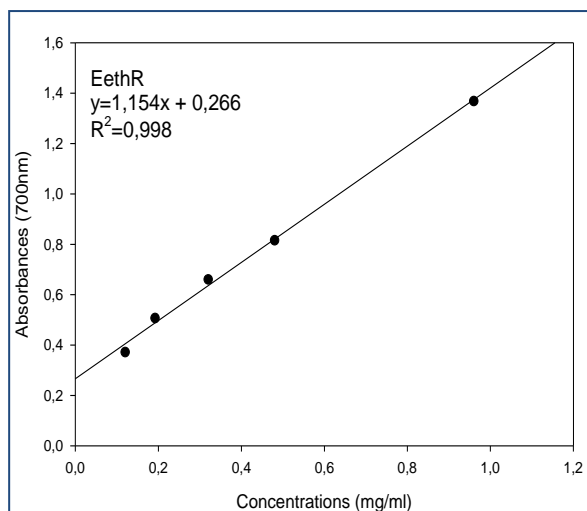


Figure n° 39 : Pouvoir réducteur du fer par l'extrait hydroéthanolique des racines de *P. cerasus* (n=3)

Les résultats de la réduction du fer par l'extrait aqueux des racines de *P. cerasus* montrent que les valeurs des absorbances ont augmenté de 0,269 à 0,672 à mesure que la concentration d'extrait augmentait de 0,14 mg/ml à 0,58 mg/ml. En outre, la concentration la plus élevée (1,16 mg/ml) a produit l'absorbance la plus élevée de 1,38.

D'après les données représentées sur la figure n°39, il est possible de constater une augmentation significative de l'absorbance, passant de 0,37 à 1,37 lorsque les concentrations de l'extrait hydroéthanolique des racines augmentent de 0,12 mg/ml à 0,96 mg/ml.

4.2.2. Réduction du fer par les extraits bruts des pédoncules de *P. cerasus*

Les figures n°40 et 41 présentent respectivement les résultats de l'évolution de la densité optique du milieu réactionnel en fonction des différentes concentrations des extraits bruts aqueux et hydroéthanoliques des pédoncules de *P. cerasus*.

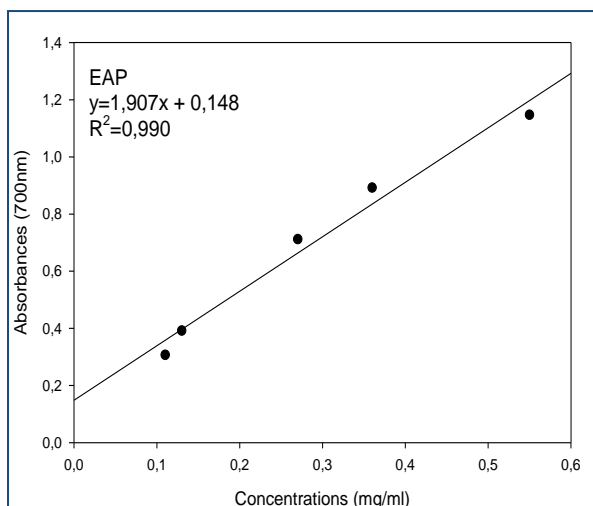


Figure n° 40 : Pouvoir réducteur du fer par de l'extrait aqueux des pédoncules de *P. cerasus* (n=3)

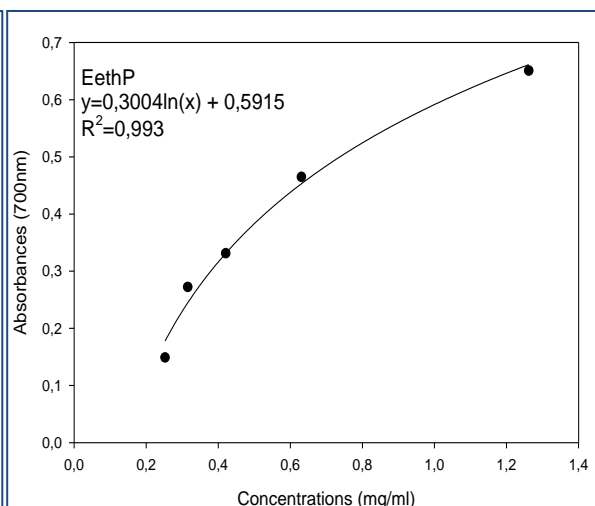


Figure n° 41 : Pouvoir réducteur du fer par l'extrait hydroéthanolique des pédoncules de *P. cerasus* (n=3)

En examinant les résultats de la figure n°40, on peut constater que pour une concentration de 0,27 mg/ml, l'absorbance donnée est de 0,71, tandis que pour une concentration de 0,55 mg/ml, l'absorbance atteint 1,14 à la fin de l'expérience. Ces résultats suggèrent une forte réduction du fer.

D'après les données représentées sur la figure n°41, il est possible de constater que l'extrait hydroéthanolique des pédoncules présente une faible absorbance de 0,65 à la plus forte concentration de 1,26 mg/ml.

4.2.3. Réduction du fer par les extraits bruts des graines de *P. cerasus*

Les résultats de réduction du fer par l'extrait aqueux et l'extrait hydroéthanolique des graines de *P. cerasus* sont représentés dans les figures n°42 et 43, respectivement.

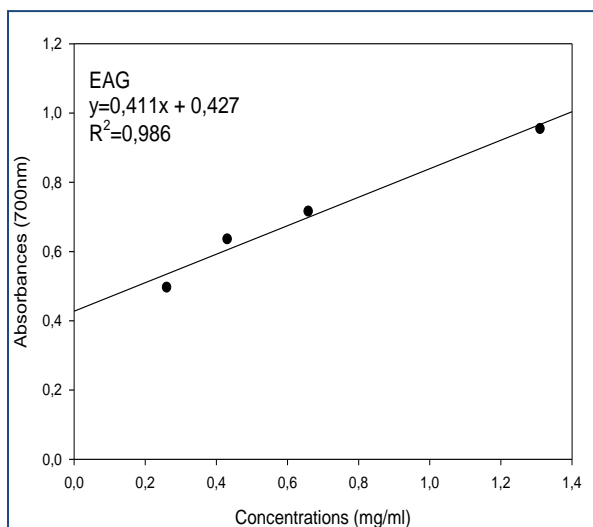


Figure n° 42 : Pouvoir réducteur du fer de l'extrait aqueux des graines de *P. cerasus* (n=3)

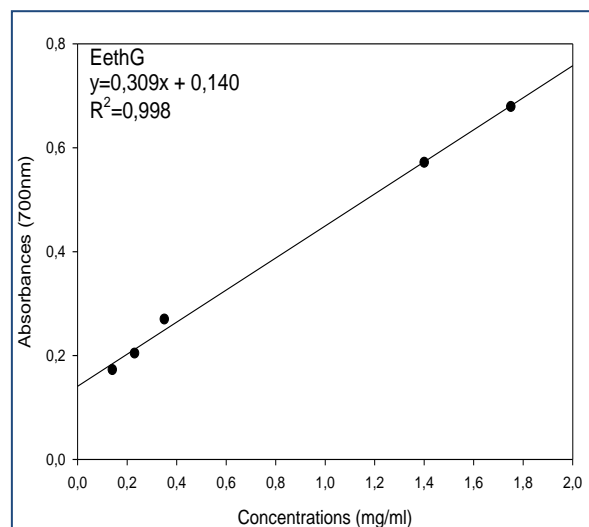


Figure n° 43 : Pouvoir réducteur du fer de l'extrait hydroéthanolique des graines de *P. cerasus* (n=3)

Les résultats de la figure n°42, démontent une augmentation significative de l'absorbance avec l'augmentation de la concentration de l'extrait brut aqueux des graines. L'absorbance est de 0,49 pour une concentration de 0,26 mg/ml et atteint son maximum (0,95) pour une concentration de 1,31 mg/ml.

D'après les résultats de la figure n°43, nous remarquons que les absorbances obtenues par l'extrait hydroéthanolique des graines sont relativement faibles et ne dépassent pas 1. En effet, pour des concentrations allant de 0,14 mg/ml à 1,75 mg/ml, les absorbances augmentent de 0,17 à 0,68.

4.2.4. Réduction du fer par les molécules de référence

Les résultats, de trois molécules de référence (acide ascorbique, BHA et BHT) sont représentés, respectivement sur les figures n°44, 45 et 46.

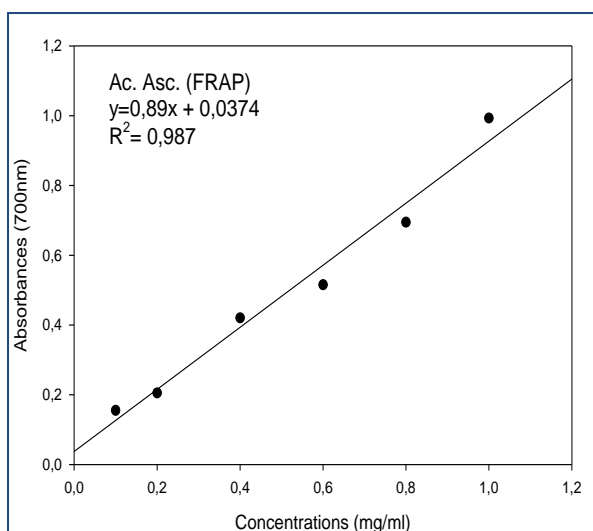


Figure n° 44 : Pouvoir réducteur du fer par l'acide ascorbique (n=3)

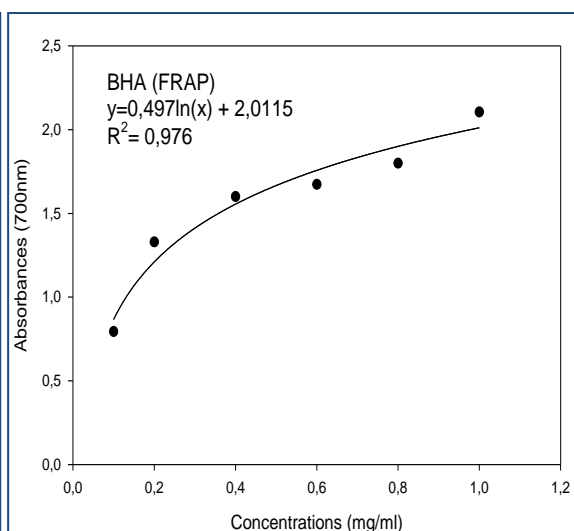


Figure n° 45 : Pouvoir réducteur du fer par le BHA (n=3)

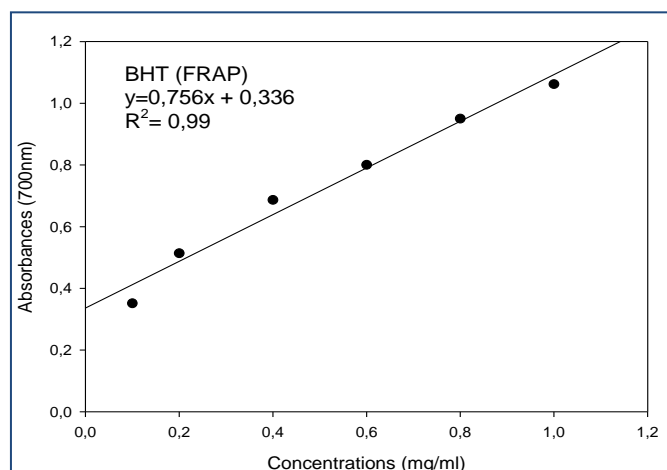


Figure n° 46 : Pouvoir réducteur du fer par le BHT (n=3)

Les résultats indiquent que pour la concentration la plus élevée (1mg/ml) d'acide ascorbique, de BHA et de BHT, les absorbances enregistrées sont respectivement, 0,99 ; 2,11 et 1,06, ce qui indique que le BHA a le pouvoir réducteur du fer le plus élevés suivis de BHT et acide ascorbique.

4.2.5. Calcul des EC₅₀

EC₅₀ ou Les concentrations efficaces pour atteindre une absorbance de 0,5 sont représentées dans le tableau n°8.

Tableau n°8 : Valeurs des EC₅₀ des différents extraits et des molécules de références pour la réduction du fer

| | Extraits des racines | | Extraits des pédoncules | | Extraits des graines | | Molécules de référence | | |
|---------------------------|----------------------|-------------------|-------------------------|-------------------|----------------------|-------------------|------------------------|------|------|
| | Aqueux | Hydro-éthanolique | Aqueux | Hydro-éthanolique | Aqueux | Hydro-éthanolique | Acide ascorbique | BHA | BHT |
| EC ₅₀ mg/ml | 0,37 | 0,20 | 0,18 | 0,73 | 0,17 | 1,16 | 0,52 | 0,05 | 0,21 |

On peut remarquer à partir du tableau précédent que, parmi les molécules de références, le BHA présente la plus faible valeur d'EC₅₀, qui est de 0,05 mg/ml, ce qui indique qu'il possède le pouvoir réducteur le plus élevé par rapport au BHT (EC₅₀=0,21 mg/ml) et l'acide ascorbique (EC₅₀=0,52 mg/ml).

En outre, il convient de noter que les valeurs d'EC₅₀ de l'extrait aqueux des graines et des pédoncules ainsi de l'extrait hydroéthanolique des racines sont presque identiques (0,17 mg/ml, 0,18 mg/ml et 0,20 mg/ml, respectivement) et que ces extraits ont montré un pouvoir réducteur plus élevé que le BHT et l'acide ascorbique, bien qu'ils restent inférieurs au BHA. Les extraits hydroéthanoliques des pédoncules et des graines représentent le pouvoir réducteur le plus faibles avec des EC₅₀ de 0,73 mg/ml et 1,16 mg/ml, respectivement.

4.3. Comparaison entre les deux méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante

Les extraits bruts de *P. cerasus* ainsi que les molécules de référence ont été classés en fonction de leur capacité à piéger le radical DPPH[•] et leur pouvoir réducteur du fer, en ordre croissant de puissance (Fig. n°47, 48).

• Pour la méthode de piégeage du radical DPPH*

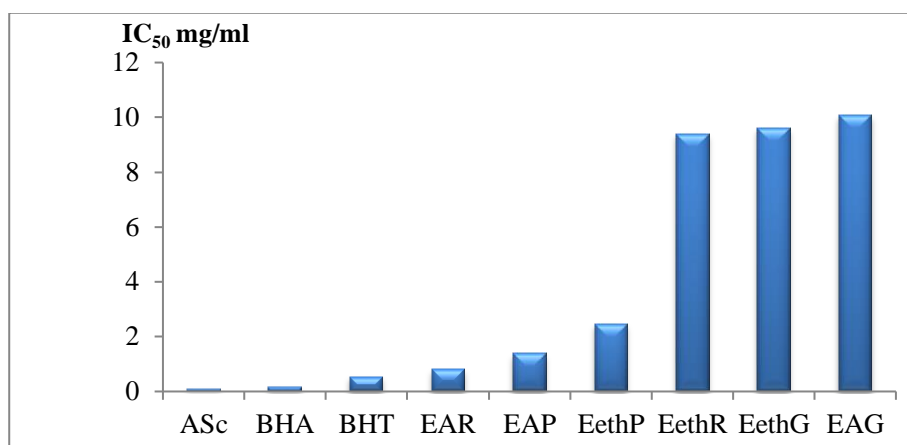


Figure n°47 : Classement des IC₅₀ des différents extraits bruts de *P. cerasus* et des molécules de références. ASc : acide ascorbique ; EAR : extrait aqueux des racines ; EethR : extrait hydroéthanolique des racines ; EAP : extrait aqueux des pédoncules ; EethP : extrait hydroéthanolique des pédoncules ; EAG : extrait aqueux des graines ; EethG : extrait hydroéthanolique des graines

• Pour la méthode de réduction du fer FRAP

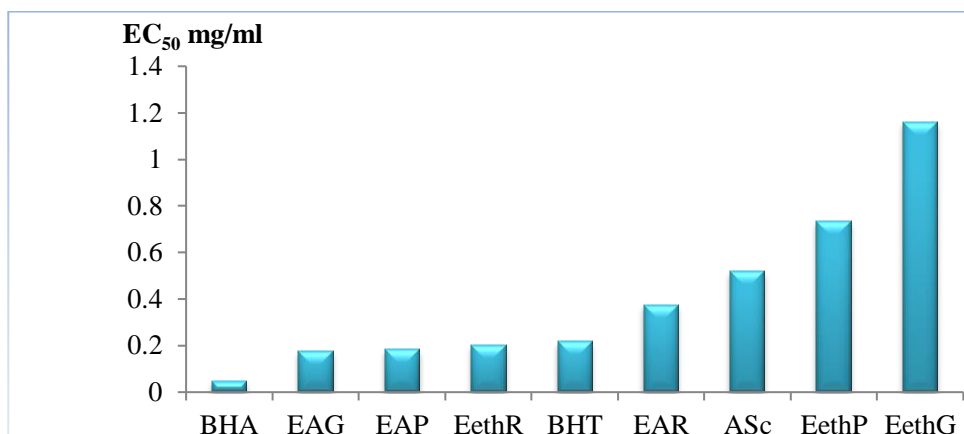


Figure n°48 : Classement des EC₅₀ des différents extraits bruts de *P. cerasus* et des molécules de références. ASc : acide ascorbique ; EAR : extrait aqueux des racines ; EethR : extrait hydroéthanolique des racines ; EAP : extrait aqueux des pédoncules ; EethP : extrait hydroéthanolique des pédoncules ; EAG : extrait aqueux des graines ; EethG : extrait hydroéthanolique des graines

Selon les classements des IC₅₀ et EC₅₀, on peut constater que la capacité antioxydante des différents extraits bruts de *P. cerasus* varie en fonction des deux méthodes utilisées, en raison d'un mécanisme de réaction différent.

5. Effet inhibiteur de l'α-amylase

L'activité inhibitrice de l'α-amylase des différents extraits et de l'acarbose a été évaluée à l'aide de la méthode de dosage des sucres réducteurs (Bernfeld, 1955).

5.1. Effet inhibiteur des extraits bruts des racines de *P. cerasus*

L'effet inhibiteur de l'extrait brut aqueux et hydroéthanolique des racines sur l' α -amylase, est représentée par les figures n°49 et 50, respectivement.

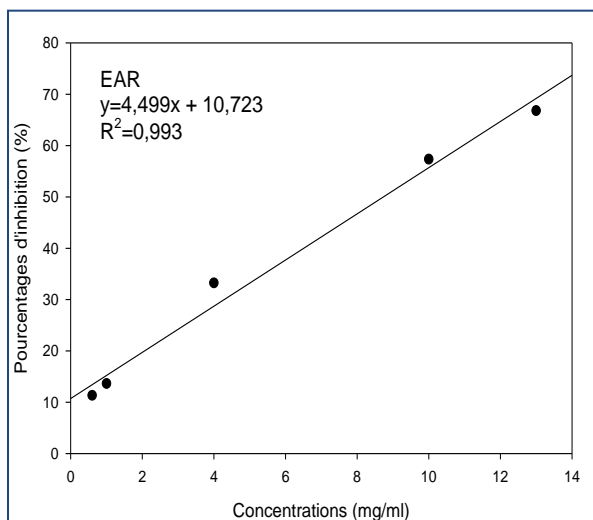


Figure n° 49 : Pourcentage d'inhibition de l' α -amylase par l'extrait aqueux des racines (n=3)

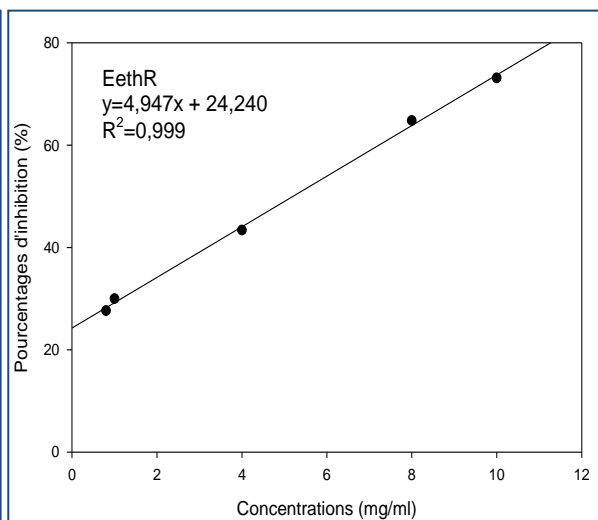


Figure n° 50 : Pourcentage d'inhibition de l' α -amylase par l'extrait hydroéthanolique des racines (n=3)

L'évaluation de l'effet inhibiteur de l'extrait aqueux des racines sur l'activité de l' α -amylase a permis d'observer une augmentation progressive des pourcentages d'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait. Les résultats ont révélé des taux d'inhibition de 11,13% pour une concentration de 0,6 mg/ml, 33,21% pour une concentration de 4 mg/ml, et une forte inhibition de 66,79% à une concentration de 13 mg/ml.

D'après les résultats de la figure n°50, on peut remarquer que l'extrait brut hydroéthanolique des racines de *P.cerasus* a montré un pourcentage d'inhibition relativement élevé de 27,62% à une faible concentration de 0,8 mg/ml. Ce pourcentage d'inhibition a augmenté significativement avec l'augmentation des concentrations atteignant respectivement 43,41% et 73,13% à 4 mg/ml et 10 mg/ml.

5.2. Effet inhibiteur des extraits bruts des pédoncules

L'effet inhibiteur de l'extrait brut aqueux et hydroéthanolique des pédoncules sur l'activité de l' α -amylase, est représenté sur les figures n°51 et 52, respectivement.

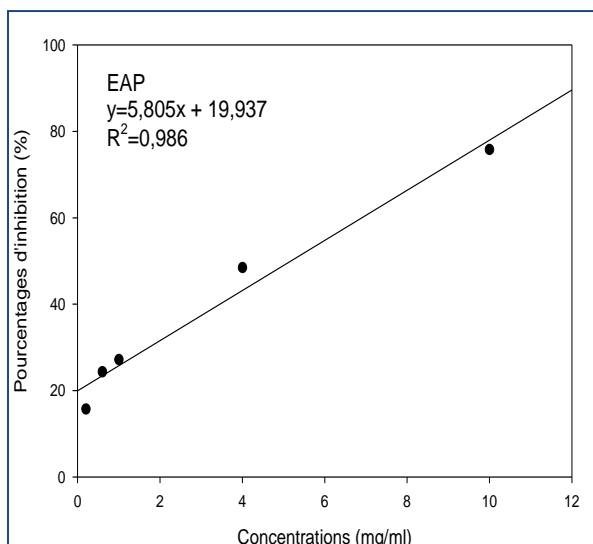


Figure n° 51 : Pourcentage d'inhibition de l' α -amylase par l'extrait aqueux des pédoncules (n=3)

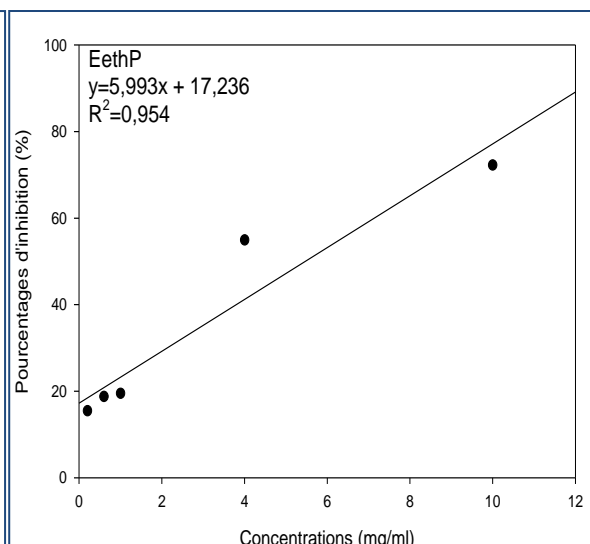


Figure n° 52 : Pourcentage d'inhibition de l' α -amylase par l'extrait hydroéthanolique des pédoncules (n=3)

Les résultats obtenus ont démontré que l'extrait brut aqueux et l'extrait brut hydroéthanolique des pédoncules de *P. cerasus* ont tous deux présenté un effet inhibiteur significatif sur l' α -amylase. À une concentration de 10 mg/ml, le pourcentage d'inhibition de l'extrait brut aqueux a atteint 75,78%, tandis que celui de l'extrait brut hydroéthanolique a atteint 72,24%, montrant ainsi un effet inhibiteur presque similaire.

5.3. Effet inhibiteur des extraits bruts des graines

Les figures n°53 et n°54, présentent l'évaluation de l'effet inhibiteur de l'extrait brut aqueux et hydroéthanolique des graines de *P. cerasus* sur l'activité de l' α -amylase.

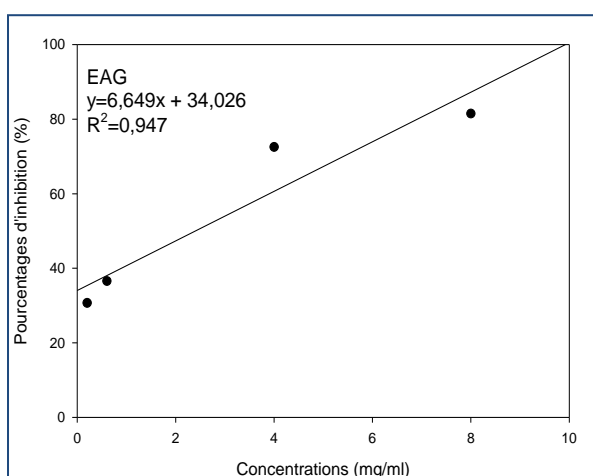


Figure n° 53 : Pourcentage d'inhibition de l' α -amylase par l'extrait aqueux des graines (n=3)

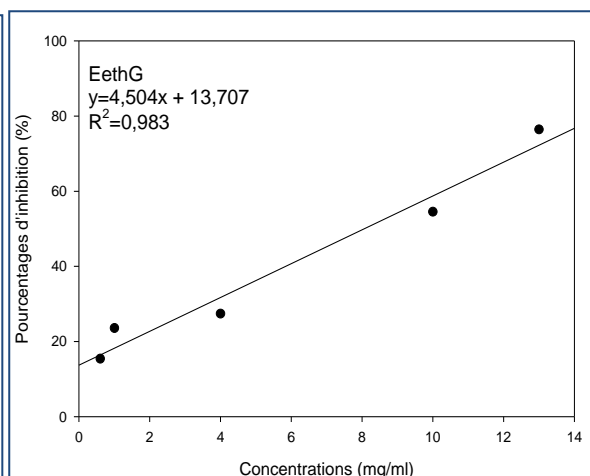


Figure n° 54 : Pourcentage d'inhibition de l' α -amylase par l'extrait hydroéthanolique des graines (n=3)

L'extrait aqueux des graines représente un effet inhibiteur important. La concentration de 0,8 mg/ml inhibe 30,67% et augmente jusqu'à 81,50% à 8 mg/ml.

Les résultats de la figure n°54, montrent que l'extrait hydroéthanolique des graines à un effet inhibiteur relativement faible (54,55%) à la plus forte concentration (10 mg/ml).

5.4. Effet inhibiteur de l'acarbose

Les pourcentages d'inhibition de l'activité de l' α -amylase en fonction de différentes concentrations de l'acarbose sont représentés par une régression logarithmique (figure n°55).

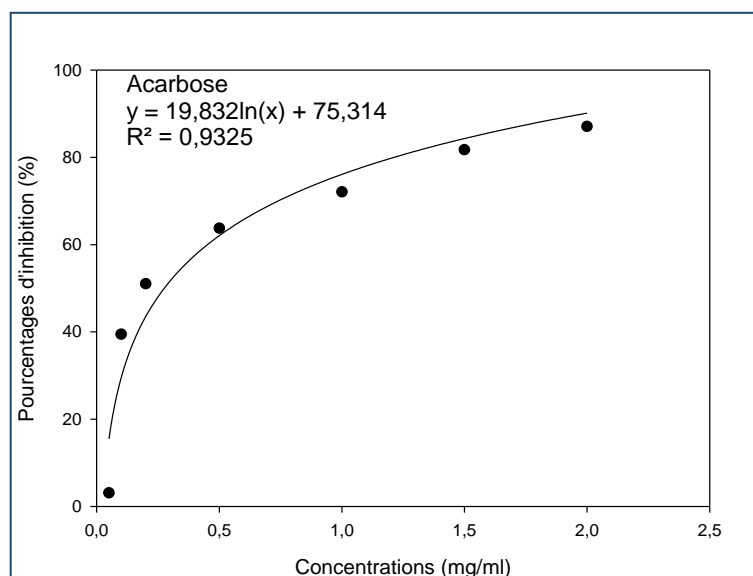


Figure n° 55 : Pourcentage d'inhibition de l' α -amylase par l'acarbose (n=3)

Les résultats ont montré que l'effet inhibiteur de l'acarbose sur l' α -amylase a augmenté de manière significative avec l'augmentation de la concentration. À une concentration de 0,05 mg/ml, le pourcentage d'inhibition était de 3,37%, mais il a augmenté considérablement à 39,49% à une concentration de 0,1 mg/ml. À une concentration de 1 mg/ml, le pourcentage d'inhibition atteint 72,74%, et a continué à augmenter jusqu'à 82,02% et 90,44% respectivement à des concentrations de 1,5 et 2 mg/ml.

5.5. Calculs des IC_{50}

Les concentrations inhibitrices à 50% (IC_{50}) sont résumées dans le tableau n°9.

Tableau n°9 : Valeurs d es IC₅₀ des différents extraits et la molécule de référence

| | Extraits des racines | | Extraits des pédoncules | | Extraits des graines | | Molécule de référence |
|------------------------|----------------------|-------------------|-------------------------|-------------------|----------------------|-------------------|-----------------------|
| | Aqueux | Hydro-éthanolique | Aqueux | Hydro-éthanolique | Aqueux | Hydro-éthanolique | Acarbose |
| IC ₅₀ mg/ml | 8,73 | 5,20 | 5,17 | 5,46 | 2,40 | 9,06 | 0,28 |

Les résultats du tableau n°9 indiquent que l'extrait aqueux des graines présente l'IC₅₀ la plus basse (2,40 mg/ml), ce qui suggère qu'il a une forte capacité d'inhibition de l'α-amylase par rapport aux autres extraits testés mais qu'elle reste toujours inférieure à celle du contrôle positif qui présente une IC₅₀ de 0,28 mg/ml. Au contraire, l'extrait hydroéthanolique des graines présente l'IC₅₀ la plus élevée (9,05mg/ml), indiquant une capacité d'inhibition plus faible. Ainsi, les deux extraits (aqueux et hydroéthanolique) des pédoncules et l'extrait hydroéthanolique des racines, présentent des IC₅₀ presque similaires (5,17 mg/ml, 5,46 mg/ml et 5,20 mg/ml, respectivement).

5.6. Classement des extraits par ordre d'efficacité

Les extraits bruts de *P. cerasus* ainsi que l'acarbose ont été classés en fonction de leurs effets inhibiteurs de l'α-amylase, en ordre croissants (Fig. n°56).

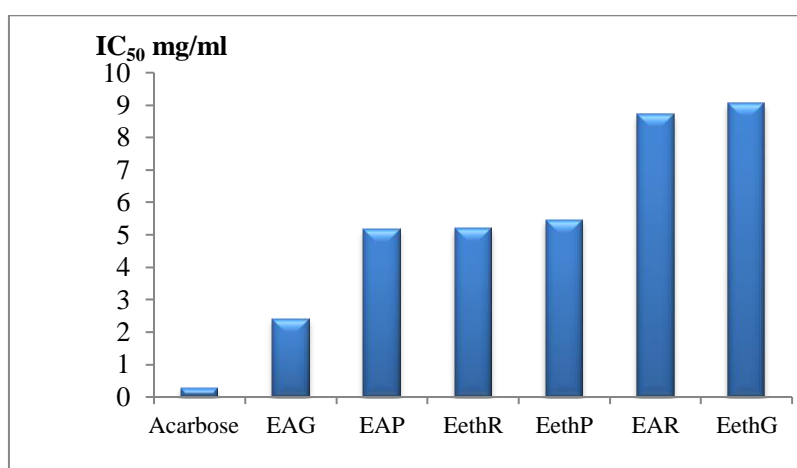


Figure n°56 : Classement des IC₅₀ des différents extraits bruts de *P. cerasus* et de l'acarbose. EAR : extrait aqueux des racines ; EethR : extrait hydroéthanolique des racines ; EAP : extrait aqueux des pédoncules ; EethP : extrait hydroéthanolique des pédoncules ; EAG : extrait aqueux des graines ; EethG : extrait hydroéthanolique des graines

D'après le classement des IC_{50} , l'acarbose présente la plus faible valeur, ce qui signifie l'activité inhibitrice la plus forte par rapport à celle des extraits bruts.

En comparant les différents extraits bruts, on peut constater que l'extrait aqueux des graines (EAG) présente la meilleure inhibition, suivi de l'extrait aqueux des pédoncules (EAP). En revanche, l'extrait hydroéthanolique des graines (EethG) présente l' IC_{50} la plus élevée, indiquant la plus faible inhibition de l' α -amylase.

6. Recherche de relation entre les teneurs en composés phénoliques et les activités biologiques étudiées

Les figures suivantes présentent les teneurs en composés phénoliques (Fig. n°57) et les concentrations inhibitrices obtenues dans cette étude (Fig. n°58) afin de déduire s'il y a une relation Teneur-Activité ou non.

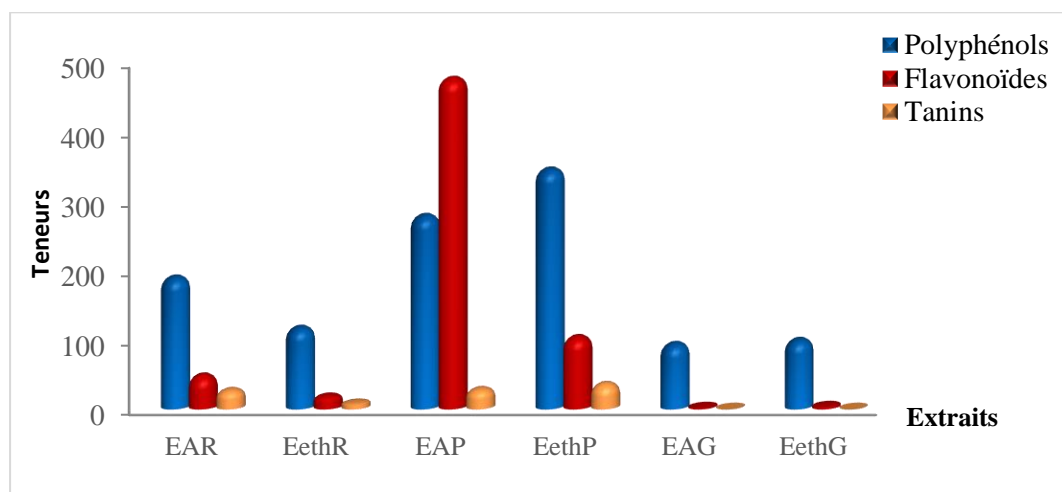


Figure n°57 : Teneurs en composés phénoliques des différents extraits bruts de *P. cerasus*. EAR : extrait aqueux des racines ; EethR : extrait hydroéthanolique des racines ; EAP : extrait aqueux des pédoncules ; EethP : extrait hydroéthanolique des pédoncules ; EAG : extrait aqueux des graines ; EethG : extrait hydroéthanolique des graines

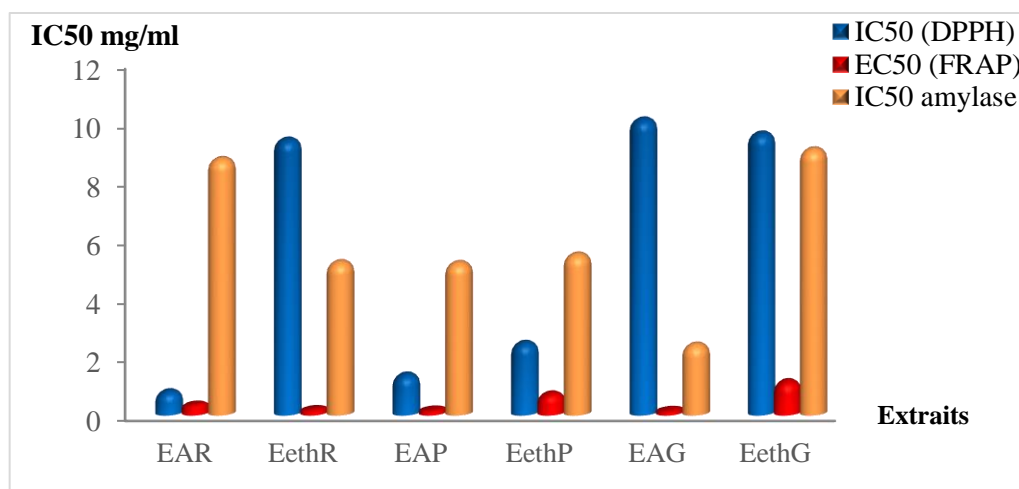


Figure n°58 : IC₅₀ et EC₅₀ des différents extraits bruts de *P. cerasus*. EAR : extrait aqueux des racines ; EethR : extrait hydroéthanolique des racines ; EAP : extrait aqueux des pédoncules ; EethP : extrait hydroéthanolique des pédoncules ; EAG : extrait aqueux des graines ; EethG : extrait hydroéthanolique des graines

En examinant la figure n°57 et la figure n°58, on constate que l'extrait brut aqueux des pédoncules (EAP) présente la plus forte teneur en flavonoïdes. Cependant, son activité vis-à-vis du DPPH[•], et de l' α -amylase n'est pas en première position. De plus, l'extrait hydroéthanolique des pédoncules (EethP) qui renferme la teneur la plus élevée en polyphénols totaux et en tanins condensés, sa capacité pour les deux activités testées est modérée par rapport aux autres extraits bruts.

Concernant les extraits aqueux et hydroéthanoliques des graines (EAG, EethG), les deux présentent des teneurs relativement faible en polyphénols totaux et en flavonoïdes et qui sont presque égales, ainsi que les tanins ont été non déterminées dans les deux extraits bruts, cependant, l'extrait aqueux des graines (EAG) présente la meilleure activité vis-à-vis de fer et l' α -amylase, par contre l'extrait hydroéthanolique des graines (EethG) présente une faible capacité dans les trois tests (DPPH[•], FRAP et α -amylase).

Aussi l'extrait aqueux des racines (EAR), qui renferme des quantités moyennes en composés phénoliques, présente une activité antioxydante très importante.

Ces différents résultats indiquent qu'il n'y a pas de corrélation entre la teneur en composés phénoliques et les activités biologiques étudiées (l'activité antioxydante et l'effet inhibiteur de l' α -amylase).

Discussion

Pendant des milliers d'années, les plantes médicinales ont été utilisées pour prévenir et traiter une variété de maladies et d'affections médicales. Avant le développement de la médecine moderne, les plantes étaient souvent la seule option de traitement disponible. De nos jours, les plantes médicinales sont encore utilisées en médecine alternative de différentes manières, notamment en infusion, en décoction, en macération, en teinture, en poudre ou également sous forme d'huiles essentielles (Miraldi & Baini, 2019).

Dans la région méditerranéenne, le genre *Prunus* est largement répandu et cultivé en raison de ses propriétés médicinales et de sa richesse en molécules bioactives variées, parmi ces espèces on trouve *P. avium*, *P. domestica*, *P. dulcis*, *P. granatum* et *P. cerasus* (González-Tejero *et al.*, 2008).

Notre objectif est de réaliser une étude phytochimique et biologique sur les extraits bruts aqueux et hydroéthanoliques de différentes parties du *P. cerasus*, notamment les racines, les pédoncules et les graines. Cette étude permettra d'évaluer la richesse en composés phénoliques tels que les polyphénols totaux, les flavonoïdes et les tanins condensés, ainsi que les propriétés antioxydants et antidiabétiques des différents extraits bruts de *P. cerasus*.

Les tests phytochimiques qualitatifs révèlent la présence des flavonoïdes, des tanins, des quinones libres et des terpénoïdes dans les extraits bruts aqueux et hydroéthanoliques des racines et des pédoncules. Cependant, l'extrait aqueux des graines ne montre aucune présence de ces composés. Du même, Joseph *et al.* (2016), ont trouvés les mêmes composés cités auparavant dans l'extrait brut aqueux et méthanolique des feuilles de *P. cerasoides* en plus des glycosides et des protéines. Ali *et al.* (2011), ont révélé la présence des flavonoïdes et des anthocyanines dans l'extrait aqueux et l'extrait méthanolique des fruits, des feuilles, des racines, des graines et des écorces de *P. cerasus*.

Les résultats du dosage indiquent que les teneurs en composés phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés) varient significativement selon le solvant utilisé. La meilleure teneur en polyphénols totaux et en tanins condensés a été obtenue par l'extrait hydroéthanoliques des pédoncules : $345,17 \pm 9,24$ mg EAG/gE et $36,16 \pm 4,64$ mg EQC/gE, respectivement. Contrairement à l'extrait aqueux des graines, qui montre la teneur la plus faible en polyphénols totaux ($94,08 \pm 2,14$ mg EAG/gE), ainsi que les tanins condensés ont été non déterminés dans cet extrait. Ce qui concerne les flavonoïdes, l'extrait aqueux des pédoncules est le plus riche en flavonoïdes avec une teneur de $475,39 \pm 1,66$ mg EQC/gE. Par ailleurs, l'étude de Prvulovic *et al.* (2011), sur l'extrait hydroacétonique des pédoncules de

différentes variétés de cerisier doux a également révélé la présence de polyphénols (12,96 à 31,85 mg EAG/gE), de tanins (6,31 à 9,77 EAG/gE) et de flavonoïdes (0,44 à 1,94 EQC/gE). Cependant, ces teneurs sont relativement faibles par rapport à nos résultats.

L'extraction des composés phénoliques peut être influencée par le solvant d'extraction. L'utilisation des solvants mixtes présentent l'avantage de favoriser l'enrichissement des extraits en polyphénols totaux, Tandis que la solubilité des flavonoïdes augmente dans l'eau (Mohammedi & Atik, 2011; Plaza *et al.*, 2014).

D'autres facteurs peuvent influencer les teneurs en composés phénoliques, telles que les facteurs extrinsèques (changements climatiques, période de récolte, parties de la plante cultivée et conditions de stockage), les facteurs intrinsèques (génétiques), ainsi que la méthode, la température et le temps d'extraction (Bourgou *et al.*, 2016 ; Falleh *et al.*, 2008 ; Kumar *et al.*, 2017).

La recherche sur les métabolites secondaires, essentiellement les composés phénoliques, a suscité un intérêt accru ces dernières années en raison de leurs excellentes propriétés antioxydantes.

Dance cette étude, les résultats de l'activité antioxydante montrent que les différentes parties du cerisier présentent une capacité antioxydante non négligeable.

Dans la méthode de « FRAP », l'extrait aqueux des graines et des pédoncules ainsi que l'extrait hydroéthanolique des racines montrent un fort pouvoir réducteur du fer avec des EC_{50} presque égale (0,17 mg/ml, 0,18 mg/ml et 0,20 mg/ml, respectivement). D'autre part, tous les extraits bruts de *P. cerasus* ont démontré une capacité variable à piéger le radical DPPH•, et l'extrait aqueux des racines s'est révélé être le plus efficace avec une IC_{50} de 0,81 mg/ml, suivie de l'extrait aqueux des pédoncules avec une IC_{50} de 1,38 mg/ml.

Des études précédentes de Özçelik *et al.* (2012), montrent que les extraits méthanoliques des pédoncules et des graines de *P. Mehalab* ont un fort pourcentage d'inhibition de radical DPPH• (73,07% et 76,34%, respectivement). Ce qui suggère que les composés phénoliques présents dans les extraits polaires soient responsables de la capacité antioxydante des extraits.

Il a été démontré que les polyphénols dans les extraits de plantes ont une activité antioxydante importante, qui est liée à leur capacité à agir en tant que donneurs des atomes d'hydrogène ou d'électrons, ainsi qu'à leur capacité à chélater les métaux (Shon, 2003).

Dans la prise en charge du diabète de type 2, une approche thérapeutique consiste à diminuer les niveaux de glucose postprandiaux par l'inhibition de l'enzyme de l' α -amylase pancréatique. Cela pourrait être fait en retardant l'absorption du glucose par l'inhibition de l'hydrolyse des glucides (Sales *et al.*, 2012). La recherche des composés naturels qui inhibent l' α -amylase avec moins ou sans d'effets secondaires devient de plus en plus recherchés.

Selon les résultats obtenus sur l'effet inhibiteur de l' α -amylase des différents extraits bruts de *P. cerasus*, nous avons remarqué que tous les extraits ont la capacité d'inhiber cette enzyme, avec des IC_{50} variables. L'extrait brut aqueux des grains montre le pouvoir inhibiteur le plus élevé, avec une IC_{50} de 2,40 mg/ml, mais il reste inférieur au témoin positif « acarbose » avec une $IC_{50} = 0,28$ mg/ml. Les deux extraits (aqueux et hydroéthanolique) des pédoncules et l'extrait hydroéthanolique des racines, présentent une activité presque similaire avec des IC_{50} de 5,17 mg/ml, 5,46 mg/ml et 5,20 mg/ml, respectivement. Cependant, l'extrait hydroéthanolique des grains montre la plus faible activité inhibitrice avec une IC_{50} de 9,06 mg/ml. Une étude menée par Shishebor *et al.* (2016), a montré que l'extrait hydroéthanolique (80%) des fruits de *P. cerasus* présente un faible effet inhibiteur sur l'activité de l' α -amylase, avec une IC_{50} de 11,71 mg/ml. Une étude postulée par Aqil *et al.* (2023), sur les fruits de différentes variétés de *P. avium* indiquant leurs forts pourcentages d'inhibition allant de 68,01% à 88,57%.

Cependant, la rareté des études précédentes sur l'activité inhibitrice de l' α -amylase de *Prunus cerasus*, rend difficile la discussion approfondie de nos résultats.

Conclusion

A l'issue de nos études, on peut conclure que les différentes parties de *P. cerasus* (racines, pédoncules et graines) ont un potentiel antioxydant et inhibiteur de l' α -amylase dû à sa richesse en molécules bioactives.

Les testes phytochimiques qualitatifs ont révélées la richesse des extraits bruts aqueux et hydroéthanoliques des racines et des pédoncules en tanins condensés, en flavonoïdes, en quinones libres et en terpénoïdes. Tandis que, ces molécules sont absentes dans l'extrait aqueux des graines.

Le dosage quantitatif montre que l'extrait hydroéthanolique des pédoncules présente la teneur la plus élevée en polyphénols et en tanins condensés ($345,17 \pm 9,24$ mg EAG/gE et $36,16 \pm 4,64$ mg EQC/gE, respectivement), et que l'extrait aqueux des pédoncules est l'extrait le plus riche en flavonoïdes avec une teneur de $475,39 \pm 1,66$ mg EQC/gE.

Concernant l'analyse biologique *in vitro*, l'extrait aqueux des racines présente une forte activité antioxydante vis-à-vis de radical DPPH[•] avec une IC₅₀ de 0,81 mg/ml, ainsi que, l'extrait aqueux des graines vis-à-vis du fer avec une EC₅₀ de 0,17 mg/ml. Ce dernier montre l'effet inhibiteur le plus puissant sur l' α -amylase par rapport aux d'autres extraits bruts avec une IC₅₀ de 2,40 mg/ml.

Les résultats de notre étude sont très encourageants tant au niveau de l'activité antioxydante et antidiabétique, qui pourrait conduire à des nouvelles substances bioactives. Cependant, des études complémentaires sont nécessaires pour la continuité de cette étude avec plus d'efficacité :

- Utilisation d'une méthode d'extraction innovante (Extraction assistée par ultrasons, par micro-ondes ou par fluide supercritique) et le changement du solvant d'extraction.
- Isolement et l'identification des principes actifs responsables de ces propriétés thérapeutiques par des techniques spectrales et chromatographique comme HPLC.
- La recherche de mécanisme d'action au niveau tissulaire et moléculaire par des études *in vivo*.
- Évaluations d'autres activités biologiques telles que, l'activité anti-inflammatoire, antibactérienne, anticancéreuses ainsi que leurs effets inhibiteurs sur d'autres enzymes digestives comme l' α -glucosidase.

Références bibliographiques

A

- Aebi, H.** (1984). Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, *105*, 121–126.
- Agarwal, P., & Gupta, R.** (2016). Alpha-amylase inhibition can treat diabetes mellitus. *Res Rev J Med Health Sci*, *5*(4), 1–8.
- Alam, M. N., Bristi, N. J., & Rafiquzzaman, M.** (2013). Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal: SPJ: The Official Publication of the Saudi Pharmaceutical Society*, *21*(2), 143–152.
- Ali, S. A., Bhatiab, A., Bhat, H. M., & Ahmad, S. F.** (2011). In vitro immunomodulatory study of different parts of *Prunus cerasus* L.(sour cherry) plant. *Asian Journal of Plant Science & Research*.
- Aouacheri, O., Saka, S., Krim, M., Messaadia, A., & Maldi, I.** (2015). The investigation of the oxidative stress-related parameters in type 2 diabetes mellitus. *Canadian Journal of Diabetes*, *39*(1), 44–49.
- Aqil, Y., Hajjaji, S. E., Belmaghraoui, W., Mourabit, Y., Taha, D., Alshahrani, M. M., Al Awadh, A. A., Bouyahya, A., Gaamoussi, I., & Bourais, I.** (2023). Phenolic profile, antioxidant, antidiabetic, and antigout potential of stem extracts of four sweet cherry cultivars. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.
- Ardestani, A., & Yazdanparast, R.** (2007). Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts. *Food Chemistry*, *104*(1), 21–29.
- Atkinson, M. A., Eisenbarth, G. S., & Michels, A. W.** (2014). Type 1 diabetes. *Lancet*, *383*(9911), 69–82.
- Atoui, A.** (2005). Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chemistry*, *89*(1), 27–36.

B

- Bayir, H., Kagan, V. E., Borisenko, G. G., Tyurina, Y. Y., Janesko, K. L., Vagni, V. A., Billiar, T. R., Williams, D. L., & Kochanek, P. M.** (2005). Enhanced oxidative stress in iNOS-deficient mice after traumatic brain injury: support for a neuroprotective role of iNOS.

Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism: Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism, 25(6), 673–684.

Belkacem, N., Djaziri, R., El-Haci, I. A., Lahfa, F., & Boucherit, K. (2010).

Antihyperglycaemic effect of hydroalcoholic extract from *Punica granatum* L. peels in normal and streptozotocin-induced diabetic rats and its potent α -amylase inhibitory. *Der Pharma Chemica*, 2(6), 416–428.

Berroukche, A., Benreguieg, M., Terras, M., Fares, S., Dellaoui, H., Lansari, W., & Dehkal. (2018). Antibacterial effects of *Prunus cerasus* and *Chamaemelum nobile* against drug resistant strains induced urinary disorders. *East African Scholars Journal of Medical Sciences*, 1(2), 26–31.

Bhat, M., Zinjarde, S. S., Bhargava, S. Y., Kumar, A. R., & Joshi, B. N. (2011).

Antidiabetic Indian plants: a good source of potent amylase inhibitors. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.

Bibi Sadeer, N., Montesano, D., Albrizio, S., Zengin, G., & Mahomoodally, M. F. (2020).

The versatility of antioxidant assays in food science and safety-chemistry, applications, strengths, and limitations. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 9(8), 709.

Bouasla, A., & Bouasla, I. (2017). Ethnobotanical survey of medicinal plants in northeastern of Algeria. *Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology*, 36, 68–81.

Bourgou, S., Beji, R. S., Medini, F., & Ksouri, R. (2016). Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes d'*Euphorbia helioscopia*. *Journal of New Sciences*.

C

Çenesiz, S. (2020). Enfektif hastalıklarda oksidan ve antioksidan parametrelerin rolü:

Sistemik Bir literatür değerlendirmesi. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*.

Cheignon, C., Tomas, M., Bonnefont-Rousselot, D., Faller, P., Hureau, C., & Collin, F.

(2018). Oxidative stress and the amyloid beta peptide in Alzheimer's disease. *Redox Biology*, 14, 450–464.

D

Dal, S., & Sigrist, S. (2016). The protective effect of antioxidants consumption on diabetes and vascular complications. *Diseases (Basel, Switzerland)*, 4(3), 24.

Dangles, O. (2020). *The antioxidant capacity of foods: Myths and reality. Cahiers de nutrition et de diététique.*

Dangles, Olivier, & Dufour, C. (2009). Flavonoid–protein binding processes and their potential impact on human health. In *Recent Advances in Polyphenol Research* (pp. 67–87). Wiley-Blackwell.

Datla, S. R., Dusting, G. J., Mori, T. A., Taylor, C. J., Croft, K. D., & Jiang, F. (2007). Induction of heme oxygenase-1 in vivo suppresses NADPH oxidase derived oxidative stress. *Hypertension*, 50(4), 636–642.

Dawidowicz, A. L., & Olszowy, M. (2010). Influence of some experimental variables and matrix components in the determination of antioxidant properties by β -carotene bleaching assay: experiments with BHT used as standard antioxidant. *European Food Research and Technology*, 231(6), 835–840.

de Souza, P. M., & de Oliveira Magalhães, P. (2010). Application of microbial α -amylase in industry - A review. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41(4), 850–861.

Djerroumi, A., & Nacef, M. (2013). *100 plantes médicinales d'Algérie.*

F

Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., & Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*, 331(5), 372–379.

Felter, S. P., Zhang, X., & Thompson, C. (2021). Butylated hydroxyanisole: Carcinogenic food additive to be avoided or harmless antioxidant important to protect food supply? *Regulatory Toxicology and Pharmacology: RTP*, 121(104887), 104887.

Ferretti, G., Bacchetti, T., Belleggia, A., & Neri, D. (2010). Cherry antioxidants: from farm to table. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 15(10), 6993–7005.

G

González-Tejero, M. R., Casares-Porcel, M., Sánchez-Rojas, C. P., Ramiro-Gutiérrez, J. M., Molero-Mesa, J., Pieroni, A., Giusti, M. E., Censorii, E., de Pasquale, C., Della, A., Paraskeva-Hadijchambi, D., Hadjichambis, A., Houmani, Z., El-Demerdash, M., El-Zayat, M., Hmamouchi, M., & Eljohrig, S. (2008). Medicinal plants in the Mediterranean area: synthesis of the results of the project Rubia. *Journal of Ethnopharmacology*, *116*(2), 341–357.

Goshtasbi, H., Pakchin, P. S., Movafeghi, A., Barar, J., Castejon, A. M., Omidian, H., & Omid, Y. (2022). Impacts of oxidants and antioxidants on the emergence and progression of Alzheimer's disease. *Neurochemistry International*, *153*(105268), 105268.

H

Han, B., Srikanth Bhagavathula, A., Rashid, M., Chhabra, M., Clark, C., Abdulazeem, H. M., Abd-ElGawad, M., Kord Varkaneh, H., Rahmani, J., & Zhang, Y. (2020). The effect of sour cherry consumption on blood pressure, IL-6, CRP, and TNF- α levels: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials sour cherry consumption and blood pressure. *Journal of King Saud University. Science*, *32*(2), 1687–1693.

Ho, E., Karimi Galougahi, K., Liu, C.-C., Bhindi, R., & Figtree, G. A. (2013). Biological markers of oxidative stress: Applications to cardiovascular research and practice. *Redox Biology*, *1*(1), 483–491.

Homoki, J. R., Nemes, A., Fazekas, E., Gyémánt, G., Balogh, P., Gál, F., Al-Asri, J., Mortier, J., Wolber, G., Babinszky, L., & Remenyik, J. (2016). Anthocyanin composition, antioxidant efficiency, and α -amylase inhibitor activity of different Hungarian sour cherry varieties (*Prunus cerasus* L.). *Food Chemistry*, *194*, 222–229.

Hooman, N., Mojab, F., Nickavar, B., & Pouryousefi-Kermani, P. (2009). Diuretic effect of powdered *Cerasus avium* (cherry) tails on healthy volunteers. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, *22*(4), 381–383.

Howatson, G., Bell, P. G., Tallent, J., Middleton, B., McHugh, M. P., & Ellis, J. (2012). Effect of tart cherry juice (*Prunus cerasus*) on melatonin levels and enhanced sleep quality. *European Journal of Nutrition*, *51*(8), 909–916.

Hummer, K. E., & Janick, J. (2009). Rosaceae: Taxonomy, Economic Importance, Genomics. In *Genetics and Genomics of Rosaceae* (pp. 1–17). Springer New York.

Hussain, T., Tan, B., Yin, Y., Blachier, F., Tossou, M. C. B., & Rahu, N. (2016). Oxidative stress and inflammation: What polyphenols can do for us? *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 7432797.

J

Janeček, Š., Svensson, B., & MacGregor, E. A. (2014). α -Amylase: an enzyme specificity found in various families of glycoside hydrolases. *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS*, 71(7), 1149–1170.

Joseph, N. T., Anjum, N., & Tripathi, Y. C. (2016). Phytochemical Screening and Evaluation of Polyphenols, Flavonoids and Antioxidant Activity of *Prunus cerasoides* D. Don Leaves. *Journal of Pharmacy Research*, 502–508.

K

Kahn, S. E., Cooper, M. E., & Del Prato, S. (2014). Pathophysiology and treatment of type 2 diabetes: perspectives on the past, present, and future. *Lancet*, 383(9922), 1068–1083.

Kalantari, H., Salimi, A., Motaharitar, E., Samimi, A., & Rezai, A. (2017). Hepatoprotective effect of microemulsion-based system of *Prunus Cerasus* kernel extract on CCL4-induced liver damage in mice. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products, In Press*(In Press).

Kalyanaraman, B. (2013). Teaching the basics of redox biology to medical and graduate students: Oxidants, antioxidants and disease mechanisms. *Redox Biology*, 1(1), 244–257.

Karabulut, H., & Gülay, M. Ş. (2016). Free Radicals. *MAKÜ Sağlık Bil. MAKÜ Sağlık Bil. Enst. Derg*, 4(1), 50–59.

Karumi, Y. (2004). Identification of Active Principles of *M. balsamina* (Balsam Apple) Leaf Extract Y. Karumi. *Journal of Medical Sciences*, 4(3), 179–182.

Kaur, N., Kumar, V., Nayak, S. K., Wadhwa, P., Kaur, P., & Sahu, S. K. (2021). Alpha-amylase as molecular target for treatment of diabetes mellitus: A comprehensive review. *Chemical Biology & Drug Design*, 98(4), 539–560.

Khan, A. M., Qureshi, R. A., Ullah, F., Gilani, S. A., Nosheen, A., Sahreen, S., & Murad. (2011). Phytochemical analysis of selected medicinal plants of Margalla Hills and surroundings. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(25), 6017–6023.

Khoo, G. M., Clausen, M. R., Pedersen, B. H., & Larsen, E. (2012). Bioactivity of sour cherry cultivars grown in Denmark: Bioactivity of sour cherry cultivars. *Phytotherapy Research: PTR*, 26(9), 1348–1351.

Kirakosyan, A., Seymour, E. M., Llanes, D. E. U., Kaufman, P. B., & Bolling, S. F. (2009). Chemical profile and antioxidant capacities of tart cherry products. *Food Chemistry*, 115(1), 20–25.

Koevi, K. K. A., Millogo, V., Ouedraogo, M., & Ouedraogo, G. A. (2015). Diagnostic des causes de complication du diabète et des méthodes de prévention à Bobo-Dioulasso, au Burkina Faso. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 8(6), 2709.

Koye, D. N., Magliano, D. J., Reid, C. M., Jepson, C., Feldman, H. I., Herman, W. H., & Shaw, J. E. (2018). Risk of progression of nonalbuminuric CKD to end-stage kidney disease in people with diabetes: The CRIC (Chronic Renal Insufficiency Cohort) study. *American Journal of Kidney Diseases: The Official Journal of the National Kidney Foundation*, 72(5), 653–661.

Krishnamurthy, P., & Wadhvani, A. (2012). Antioxidant enzymes and human health. *Antioxidant enzyme*, 1, 3-18.

Kumar, S., Yadav, A., Yadav, M., & Yadav, J. P. (2017). Effect of climate change on phytochemical diversity, total phenolic content and in vitro antioxidant activity of Aloe vera (L.) Burm.f. *BMC Research Notes*, 10(1), 60.

L

Le Phuong Nguyen, T., Fenyvesi, F., Remenyik, J., Homoki, J. R., Gogolák, P., Bácskay, I., Fehér, P., Ujhelyi, Z., Vasvári, G., Vecsernyés, M., & Váradi, J. (2018). Protective effect of pure sour cherry anthocyanin extract on cytokine-induced inflammatory caco-2 monolayers. *Nutrients*, 10(7), 861.

Lenaz, G. (2012). Mitochondria and reactive oxygen species. Which role in physiology and pathology? *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 942, 93–136.

Leskovec, J., Levart, A., Perić, L., Đukić Stojčić, M., Tomović, V., Pirman, T., Salobir, J., & Rezar, V. (2019). Antioxidative effects of supplementing linseed oil-enriched diets with α -tocopherol, ascorbic acid, selenium, or their combination on carcass and meat quality in broilers. *Poultry Science*, 98(12), 6733–6741.

M

Mahmood, N. (2016). A review of α -amylase inhibitors on weight loss and glycemic control in pathological state such as obesity and diabetes. *Comparative Clinical Pathology*, 25(6), 1253–1264.

Mailloux, R. J. (2015). Teaching the fundamentals of electron transfer reactions in mitochondria and the production and detection of reactive oxygen species. *Redox Biology*, 4, 381–398.

Marc, F., Davin, A., Deglène-Benbrahim, L., Ferrand, C., Baccaunaud, M., & Fritsch, P. (2004). Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *Medecine sciences*, 20(4), 458–463.

Marrocco, I., Altieri, F., & Peluso, I. (2017). Measurement and clinical significance of biomarkers of oxidative stress in humans. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017, 1–32.

McCarty, M. F. (2007). ' "Iatrogenic Gilbert syndrome" "--a strategy for reducing vascular and cancer risk by increasing plasma unconjugated bilirubin. *Medical Hypotheses*, 69(5), 974–994.

Miraldi, E., & Baini, G. (2019). Medicinal plants and health in human history: From empirical use to modern phytotherapy. *Journal of the Siena Academy of Sciences*, 10(1).

Mohammedi, Z., & Atik, F. (2011). Impact of solvent extraction type on total polyphénols content and biological activity from *Tamarix aphylla* (L.) Karst. *Int J Pharma Bio Sci*, 2, 609–615.

N

Newsholme, P., Cruzat, V. F., Keane, K. N., Carlessi, R., & de Bittencourt, P. I. H., Jr. (2016). Molecular mechanisms of ROS production and oxidative stress in diabetes. *The Biochemical Journal*, 473(24), 4527–4550.

O

Oloyede, O. I. (2005). Chemical profile of unripe pulp of *Carica papaya*. *Pakistan Journal of Nutrition*, 4(6), 379–381.

Özçelik, B. E. R. R. I. N., Koca, U., Kaya, D. A., & Şekeroğlu, N. A. (2012). Evaluation of the in vitro bioactivities of mahaleb cherry (*Prunus mahaleb* L.). *Romanian Biotechnological Letters*, 17(6), 7863–7872.

P

Papoutsis, K., Zhang, J., Bowyer, M. C., Brunton, N., Gibney, E. R., & Lyng, J. (2021). Fruit, vegetables, and mushrooms for the preparation of extracts with α -amylase and α -glucosidase inhibition properties: A review. *Food Chemistry*, 338(128119), 128119.

Pehlivan, F. E. (2017). Vitamin C: An antioxidant agent. *Vitamin C*, 2, 23-35.

Petersmann, A., Müller-Wieland, D., Müller, U. A., Landgraf, R., Nauck, M., Freckmann, G., Heinemann, L., & Schleicher, E. (2019). Definition, classification and diagnosis of diabetes mellitus. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*, 127(S 01), S1–S7.

Pisoschi, A. M., & Pop, A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97, 55–74.

Pisoschi, A. M., Pop, A., Iordache, F., Stanca, L., Predoi, G., & Serban, A. I. (2021). Oxidative stress mitigation by antioxidants - An overview on their chemistry and influences on health status. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 209(112891), 112891.

Plaza, M., Pozzo, T., Liu, J., Gulshan Ara, K. Z., Turner, C., & Nordberg Karlsson, E. (2014). Substituent effects on in vitro antioxidant properties, stability, and solubility in flavonoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(15), 3321–3333.

Pop-Busui, R., Boulton, A. J. M., Feldman, E. L., Bril, V., Freeman, R., Malik, R. A., Sosenko, J. M., & Ziegler, D. (2017). Diabetic neuropathy: A position statement by the American diabetes association. *Diabetes Care*, 40(1), 136–154.

Prakash, V., & Sagar, A. (2019). Alpha-amylase and urease inhibitory activity of leaf extracts of *Prunus persica* (L.) batsch. *Bulletin of Pure & Applied Sciences- Botany*, 38b(2), 74.

Prasad, A. S. (2014). Zinc is an antioxidant and anti-inflammatory agent: Its role in human health. **Prasad, A., Sedlářová, M., Balukova, A., Rác, M., & Pospíšil, P.** (2020). Reactive oxygen species as a response to wounding: In vivo imaging in *Arabidopsis thaliana*. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1660.

Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4290–4302.

Prvulovic, D., Popovic, M., Malencic, D., Ljubojevic, M., & Ognjanov, V. (2011). Phenolic compounds in sweet cherry (*Prunus avium* L.) petioles and their antioxidant properties. *Research Journal of Agricultural Science*, 43(2), 198–202.

R

Raafat, K., El-Darra, N., & Saleh, F. A. (2020). Gastroprotective and anti-inflammatory effects of *Prunus cerasus* phytochemicals and their possible mechanisms of action. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 10(4), 345–353.

Rahman, K. (2007). Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clinical Interventions in Aging*, 2(2), 219–236.

Rawshani, A., Rawshani, A., Franzén, S., Sattar, N., Eliasson, B., Svensson, A.-M., Zethelius, B., Miftaraj, M., McGuire, D. K., Rosengren, A., & Gudbjörnsdottir, S. (2018). Risk factors, mortality, and cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes. *The New England Journal of Medicine*, 379(7), 633–644.

Rebolledo, O. R., & Actis Dato, S. M. (2005). Postprandial hyperglycemia and hyperlipidemia-generated glycoxidative stress: its contribution to the pathogenesis of diabetes complications. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 9(4), 191–208.

S

Saleh, F. A., El-Darra, N., & Raafat, K. (2017). Hypoglycemic effects of *Prunus cerasus* L. pulp and seed extracts on Alloxan-Induced Diabetic Mice with histopathological evaluation. *Biomedecine & Pharmacotherapie [Biomedicine & Pharmacotherapy]*, 88, 870–877.

Salehi, B., Ata, A., Anil Kumar, N., V., Sharopov, F., Ramírez-Alarcón, K., Ruiz-Ortega, A., Abdulmajid Ayatollahi, S., Tsouh Fokou, P. V., Kobarfard, F., Amiruddin Zakaria, Z., Iriti, M., Taheri, Y., Martorell, M., Sureda, A., Setzer, W. N., Durazzo, A., Lucarini, M., Santini, A., Capasso, R., ... Sharifi-Rad, J. (2019). Antidiabetic potential of medicinal plants and their active components. *Biomolecules*, 9(10), 551.

Sales, P. M., Souza, P. M., Simeoni, L. A., & Silveira, D. (2012). α -Amylase inhibitors: a review of raw material and isolated compounds from plant source. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences: A Publication of the Canadian Society for Pharmaceutical Sciences, Societe Canadienne Des Sciences Pharmaceutiques*, 15(1), 141–183.

Sarma, A., Mallick, A. R., & Ghosh, A. K. (2010). Free Radicals and Their Role in Different Clinical Conditions: An Overview. *International Journal of Pharma Sciences and Research*, 185–192.

Schröder, K., Weissmann, N., & Brandes, R. P. (2017). Organizers and activators: Cytosolic Nox proteins impacting on vascular function. *Free Radical Biology & Medicine*, 109, 22–32.

Şeker Karatoprak, G., Yücel Aşık, Ç., Çakır, A., & Köngül Şafak, E. (2021). In vitro pharmacological screening of antioxidant, cytotoxic and enzyme inhibitory activities of *Citrus aurantifolia* Linn. Dried fruit extract. *International Journal of Environmental Health Research*, 31(8), 991–1000.

Selvarajah, D., Kar, D., Khunti, K., Davies, M. J., Scott, A. R., Walker, J., & Tesfaye, S. (2019). Diabetic peripheral neuropathy: advances in diagnosis and strategies for screening and early intervention. *The Lancet. Diabetes & Endocrinology*, 7(12), 938–948.

Shahidi, F., & Zhong, Y. (2015). Measurement of antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*, 18, 757–781.

Shalaby, E. (Ed.). (2019). *Antioxidants*. IntechOpen.

Shamsi, S. (2017). A review on sour cherry (*Prunus cerasus*): A high value Unani medicinal fruit. *International Journal of Green Pharmacy (IJGP)*, 01.

Shishehbor, F., Azemi, M. E., Zamani, D., & Saki, A. (2016). Inhibitory effects of hydroalcoholic extracts of barberry, sour cherry and Cornelian cherry on α -amylase and α -glucosidase activities. *Int. J. Pharm. Res. Allied Sci*, 5, 423–428.

Shon, M. (2003). Antioxidants and free radical scavenging activity of *Phellinus baumii* (*Phellinus* of *Hymenochaetaceae*) extracts. *Food Chemistry*, 82(4), 593–597.

Sies, H. (2018). On the history of oxidative stress: Concept and some aspects of current development. *Current Opinion in Toxicology*, 7, 122–126.

Sindhi, V., Gupta, V., Sharma, K., Bhatnagar, S., Kumari, R., & Dhaka, N. (2013). Potential applications of antioxidants – A review. *Journal of Pharmacy Research*, 7(9), 828–835.

Sleem, F. (2021). *Effet insecticide de l'extrait de graines de Piper nigrum L. (Pipeaceae) et Prunus cerasus L. (Rosaceae) contre Rhyzopertha dominica F. (Coleoptera: Bostrichidae)*. 9.

T

Tabák, A. G., Herder, C., Rathmann, W., Brunner, E. J., & Kivimäki, M. (2012). Prediabetes: a high-risk state for diabetes development. *Lancet*, 379(9833), 2279–2290. .

Tarhan, S., Ergunes, G., & Taser, O. F. (2006). SELECTION OF CHEMICAL AND THERMAL PRETREATMENT COMBINATION TO REDUCE THE DEHYDRATION TIME OF SOUR CHERRY (*Prunus cerasus* L.). *Journal of Food Process Engineering*, 29(6), 651–663.

Thalapaneni, N. R., Chidambaram, K. A., Ellappan, T., Sabapathi, M. L., & Mandal, S. C. (2008). Inhibition of carbohydrate digestive enzymes by *Talinum portulacifolium* (Forssk) leaf extract. *Journal of Complementary & Integrative Medicine*, 5(1).

Thengyai, S., Thiantongin, P., Sontimuang, C., Ovatlarnporn, C., & Puttarak, P. (2020). α -Glucosidase and α -amylase inhibitory activities of medicinal plants in Thai antidiabetic recipes and bioactive compounds from *Vitex glabrata* R. Br. stem bark. *Journal of Herbal Medicine*, 19(100302), 100302.

Topcu, G., & Gören, A. C. (2007). Biological activity of diterpenoids isolated from Anatolian Lamiaceae plants. *Records of Natural Products*, 1(1), 1.

Trinidad, E. M. M., Flores, M. A. B., Palafox, J. L. I., & Servín, L. V. (2019). *Importance of the Nutrition with Antioxidants in the Treatment of Cancer and Others Damages* (A. IntechOpen, Ed.).

V

Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., 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.

Vermerris, W., & Nicholson, R. (2007). *Phenolic compound biochemistry*. Springer Science & Business Media.

W

Wang, Y., Xu, E., Musich, P. R., & Lin, F. (2019). Mitochondrial dysfunction in neurodegenerative diseases and the potential countermeasure. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 25(7), 816–824.

Wojdyło, A., Figiel, A., Lech, K., Nowicka, P., & Oszmiański, J. (2014). Effect of convective and vacuum–microwave drying on the bioactive compounds, color, and antioxidant capacity of sour cherries. *Food and Bioprocess Technology*, 7(3), 829–841.

Wünsch, A., & Hormaza, J. I. (2002). *Euphytica; Netherlands Journal of Plant Breeding*, 125(1), 59–67.

Y

Yin, H., Xu, L., & Porter, N. A. (2011). Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis. *Chemical Reviews*, 111(10), 5944–5972.

Yıldız, E., & Çabuk, H. (2022). Determination of the synthetic antioxidants butylated hydroxyanisole (BHA) and butylated hydroxytoluene (BHT) by matrix acidity-induced switchable hydrophilicity solvent-based homogeneous liquid-liquid microextraction (MAI-SHS-HLLME) and high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection (HPLC-UV). *Analytical Letters*, 55(3), 480–494.

Yılmaz, F. M., Görgüç, A., Karaaslan, M., Vardin, H., Ersus Bilek, S., Uygun, Ö., & Bircan, C. (2019). Sour cherry by-products: Compositions, functional properties and recovery potentials - A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(22), 3549–3563.

Z

Zhang, Q., Han, Y., & Xiao, H. (2017). Microbial α -amylase: A biomolecular overview. *Process Biochemistry (Barking, London, England)*, 53, 88–101.

Site web:

Turcati, L. (2020, July 21). *Noms français pour les espèces du programme Lichens GO!* Tela Botanica. <https://www.tela-botanica.org/eflore/nom/4943>