

*République Algérienne Démocratique et Populaire*

*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de La Recherche Scientifique*



*Université Larbi Ben M'hidi Oum El Bouaghi*



*Faculté Des Sciences Exactes et des Sciences de La Nature et de la Vie*

*Département des Sciences de La Nature et de la Vie*

N °d'ordre.....

N ° de série.....

**Mémoire**

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de

**MASTER**

**Filière : Biochimie**

**Option : Biochimie appliquée**

**Thème**

***Contribution à l'étude des activités biologiques de fruits  
d'une plante de la famille des Rosacées.***

**Présenté par:**

**Bouzid Soumia**

**Khoualdi Asma**

**Mihoubi Rania**

**Devant le jury :**

**Présidente : Malki Samira**

**MCA**

**Université Oum el Bouaghi**

**Rapporteur : Boudjouref Mourad**

**MCB**

**Université Oum el Bouaghi**

**Examinatrice : Mazoz Wissem**

**MAA**

**Université Oum el Bouaghi**

**Année universitaire : 2022-2023**



## REMERCIEMENTS

Tout d'abord, nous remercions le Dieu Tout-Puissant le nombre d'atomes de l'univers dans les cieux et la terre et entre eux, il nous a aidé à surmonter toutes les difficultés qui ont fait face à nos longue carrière scolaire et nous a donné le courage et la santé pour terminer ce travail.

Nous remercions vivement notre encadrant **Monsieur Dr Boudjouraf Mourad** pour sa générosité, sa patience, son aide tout au long de ce travail.

C'est avec un grand respect que nous transmettons nos remerciements aux membres de jury **Dr Malki Samira** et **Dr Mazzouz Wissem** qui nous font l'honneur de juger ce travail.

Nous tenons également à remercier tous les enseignants qui ont suivi nos carrière universitaire sans oublier tous ceux qui nous ont aidé dans les laboratoires de l'université.

Et à la fin, nous remercions tous ceux qui nous ont aidé de près ou de loin pour réaliser ce travail.

Un grand Merci !



*Graduation*

## *Dédicace*

*Avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie je dédie ce travail*

*A mes très chers parents*

*Pour tous leurs sacrifices, leurs encouragements, leurs soutiens, leurs précieux conseils  
et leurs prières durant toute ma vie*

*Que dieu vous procure bonne santé et Longue vie*

*A l'ange de ma vie Alaa Eddine*

*A ma très chère sœur et sa petite famille.*

*A mes chers frères et ses petites familles.*

*A mes collègues qui ont partagées avec moi l'honneur de réaliser  
ce travail Rania et Asma. Et à tous ceux qui ont participé à la  
réalisation de ce travail de près ou de loin.*

*SOMMA*



je dédie ce travail  
avant tout grâce à Allah miséricordieux tout  
puissant qui m'a éclairé le chemin vers cette réussite.  
à mes chers parents.  
les supports de ma vie, amour et d'affection pour leurs  
aides et leurs soutiens.  
à mon cher conjoint pour son appui et sa  
compréhension.  
à mon cher frère et les fleurs de ma vie mes sœurs.  
à l'ange la petite fille de notre famille ayla.  
à toute ma famille  
à toutes mes amies.  
à tous ceux qui me sont chers.

*Asma*





### *Dédicace*

*A laid de dieu "ALLAH" tout puissant Qui ma trace le chemin de ma vie J'ai pu réaliser ce travail*

*A la lumière de mes yeux, au bonheur de ma vie, ma mère merci d'avoir toujours été là pour moi , de m'avoir soutenu et encourage à chaque étape de ma vie .*

*A mon papa adore, merci pour tous les sacrifices que tu as faits pour nous . Tu es un père exceptionnel et je suis fier de t'avoir comme père .*

*A mes chers frères: Midou , Hamza et oussama je vous souhaite beaucoup de réussite et de bonheur Je vous aime.*

*À mon cher mari, mon âme sœur et la chose la plus précieuse que la vie m'ait donnée, merci pour tout le soutien et les encouragements que vous m'avez donnés, et merci de vous tenir à mes côtés pour réaliser mes rêves . Je vous souhaite tout le Bonheur du monde et bonne chance.*

*A mes binome : Soumia et Assma , merci pour votre aide .*

*A mes amies : Bouchra , Khadidja , Chaima, Hanane ,merci pour les moments inoubliables passes ensemble , je t'aime .*

*Rania*



## Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

### Première partie : Etude bibliographique

Introduction générale ..... 1

#### CHAPITRE I : Présentation de la plante: *Crataegus Azarolus L*

I.1. Généralité ..... 2

I.2. Description botanique ..... 2

I. 3. Classification botaniques ..... 2

I.4. Distribution de la plante ..... 3

I.5. L'utilisation en médecine traditionnelle ..... 3

I.6. Les propriétés de la plante ..... 3

I.6.1. Les propriétés biologiques ..... 4

I.6.2. Les propriétés pharmacologiques ..... 4

I.7. La composition chimique..... 4

#### CHAPITRE II : Les Métabolites secondaires

II.1. Métabolites secondaires ..... 5

II.2. Les composés phénoliques ..... 5

I.2.1. Classification des composés phénoliques ..... 7

#### CHAPITRE III : Les Activités biologiques

I.1. Activité antioxydante..... 8

II.2. Activité anticouagulante ..... 9

## **Deuxième partie : Etude expérimentale**

### **Matériels et méthodes**

I. Matériel végétal .....	10
II. Préparation des extraits .....	10
III. Etude phytochimique des extraits .....	10
III.1. Dosage des polyphénol .....	10
III.2. Dosage des flavonoïdes .....	11
III.3. Dosage des Tanins .....	11
IV. Tests des activités biologiques .....	12
IV.1. Activité antioxydante .....	12
IV.1.1. Test de DPPH .....	12
IV.1.2. Pouvoir antioxydant réducteur du fer (FRAP).....	13
IV.2. Activité anticoagulante .....	15

### **Résultats et Discussions**

I. Rendement des extractions .....	16
II. Etude phytochimique des extraits.....	17
II.1. Dosage des polyphénol .....	17
II.2. Dosage des flavonoïdes .....	18
II.3. Dosage des Tanins.....	20
III. Tests des activités biologiques .....	21
III.1. Activité antioxydante.....	22
III.1.1 Test de DPPH .....	22

III.1.2 Pouvoir antioxydant réducteur du fer (FRAP).....	23
III.2. Activité anticoagulante.....	25
Conclusion .....	27
Références bibliographiques .....	33
Annexe	
Résumés	

## Liste des figures

Figure 1 : Les fruits de Crataegus Azarolus L .....	2
Figure 2: Les principaux groupes de composés phénoliques.....	6
Figure 3: Structure de base des flavonoïdes.....	7
Figure 4: Classification des tanins.....	7
Figure 5: Les formes libre et réduite du radical DPPH.....	12
Figure 6: Mécanisme réactionnelle intervenant lors du test Frap entre le complexe ferricyanid ferrique Fe (III) et un antioxydant (AH).....	13
Figure 7: Le rendement d'extraction de trois extraits .....	17
Figure 8: Droite d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.....	18
Figure 9: Droite d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes .....	19
Figure 10: Droite d'étalonnage de l'acide tannique pour le dosage des tanins .....	21
Figure 11: L'activité antioxydante des extraits et de témoin par la méthode de FRAP .....	23
Figure 12:.....	
Figure 13: Temps de Quick en présence des extraits comparé au contrôle négatif .....	25

## Liste des tableaux

Tableau 1 : Rendement et couleur de divers extraits de Fruit Crataegus Azarolus L.....	16
Tableau 2 : La teneur des polyphénols totaux dans la fruit de Crataegus azarolus L.....	17
Tableau 3: Teneur des flavonoids dans la fruit de crataegus azarolus.....	19
Tableau 4: La teneur en tanins condensés dans les extraits de fruit de Crataegus Azarolus L	20
Tableau 5: Valeurs des CI50 des extraits et de l'acide ascorbique .....	22
Tableau 6 : valeurs des EC50 des extraits et de témoin BHT.....	24
Tableau 7: Les résultats de dosage TQ.....	25

## **Liste des abréviations :**

**Abs** : absorbance

**AEth , AcEt** : acétat d'ethyle

**N-Hex** : n-hexane

**EtOH** : ethanol

**BHT** : Butyl Hydroxytoluène

**DPPH** :2,2- Diphényl-1- Picryl hydrazyle

**FRAP** : pouvoir antioxydant de réduction ferrique

**CI50**: concentration inhibitrice à 50%

**EC50**: concentration effective à 50%.

**TQ**: temps de quick.

**Mg**: milligramme.

**µg/ml** :microgramme par milliliter

**µg EAG/mg** :Microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait sec

**EQ**: equivalent de Qercitine

**Nm** : Nanomètre

**°C**: Degré Celsius

**Rpm**: tour par minutes

# Introduction

## Introduction

### Introduction

Les plantes étant de riches réservoirs de composés candidats qui pourraient être explorés plus avant pour la découverte de médicaments. Depuis une dizaine d'années, des efforts considérables ont été déployés pour explorer le potentiel de ces composés à des fins thérapeutiques. La recherche et le développement de médicaments chimiothérapeutiques dérivés de plantes ont conduit à l'identification d'une variété de molécules dont les rôles thérapeutiques sont facilités par divers mécanismes . Ces métabolites de produits naturels d'origine végétales ont connus pour présenter une variété d'effets pharmacologiques qui ont été discutés ( Sharma et al,2022). L'Algérie dispose d'une flore considérée plus diversifiées et plus originale du bassin méditerranéen. Cette flore compte 3 139 espèces réparties dans près de 150 familles parmi lesquelles 653 espèces sont endémiques, soit un taux d'endémisme d'environ 12,6 % (Kazi Tani et al, 2010).

Le fruit est utilisé depuis des siècles comme aliment et comme médicament dans le monde entier. L'utilisation médicinale d'extraits ou de teintures préparés à partir des feuilles et des fruits de cette plante remonte à plusieurs siècles. L'extrait d'aubépine a été confirmé par diverses études comme possédant un large éventail de propriétés pharmacologiques, telles que une action sédative une action anti-inflammatoire, un effet protecteur contre l'arythmie et une diminution de la tension artérielle et des niveaux sériques de cholestérol (Belkhir et al,2013) .

Les Chinois utilisaient l'aubépine pour traiter diverses affections, notamment les problèmes digestifs, l'hyperlipidémie, la mauvaise circulation et la dyspnée . En Europe, les fruits, les feuilles et les fleurs de l'aubépine étaient utilisés comme cardiotoniques, diurétiques et antiathérosclérotiques. Ce n'est que dans les années 1800 que l'aubépine a commencé à être utilisée pour le traitement des maladies cardiovasculaires,(Chang et al,2005).

L'objectif de ce travail de recherche consiste à l'étude phytochimique et l'évaluation des activités antioxydante et anticoagulante du fruit de la plante: *Crataegus azarolus*.

# Etude bibliographique

### 1.1. Généralités

Les espèces d'azarole (*Crataegus*) ont récemment attiré dans le domaine de l'alimentation, des nutraceutiques et de la médecine en raison de leurs effets bénéfiques sur la santé. Certaines espèces de *Crataegus* sont actuellement utilisées pour produire des médicaments dans les pharmacopées de nombreux pays, tels que la France, la Chine, l'Angleterre et l'Allemagne . L'espèce *Crataegus azarolus* (L.) est un arbre fruitier cultivé dans la région méditerranéenne, il est connu dans l'est de l'Algérie sous le nom de "Zaarour" et ses fruits frais sont consommés à l'automne. "Zaarour" et ses fruits frais sont consommés pendant la saison automnale (Belkhir et al, 2013; Boudjada et al, 2018).

### 1.2. Description botanique

*Crataegus azarolus* est un arbuste à feuilles caduques pouvant atteindre 10 m de haut. Les branches sont armées d'épines courtes et fortes. Les feuilles sont alternes, obovales et lobées ; le fruit est un pome jaune contenant 1 à 3 graines (Crivellaro ,2013).



**Figure 1:** Les fruits de *Crataegus Azarolus* L.(Boudraa,2019)

### 1.3. Classification botanique

Selon **Messaili (1995)**, l'étude taxonomique de l'Azerolier est faite comme suit :

**Règne :** Végétal

**Sous-règne :** Cormophytes (plantes à axe ou plantes vasculaires)

**Embranchement :** Spermaphytes (plantes à graines)

**Sous-embranchement :** Angiospermes (plantes à fruits)

**Classe :** Dicotylédones

**Sous-classe :** Dialypétales (Choripétales)

**Série :** Calciflores

**Ordre :** Rosales

**Famille :** Rosacées

**Tribu :** Pirées

**Genre :** Crataegus

**Espèce :** *Crataegus azarolus* L (Messaili, 1995)

#### **I.4. Distribution de la plante**

*Crataegus azarolus* L est largement répandue en Europe du Nord, dans les régions tempérées d'Asie et d'Afrique et en Amérique du Nord (Yahyaoui et al ,2019). En Algérie, l'arbre est surtout localisé dans le tell algéroconstantinois où il est connu sous le nom de 'Zaâroura'(Boudraa et al ,2010).

#### **I.5.L'utilisation en médecine traditionnelle**

*Crataegus azarolus* est une plante utilisée en médecine traditionnelle pour traiter diverses maladies; ses feuilles en infusion sont astringentes et anti diarrhéiques. Les fleurs sont indiquées contre l'insomnie, l'agitation les stress, l'angoisse les palpitations, les troubles cardiaques et nerveux (Beloued, 2005). En Turquie, diverses méthodes thérapeutiques sont utilisées pour traiter la toux, la grippe, l'asthme, les maux d'estomac, les douleurs rhumatismales, la néphrite, les hémorroïdes et les maladies cardiaques. Ces approches sont considérées comme des agents thérapeutiques et sont utilisées dans le cadre de pratiques médicales et traditionnelles en Turquie (Hany, 2017). En Algérie, les fruits et les feuilles de *C. azarolus* sont recommandées comme remède hypotenseur en raison de leur effet bénéfique sur les affections cardiaques liées à l'hypertension (Bouaziz, 2012).

#### **I.6. Les propriétés biologiques et pharmacologiques de la plante**

Les fruits de *Crataegus azarolus* contiennent de grandes quantités de composés phénoliques, qui sont utilisés comme remèdes médicinaux avec une variété d'activités biologiques comme

l'activité antitumoral, antispasmodique, cardiotonique, diurétique, hypotenseur, anti-athérosclérotique, et anti-inflammatoire. Plusieurs études ont montré que les extraits de fruits d'aubépine offrent des bienfaits effets sur le cœur et aussi sur la circulation sanguine (Alirezaluet al,2020).

Les extraits de la plante possèdent de nombreuses propriétés pharmacologiques, notamment sur le système cardiotonique, antiarythmique, hypotensive et hypolipidémique (Rosario et al, 2013). Des études pharmacologiques et toxicologiques ont démontré que la consommation des fruits de *Crataegus azarolus* est liée à des bénéfices médicinaux à long terme pour la fonction cardiovasculaire, avec peu d'effets secondaires (Zesheng et al, 2021).

### **I.7.La composition chimique**

Les fruits de *Crataegus azarolus* contiennent 4 à 11 % de sucres, principalement du fructose. La teneur en substances pectinées atteint 0,6 à 1,6 %, le tanin et les substances pigmentaires 0,8 à 1,7 %, l'acide ascorbique est compris entre 31 et 108 mg/100 g de fruits, la teneur en vitamine A est comprise entre 380 et 680 mg/g de fruits ( Dzhangaliev et al, 2002).

Selon l'étude réalisée sur la fraction glucidique de *C. azarolus* Algérien qui provient de la région de Mila, les sucres solubles sont présents avec une teneur de 9.86% de la matière sèche (Saadoudi et al, 2012) . L'analyse chimique a permis d'identifier plus de 150 molécules bioactives dans l'aubépine, dont des acides phénoliques (férulique, gallique, p-coumarique, syringique, chlorogénique, caféique), de la quercétine, pyrocatechine, phénodizine, terpénoïdes, lignanes, stéroïdes, acides organiques (fumarique,

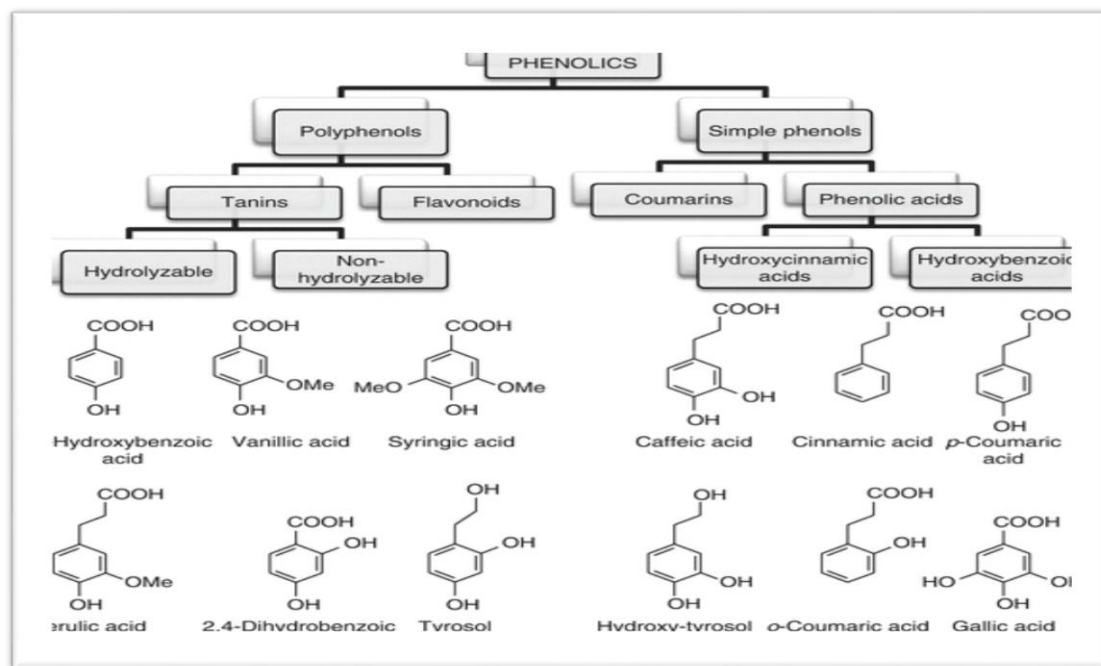
tartrique, succinique, citrique, malique) ( Nazhand et al ,2020). Les fruits, les feuilles et les fleurs de l'aubépine contiennent de nombreux de constituants chimiques, tels que les flavonoïdes (0,1 %-1 % dans les fruits, 1 %-2 % dans les feuilles et les fleurs), 9-11 proanthocyanidines oligomériques (OPC, 1 %-3 % dans les fruits ou les feuilles et fleurs), 10,12,13 acides triterpéniques (0,5 %-1,4 % dans les triterpènes (0,5 %-1,4 % dans les fruits), 3 acides organiques (2 %-6 %), 14 stéroïdes et traces d'amines cardio actives . Parmi ceux-ci, les flavonoïdes et les OPC constituent les deux principaux groupes de composants bioactifs ( Chang et al,2002).

**II.1 Les métabolites secondaires**

Les plantes possèdent des métabolites dits « secondaires » par opposition aux métabolites primaires que sont les protéines, les glucides et les lipides ( Sabrina ,2003). Les métabolites secondaires sont des molécules organiques qui ne participent pas à la croissance et au développement normaux d'un organisme (Agostini-costa et al , 2012). Ils sont probablement des éléments essentiels de la co-évolution des plantes avec les organismes vivants, tels que les parasites, les pathogènes et les prédateurs, mais aussi les pollinisateurs et les disséminateurs. Les plantes médicinales ou aromatiques typiques contiennent des concentrations plus élevées de composés bioactifs plus puissants ou de métabolites secondaires qui sont utilisés par l'humain comme produits pharmaceutiques, produits agrochimiques, additifs alimentaires et ingrédients dans les cosmétiques (Naboulsi et Aboulmouhajir, 2018). Les métabolites secondaires particuliers peuvent être communs à un certain nombre d'espèces ou n'être produits que par un seul organisme (Sell, 2003).

**II.2. Les composés phénoliques**

Avec plus de 8000 structures phénoliques connues, les composés phénoliques constituent l'une des grandes familles de molécules largement répandues dans le règne végétal . Ils regroupent un vaste ensemble de substances chimiques comprenant au moins un noyau aromatique et un ou plusieurs groupements hydroxyls ( Kabran et al, 2014). Ils correspondent à une très large gamme de structures chimiques et sont caractérisés par une répartition qualitative et quantitative très inégale selon les espèces considérées mais aussi les organes, les tissus et les stades physiologiques (Macheix, 1996).



**Figure 2:** Les principaux groupes de composés phénoliques (Goleniowski et al,2013).

### A. L'acide phénolique:

### B. Les flavonoïdes

Les acides phénoliques sont des composés polyphénoliques qui peuvent être divisés en deux principaux types, les dérivés d'acide benzoïque et l'acide cinnamique qui sont basés sur des squelettes C1–C6 et C3–C6. Les acides phénoliques ne peuvent être libérés ou hydrolysés que lors d'une hydrolyse acide ou alcaline, ou par des enzymes (Rong, 2010).

Tous les flavonoïdes dérivent de l'enchaînement benzo- $\gamma$ pyrone et peuvent être classés selon la nature des différents substituants présents sur les cycles de la molécule et du degré de saturation du squelette benzo- $\gamma$ pyrone (Ghedira, K. (2005). Les flavonoïdes jouent différents rôles dans le cycle écologique des plantes. En raison de leurs couleurs attrayantes, les flavones, les flavonols et les anthocyanidines peuvent servir comme des signaux visuels pour les insectes pollinisateurs. En raison de leur pouvoir astringent, les flavonoïdes agissent comme catalyseurs dans la phase lumineuse de la photosynthèse et/ou comme régulateurs des canaux du fer impliqués dans la phosphorylation (Pietta, 2000).

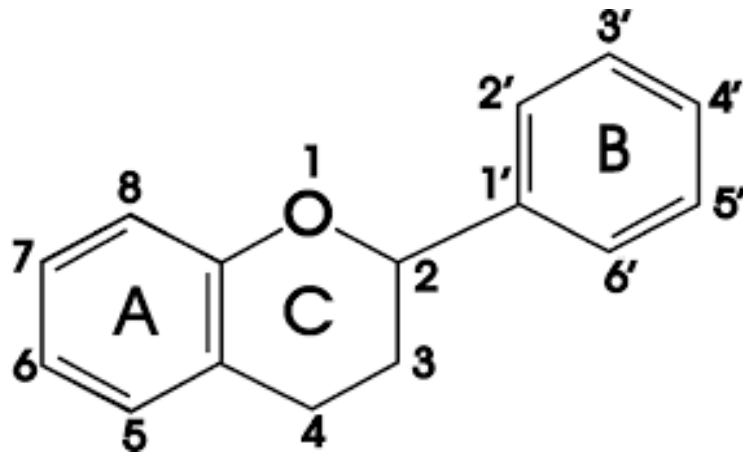
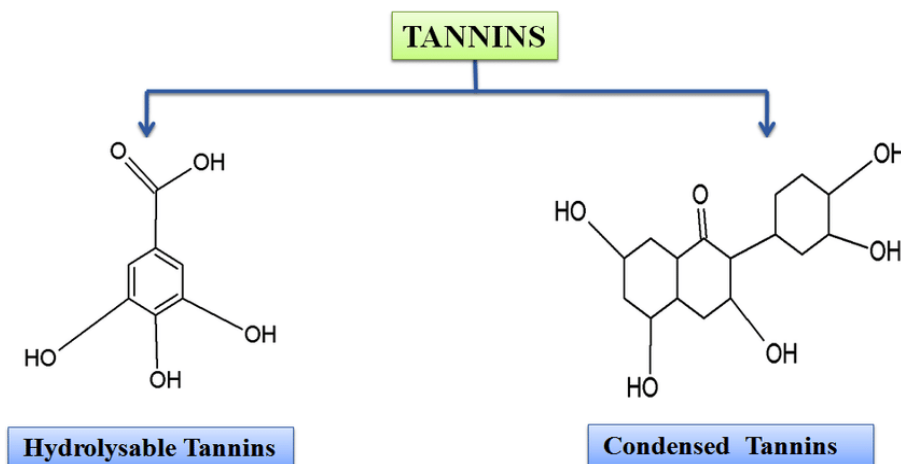


Figure 3: Structure de base des flavonoïdes (Pietta, 2000 ).

### C. Les tanins

Les tanins constituent un groupe de métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal (Wall et al,1996). Les tanins sont des composés phénoliques qui précipitent les protéines. Ils sont composés d'un groupe très diversifié d'oligomères et de polymères. Ils peuvent former des complexes avec les protéines, l'amidon, la cellulose et les minéraux. Ils sont synthétisés par la voie de l'acide shikimique, également connue sous le nom de voie des phénylpropanoïdes (Justin et al, 2014). Les tanins sont classés en deux classes. Un groupe est composé d'alcool polyhydrique hydrolysable dans lequel les groupes hydroxyle sont partiellement ou complètement estérifiés par l'acide gallique ou un type similaire de composés. L'autre groupe est composé de tanins qui sont formés par condensation de composés phénoliques. Ceux-ci sont non hydrolysables et sont appelés tanins condensés (Debosree,2015)



**Figure 4.** Classification des tanins (Debosree,2015)**I. Les activités biologiques****1. L'activité antioxydante****A. Les radicaux libres**

Un radical libre peut être défini comme toute espèce moléculaire capable d'exister de manière indépendante et contenant un électron non apparié dans une orbitale atomique. La présence d'un électron non apparié de certaines propriétés communes à la plupart des radicaux. De nombreux radicaux sont instables et très réactifs. Ils peuvent soit donner un électron à d'autres molécules, soit en accepter un électron d'autres molécules, se comportant ainsi comme des oxydants ou des réducteurs (Lobo et al, 2010). Les radicaux libres contenant de l'oxygène les plus importants dans de nombreux états pathologiques sont les suivants le radical hydroxyle, le radical anion superoxyde, le peroxyde d'hydrogène, l'oxygène singulet, l'hypochlorite, le radical oxyde nitrique et le radical peroxy nitrite (Cheeseman et al, 1993).

**B. L'oxydation**

L'oxydation est l'un des processus les plus producteurs des radicaux libres dans les aliments et les tissus vivants. Ces radicaux causent des dégradations majeures dans les macromolécules et l'acide nucléique (Bubonja-Sonje et al, 2011).

Les fruits de différentes espèces de *Crataegus* pourraient être considérés comme une source riche en antioxydants, en raison de leurs compositions phénoliques élevées et de certains composés antioxydants bien connus, hyperoside, isoquercétine, épicatechine, acide chlorogénique, quercétine, rutine et acides protocatéchiques (Alirezalu et al, 2020).

**2. L'activité anti-couagulante**

Le concept de coagulation du sang remonte aux années 1960 lorsque Davie, Ratnoff et Macfarlane ont décrit les théories de la "chute d'eau" et de la "cascade", qui décrivent le principe fondamental de la cascade de proenzymes. conduisant à l'activation des enzymes en aval (Palta et al, 2014). L'hémostase est le processus physiologique qui arrête le flux sanguin sur le site d'une blessure tout en maintenant un flux sanguin normal ailleurs dans la circulation. La perte de sang est interrompue par la formation d'un bouchon hémostatique. C'est un équilibre fin et continu de interactions complexes entre plaquettes, paroi vasculaire,

coagulation facteurs et le système fibrinolytique qui doivent toujours être maintenus. Cependant, toute variation cet équilibre peut entraîner des saignements excessifs ou une thrombose (Gale, 2010). Actuellement, les médicaments disponibles pour le traitement et la prévention de la thrombose les épisodes de bosis comprennent l'héparine de bas poids moléculaire, héparinée, antagonistes de la vitamine K (VK), pentasaccharide synthétique fondaparinux, inhibiteurs de la thrombine et inhibiteurs du FXa (Hawes, 2018 ; Kubitza et Haas, 2006). Cependant, la recherche d'anticoagulants efficaces et plus sûrs à partir de sources végétales se poursuit avec des découvertes prometteuses à signaler (Chen et al., 2014 ; Cordier & Steenkamp, 2011). L'aubépine (*Crataegus*) (C.) est l'une des plantes les plus communes qui est actuellement utilisé en médecine traditionnelle, ainsi que, sur des bancs à traiter plusieurs maladies cardiovasculaires, dont l'athérosclérose, l'hypertension sion, insuffisance cardiaque congestive, hyperlipidémie et arythmies. Toutes les parties de l'aubépine, y compris les feuilles, les fruits et les fleurs ont été étudiés pour leur potentiel thérapeutique et ont montré des résultats prometteurs avec beaucoup grâce à leur haute teneur en composés polyphénoliques qui exercent de puissants antioxydants, hypolipidémiants et anti-inflammatoires ( Shatoor et al, 2019). La détection de constituants tels comme les bioflavonoïdes et les proanthocyanidines a mis en lumière certains des effets bénéfiques de *Crataegus* sur le système de coagulation du sang. Il existe peu d'études sur l'influence de ces composés sur la thrombose ( Pawlaczyk, 2018).

# Matériel et Méthodes

## Matriels et méthodes

### I. Matériel et méthode

#### 1.Materiel Végétal

Les fruits de la plante de *Crataegus Azarolus L* ont été acheté dumarché, puis ils ont été séchés dans un endroit sec et à l'obscurité. Après le séchage, les fruits sont dénoyautés puis broyés en utilisant un broyeur pour obtenir une poudre fine .

#### II.Préparation des extraits

La méthode d'extraction que nous avons adaptés est réalisés en suivant la méthode décrite par **Sukrason et ses collaborateurs ,(2017)** dont laquelle trois solvants organiques à polarité croissante sont utilisés; il s'agit de :N-Hexane, Acétate d'éthyle et l'éthanol .

Une quantité de 50g est mis à macérer dans 500 ml de l'hexane avec agitation pendant 24 heures, à l'ombre et à température ambiante. Ensuite le mélange est filtré sur papier filtre. Les filtrats obtenus sont évaporés à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif "HEIDOLPH" à une température de 55°C.L'opération est répété une autre fois sur le marc en utilisant l'acétate d'éthyle et l'éthanol successivement, ce qui nous a permis d'obtenir trois extraits secs .

#### Détermination du rendement

Le rendement est define comme étant la quantité des composés ou substances pouvant être extraites par un solvant typique dans des conditions spécifiques (Diallo, 2005).

$$R (\%) = \frac{M_e}{M_v} \times 100 \text{ avec:}$$

R : rendement par rapport au poids de la matière végétale utilisée.

Me : poids en gramme de l'extrait sec.

Mv : poids en gramme de la poudre végétale utilisée.

### III.Etude phytochimique

#### III.1. Dosage des polyphénols

- **Principe**

Le principe de la méthode est fondé sur l'oxydation des composés phénoliques par le réactif « Folin-Ciocalteu », qui est un mélange de complexes d'acide phosphotungstique et d'acide

## Matriels et méthodes

phosphomolybdique de couleur jaune (Haddouchi et al,2016). Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif Folin-Ciocalteu en un complexe ayant une couleur bleue constitué d'oxyde de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés (Boizot et charpentier, 2006).

- **Mode Opérateur**

A un volume de 50µl d'extrait est ajouté 2,5ml de réactif de Folin-Ciocalteu (10%).Après 5min, 2ml de carbonate de sodium à 7,5% à été additionné. Le mélange est laissé réagir 90min à température ambiante, puis la lecture est faite à 765 nm. L'acide gallique (3,125-100µg/ml) est utilisé comme standard pour établir la courbe d'étalonnage. Toutes les opérations sont réalisées en duplicata. La teneur en polyphénols totaux est exprimée en microgramme d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG/mg d'extrait) ( Reyes-Becerril et al , 2019)

### III.2. Dosage des Flavonoïdes

- **Principe**

Le chlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) forme un complexe très stable avec les groupements hydroxydes (OH) des phénols. Ce complexe jaune est absorbe la lumière visible dans une longueur d'onde égale à 415nm (Chia-chi et al., 2002).

- **Mode opératoire**

La méthode du trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) ; 1ml de chaque extrait est ajouté à 1ml d'une solution d' $AlCl_3$  (2%). Après 10min d'incubation, l'absorbance est lue à 420nm. La concentration des flavonoïdes est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la quercétine (6,25-100µg/mL) .Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait (µg EQ/mg d'extrait) (Alara et al, 2020).

### III.3. Dosage des Tanins

- **Principe**

Le principe de cette méthode fondé sur la liaison du groupe aldéhydique de la vanilline au carbone 6 du catéchine .Un cycle pour former un complexe chromophore rouge qui absorbe à 500 nm ( El Kadi et al ,2022).

## Matriels et méthodes

- **Mode opératoire**

À 50 µl de chaque extrait 1,5ml de la solution de vanilline (4%) est ajouté et 1,5 ml de HCl concentré. Après 15 minutes de réaction, l'absorption est lue à 500 nm. Les concentrations des tanins sont déduites à partir de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide tannique et sont exprimées en microgramme d'équivalent d'acide tannique par milligramme d'extrait (µg EAT/mg d'extrait) ( El Kadi et *al* ,2022).

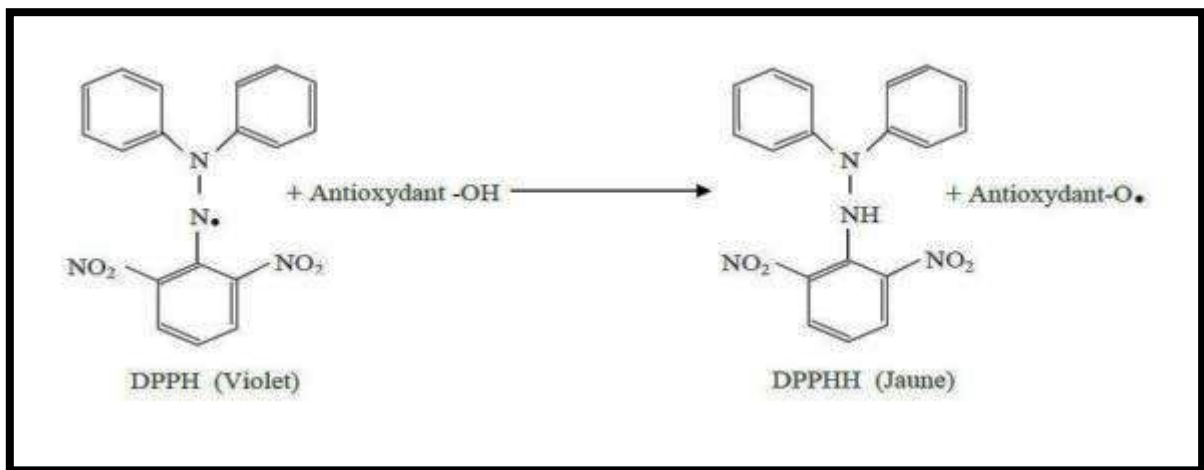
### IV.Les activités biologiques

#### IV.1.Activités antioxydants

##### IV.1.1.Test de DPPH

- **Principe**

Le méthode au **DPPH** est une méthode largement utilisée pour l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de plantes. En effet le DPPH se caractérise par sa capacité à produire des radicaux libre stable ; cette stabilité est due à la délocalisation des électrons libre au sein de la molécule.La réduction des radicaux **DPPH\*** par un agent antioxydant entraîne une décoloration de la solution (Molyneux, 2004). Le changement de couleur peut être suivie par un spectrophotometrie à 517 nm.



**Figure 5:**Les formes libre et réduite du radical DPPH (Talbi et al,2015).

- **Mode opératoire**

Un volume de 1,5 ml de solution de DPPH est mélangé avec 1,5 ml d'extraits à différentes concentrations. Le mélange obtenu est incubé pendant 30 minutes à l'abri de la lumière et à la température ambiante puis l'absorbance est mesurée à 517 nm contre le blanc correspondant. Le blanc est représenté par l'éthanol pure alors que le control est composé de 1,5 ml de la

## Matriels et méthodes

solution éthanolique de DPPH et 1,5 ml de l'éthanol le contrôle positif et représenté par une solution éthanolique d'un antioxydant standard d'Acide ascorbique .

La décroissance de l'absorbance et mesurer au spectrophotomètre l'activité anti radicalaire est estimé selon l'équation suivante :

$$\% \text{DPPH radical scavenging} = [\text{Abs controle} - \text{Abs echantient} / \text{Abs controle}] * 100$$

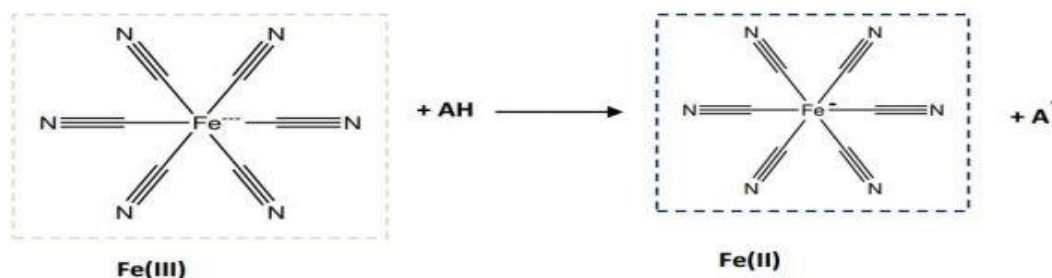
(Sukrasno et al, 2017).

### IV.1.2. Test de FRAP (pouvoir antioxydant réducteur du fer)

- **Principe**

La méthode de pouvoir antioxydant réducteur du fer (FRAP) est basée sur la réduction du fer ferrique ( $\text{Fe}^{+3}$ ) présent dans le complexe ferricyanure de potassium en fer ferreux ( $\text{Fe}^{+2}$ ) (Ou et al, 2001). La réaction est révélée par le changement de la couleur jaune du fer ferrique ( $\text{Fe}^{+3}$ ) vers la couleur bleu vert du fer ferreux ( $\text{Fe}^{+2}$ ) et le pouvoir des extraits peut-être évaluer en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu cyanée dans le milieu réactionnel à 700 nm (Chung et al ,2002).

En effet le système  $\text{FeCl}_3/\text{k}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ . Confère à la méthode la sensibilité pour la détermination semi quantitative des concentrations des antioxydants qui participent à la réaction redox (Amarowicz et al, 2004).



**Figure 6:** Mécanisme réactionnelle intervenant lors du test

Frap entre le complexe ferricyanid ferrique Fe (III) et un antioxydant (AH) (Amarowicz et al, 2004)

## Matriels et méthodes

- **Mode opératoire**

le pouvoir réducteur du fer  $Fe^{3+}$  dans les extraits est déterminé selon la méthode décrite par oyaizu (Nabila , 2012).

Un volume de 1 ml de l'extrait à différents concentrations est mélangé avec 2,5 ml d'une solution de tampon phosphate (0,2M pH= 6,6) et 2,5 ml d'une solution de ferricyanure de potassium  $K_3Fe(CN)_6$  à 1%, l'ensemble est incubé au bain-marie à 50 C° pendant 20 minutes ensuite 2,5 ml de l'acide trichloracétique TCA à 10 % sont ajoutés pour stopper la réaction puis les tubes sont centrifugés à 3000 rpm pendant 10 minutes. Après la centrifugation 2,5 ml de la phase supérieure (surnageant) sont aspirés et mélangés avec 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml d'une solution aqueuse de  $FeCl_3$  à (0,1%). La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700 nm contre un blanc qui contient tous les réactifs sauf le  $FeCl_3$ .

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard (BHT) préparé de la même manière que les échantillons et l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (Nabil, 2012)

### IV.2. Activité anticoagulante

L'activité anticoagulante des extraits a été évalué *in vitro* vis-à-vis la voie exogène de la coagulation et ceci sur un plasma pauvre en plaquettes à l'aide d'un test nommé le taux de la prothrombine (TP) ou temp de Quick (TQ) qui permet d'une exploration globale des facteurs de la voie exogène de la coagulation (Caquet, 2004).

- **Principe**

Ce test consiste à mesurer le temps de coagulation à 37 C° d'un plasma pauvre en plaquettes en présence d'un mélange de facteur tissulaire et des phospholipides (la thromboplastine) et de calcium les facteurs de la voie exogène donc sont activés et le temps qui s'écoule jusqu'à la formation du caillot et mesurer (Athukorala et al., 2007).

Un temps de coagulation allongée par rapport à celui du contrôle négatif explique que l'échantillon exerce un effet anticoagulant vis-à-vis de cette voie de coagulation (Athukorala et al., 2007).

### Préparation du plasma

Un plasma pauvre en plaquettes est préparé à partir du sang de 10 volontaires sains non traité âgé entre 24 et 26 ans. Le sang des volontaires est prélevé par ponction veineuse dans des tubes plastiques sur une solution anticoagulante de citrate de sodium à 3,8 %, le sang est ensuite centrifugé pendant 10 minutes à 2500 rpm pour obtenir un plasma pauvre en plaquettes (Athukorala et al., 2007)

## Matriels et méthodes

- **Mode opératoire**

L'effet des extraits sur la voie exogène de la coagulation a été évaluée selon le protocole décrit par Athukorala et ses collaborateurs, (2007) avec quelques modifications:

Un volume de 10  $\mu$ l d'extraits à différentes concentrations est additionné à 90 $\mu$ l du plasma standard puis le mélange est incubé à 37 C° pendant 15 minutes. Après l'incubation la coagulation a été déclenchée par l'addition de 200  $\mu$ L de thromboplastine préincubé à 37 C° durant 15 minutes (déclenchement du chronomètre) et enfin le temps qui s'écoule jusqu'à la formation du caillou fibrineux est calculé.

# Résultats et discussions

## Résultats et discussions

### Résultat et discussion

#### I. Extraction

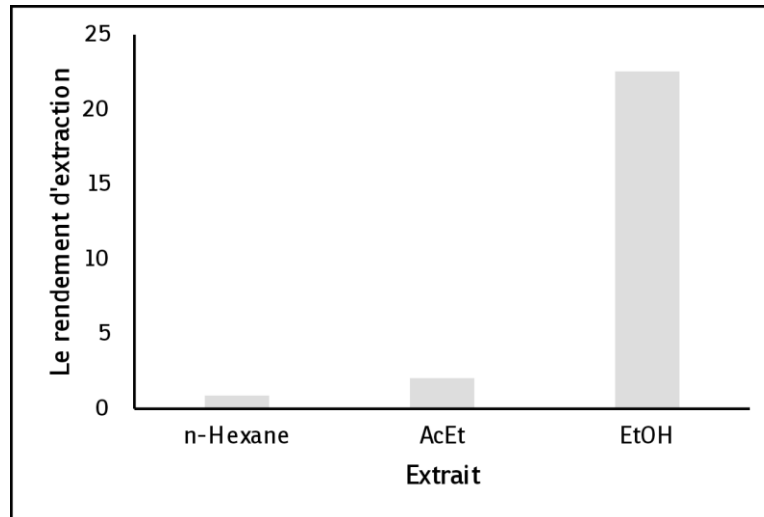
La préparation des extraits à partir de fruit de *Crataegus Azarolus* a été effectuée par des solvants à polarité croissantes permettant ainsi la séparation des composés selon leur degré de solubilité dans les solvants d'extraction il s'agit de N-Hexane, Acétate d'éthyle et l'éthanol. La raison principale pour le choix de ces substances réside dans le fait que les propriétés biologiques des plantes leur sont attribués. Cette extraction a permis d'obtenir trois extraits bruts: L'extrait n-hexane, l'extrait d'acétate d'éthyle (AcEt), l'extrait d'éthanol (EtOH).

Exprimé en pourcentage de masse d'extrait par rapport à la masse de la plante sécher, le rendement le plus élevé a été observé avec l'extrait de l'éthanol (22 ,54 % m/m), suivi par l'extrait d'acétate d'éthyle (2.04 % m/m), et enfin l'extrait N-héxane possède le plus faible rendement avec (0 ,88 % m/m).

**Tableau 1** : Rendement et couleur de diveres extraits de Fruit *Crataegus Azarolus L*

Extrait	Rendement %	Coleur
<u>n-Hexane</u>	0,88	Jaune amber
AcEt	2,04	Jaunâtre
EtOH	22,54	Marron

## Résultats et discussions



**Figure 7:** Le rendement d'extraction de trois extraits.

### II.2. Analyse quantitative

L'étude quantitative des extraits bruts de fruit *C. Azarolus L*, au moyen des dosages spectrophotométriques, avait pour objectif la détermination de la teneur des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tannins.

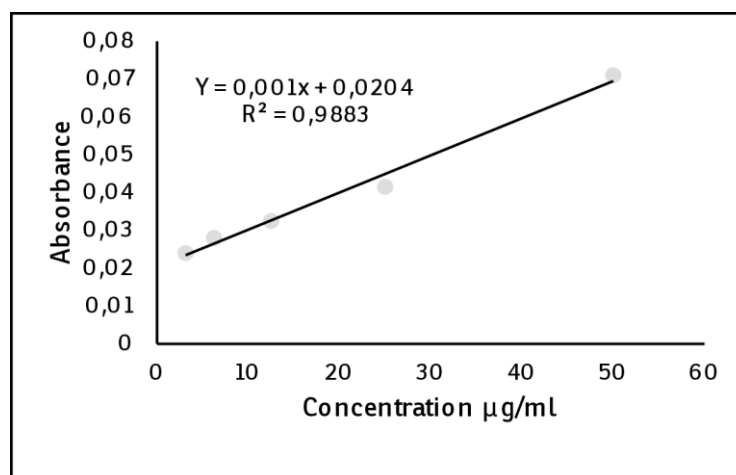
#### II.2.1 Dosage des polyphénoles

Les polyphénols totaux ont été déterminés par la méthode de Folin-Ciocalteu. L'acide gallique a été utilisé comme standard. L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 765 nm. La quantité des polyphénols a été rapportée en microgramme d'équivalent de l'acide gallique par milligramme d'extrait ( $\mu\text{g EAG}/\text{mg d'extrait}$ ).

**Tableau2 :** La teneur des polyphénols totaux dans la fruit de *Crataegus azarolus*

Extraits	Teneur en polyphenol ( $\mu\text{g EAG}/\text{mg d'extrait}$ )
N-hexane	$36,6 \pm 0.00$
Acétate d'ethyle	$20,6 \pm 0.00$
Ethanol	$21,6 \pm 0.00$

## Résultats et discussions



**Figure 8 :** Droite d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

Les résultats du dosage des polyphénols totaux montrent que l'extrait de n-hexane représente l'extrait la plus riche avec: 36,6µg EAG/mg d'extrait, suivi de l'extrait éthanolique 21,6 µg EAG/mg d'extrait. L'extrait d'acétate d'éthyle avec 20,6 µg EAG/mg d'extrait représente la fraction qui contient la plus faible teneur en polyphénols.

Dans une étude réalisée par Belkhir et ses collaborateurs ,(2013) sur l'extrait acétone-eau 70% de fruits de *Crataegus azarolus* , ils ont trouvé une teneur de polyphénols totaux égale à 2,91 mg EAG/100g.

Dans une autre étude de Yen-Ting et ses collaborateurs (2022) sur l'extrait méthanolique de fruits Taiwanais de *crataegus pinnatifida* , ils ont trouvé une teneur de polyphénols totaux dans les extraits : acétate d'éthyle représente l'extrait le plus riche avec:  $63.53 \pm 0.27$  mgEAG/g suivi de l'extrait éthanolique  $32.82 \pm 1.21$ mgEAG/g. Le n-hexane représente l'extrait la plus faible teneur en polyphénols à égale :  $12.12 \pm 0.26$  mgEAG/g .

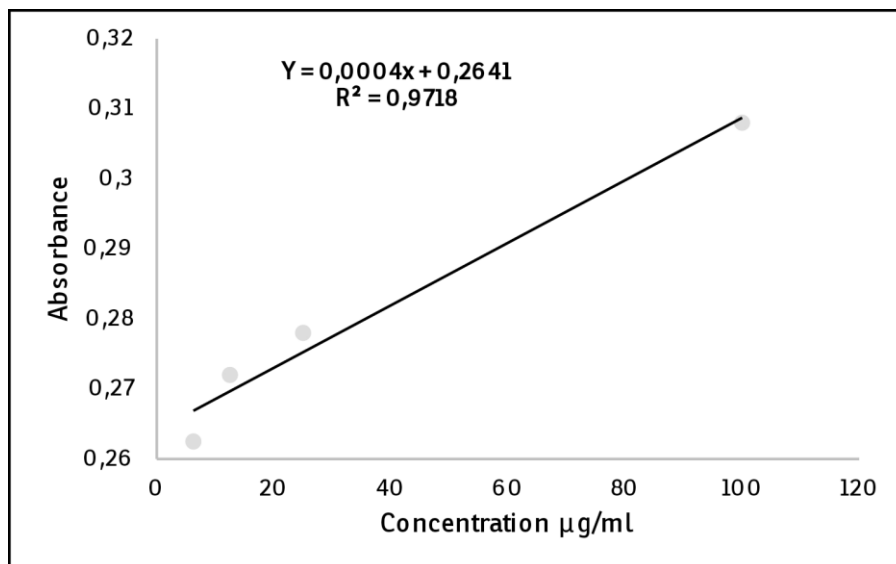
### II.2.2. Dosage de flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>), la quercétine a été utilisée comme étalon. L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 420 nm. La quantité des flavonoïdes a été rapportée en microgramme d'équivalent de la quercétine par milligramme de l'extrait (µg EQ/mg d'extrait).

## Résultats et discussions

**Tableau 3:** Teneur des flavonoids dans la fruit de *crataegus azarolus*

Extraits	Teneur en Flavonoides ( $\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait)
N-héxane	$59,75 \pm 0.001$
Acétate d'éthyle	$81 \pm 0.0005$
Ethanol	$76 \pm 0.00$



**Figure 9 :** Droite d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoids

Les résultats du dosage des flavonoides totaux montrent que l'extrait d'acétate d'éthyle représente l'extrait le plus riche avec :  $81 \mu\text{g EQ/ mg}$  d'extrait , suivi de l'extrait éthanolique  $76 \mu\text{g EQ/ mg}$  d'extrait . L'extrait de n-hexane avec  $59,75\mu\text{g EQ/ mg}$  d'extrait représente la fraction qui contient la plus faible teneur en flavonoides .

Selon l'étude de Martha Reyes-Becerril et ses collaborateurs (2019) ,qui montre la teneur en flavonoides de la fruit *crataegus Mexicana* dans des temperature différents CmNano 100 et CmNano 170 , ils ont trouvé la teneur des flavonoides dans le premier temperature égale à

## Résultats et discussions

$1.16 \pm 0.0202$  mg EQ/g dry simpl plus élevée que les résultats de la deuxième température qui égale à  $0.95 \pm 0.00$ .

Dans une autre étude de Yahyaoui, A., et ses collaborateurs (2019). Qui montre la teneur en flavonoïdes de l'extrait méthanolique du pulpe tunisienne de *C. azarolus* L. Dans trois origines (Jdidi, Neber, Thibar) Les résultats ont ( $8.42 \pm 0.40$ ,  $8.78 \pm 0.65$ ,  $1.52 \pm 0.2$ ) montré que la teneur en flavonoïdes la plus élevée a été trouvée dans l'aubépine cultivée à Neber avec,  $8.78 \pm 0.65$ , tandis que le plus bas était dans ceux cultivés à Thibar ( $1.52 \pm 0.2$ ). Par rapport à notre résultats dans l'étude qui incluse la même espèce de trois extraits différents (N-hexane, Acétate d'éthyle, Ethanol) qu'il montre que la teneur en flavonoïdes la plus élevée a été trouvée dans l'extrait de Acétate d'éthyle avec ( $81 \mu\text{g EQ/mg}$ ), puis Ethanol ( $76 \mu\text{g EQ/mg}$ ), N-Hexane ( $59,75 \mu\text{g EQ/mg}$ ).

### II.2.3. Dosage des tanins

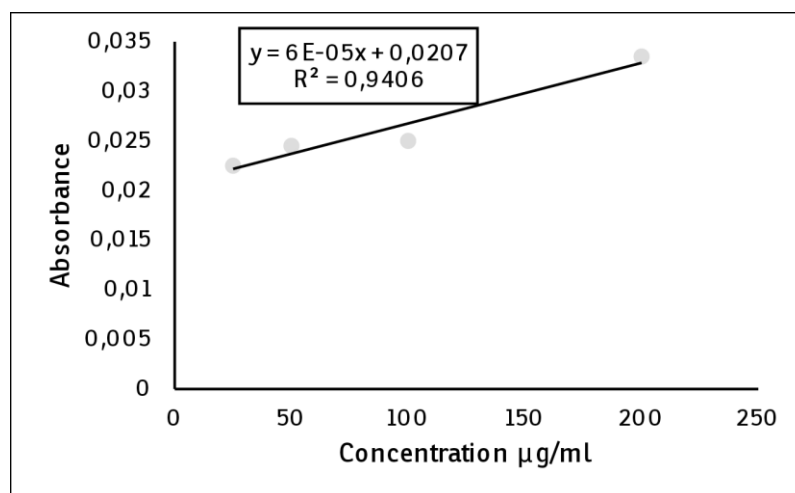
Le dosage des tanins a été réalisé selon la méthode de la vaniline. Les teneurs en tanins condensés sont déterminées, en se référant à une gamme d'étalonnage de catéchine (0 à 250  $\mu\text{g/ml}$ ). Elles sont exprimées en microgramme d'équivalent catéchine par milligramme d'extrait ( $\mu\text{g EC/mg}$  extrait). L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 500 nm.

À partir de la courbe d'étalonnage, la concentration des tanins sont reportées dans le tableau ci-dessous:

**Tableau 4** : La teneur en tanins condensés dans les extraits de fruit de *Crataegus Azarolus* L.

Extrait	( $\mu\text{g}$ Teneur en Tanins EC/mg d'extrait)
N-hexane	$46,67 \pm 0,0005$
Acétate d'éthyle	$38,33 \pm 0,002$
Ethanol	$80 \pm 0,0005$

## Résultats et discussions



**Figure 10:** Droite d'étalonnage de l'acide tannique pour le dosage des tanins.

Selon l'étude de **Yahyaoui, A., et ses collaborateurs (2019)** .Qui montre la teneur en tanins de l'extrait méthanolique du pulpe tunisienne de *C. azarolus* L. Dans trois origines (Jdidi , Neber, Thibar) Les résultats ont (  $36.08 \pm 1.62a$  ,  $67.50 \pm 1.69b$ ,  $2.02 \pm 0.18$ ) montré que la teneur en tanin condensé la plus élevée a été trouvée dans l'aubépine cultivée à Neber avec 97,17% de Poids sec, tandis que le plus bas était dans ceux cultivés à Thibar (23,70% des Ps). Par rapport a notre resultats dans l'étude qui incluse la meme espece de trois extrais différents (N-hexane, Acétate d'éthyle , Ethanol ) qu'il montre que la teneur en tanin condensé la plus élevée a été trouvée dans l'extrait de Ethanol avec ( $80 \pm 0,0005$ ) ,puis N-hexane ( $46,67 \pm 0,0005$ ) , Acétate d'éthyle ( $38,33 \pm 0,002$ ). En résulte que la teneur en tanins de l'aubépine cultivée à la région de Neber avec ( 97,17% de Ps) est plus élevé que la teneur de l'extrait éthanolique ( $80 \pm 0,0005$ ) qui est la teneur la plus élevée dans notre étude.

Dans une étude réalisée par El Kadi et ces coloborateurs ,(2022).sur l'extrait methanolique de *Crataegus oxyacantha* ils ont trouvé une teneur égale à 21.46 mg EC/g DM; cette valeur reste inférieur a celle que nous avons trouvé dans notre étude sur les extraits.

Cette différence dans les teneurs peut être expliquée par les conditions environnementales, climatiques et période de collecte ainsi que par les facteurs génétiques et les conditions expérimentales

### III.Les activités biologiques

#### III.1.Activité antioxydante

##### III.1.1. Activité Antiradicalaire DPPH

## Résultats et discussions

L'activité antioxydante des différents extraits de *Crataegus Azarolus* et a été évaluée par la méthode de piégeage du radica libre DPPH. La capacité de réduction du radical DPPH est mesurée par la diminution de l'absorbance à 517nm.

L'activité anti oxydante de nos extraits et le standard positif est exprimée en IC50 pour chaque extrait. Le tableau résume les résultats de l'activité antioxydante des extraits ainsi que le standard.

Tableau 5: Valeurs des CI50 des extraits et de l'acide ascorbique

<b>Extrait</b>	<b>CI 50 (µg/ml)</b>
<b>N-hexane</b>	2804.25 ± 86.25
<b>Acétate d'éthyle</b>	1330 ± 66.5
<b>Ethanol</b>	2883.75 ± 100.25
<b>Acide ascorbique</b>	21.13 ± 0.22

D'après les données du tableau, Nous avons constaté que l'extrait AEth représente l'extrait le plus actif avec un IC50 de l'ordre de 1330±66,5µg/ml par contre les deux autres extraits montrent une très faible activité anti oxydante avec des valeurs de l'IC50 égale à 2804,25± 86,25µg/ml et 2883,75± 100,25 µg/ml pour les extraits n- hexane et d'EtOH respectivement, l'ensemble de ces valeurs reste inférieures à celle trouvée pour l'acide ascorbique qui a montré une valeur de l' IC50 de l'ordre de 21,13 µg/ml.

Dans une étude réalisée par Kallasy et ses collaborateur (2017) sur la même espèce ; ils ont trouvé que l'extrait éthanolique était le plus actif avec une IC50 de 50± 5,20 µg/ml suivit de l'extrait methanolique (IC50 = 55± 2,886 µg/ml); Nettement la capacité antiradicalaire de nos extraits reste très faible activité par rapport à ces deux extraits.

Dans une autre étude fait par Boudjada (2018) , sur des extraits de butanol et de chloroforme leurs résultats ont montré que l'extrait butanolique présente une excellente activité antioxydante avec une IC50 de 11,11± 0,22µg/ml par rapport au standard BHT (IC50 = 22,32 ± 1,19µg/ml), par contre l'extrait chloroformique a été moins actif (IC50= 54,42± 0,77µg/ml) par rapport au standard BHT .

## Résultats et discussions

### III.1.2. Test d'activité réductrice (FRAP):

La capacité antioxydante des extraits a été également évaluée par la méthode de FRAP, dans cette méthode : en présence d'un antioxydant l'ion ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ) est réduit en ion ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ). L'activité antioxydante liée au pouvoir réducteur des extraits est exprimée en EC50 qui est définie comme étant la concentration de l'échantillon qui correspond à une absorbance égale à 0,5.

Le BHT est utilisé comme standard. Les résultats obtenues ont montré que le BHT ainsi que les trois extraits des de la plante présentent pouvoir réducteur proportionnel à la concentration des (Figure 11).

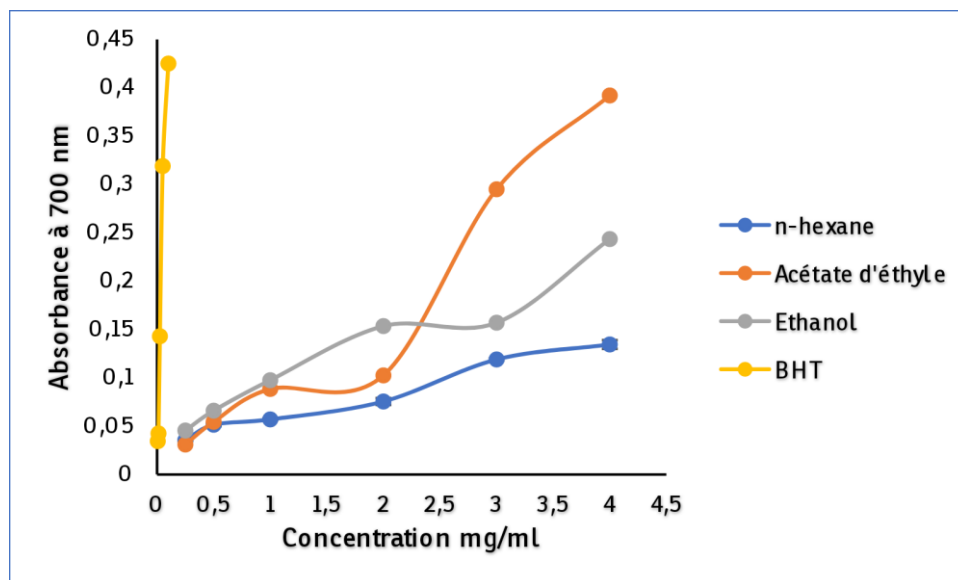
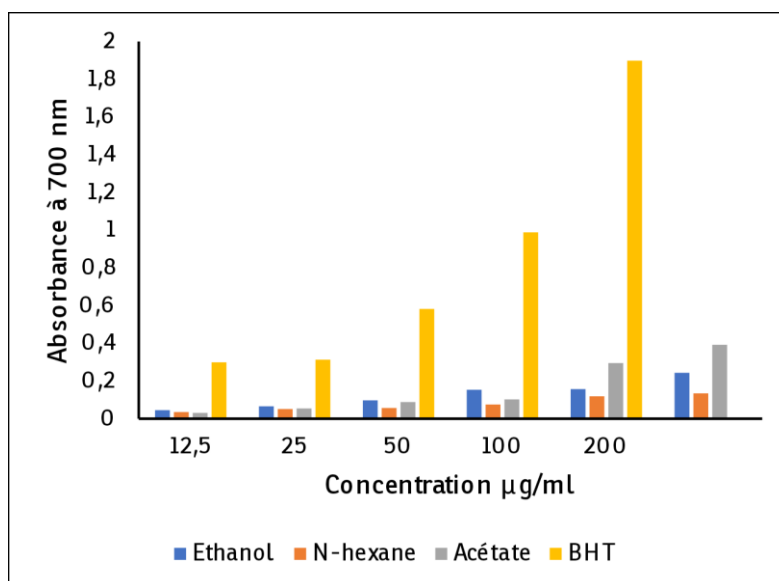


Figure 11 : L'activité antioxydante des extraits et de témoin par la méthode de FRAP.

## Résultats et discussions



A partir des résultats

obtenus, la capacité réductrice de trois extraits est très faible représentée par des absorbances maximales qui sont de  $0.130.002$ ,  $0.24 \pm 0.0018$ ,  $0.39 \pm 0.002$  pour les extraits de N-hexane, éthanol et l'acétate d'éthyle respectivement pour une concentration de  $4000 \mu\text{g/ml}$ .

D'après l'histogramme, les trois extraits ont présenté un pouvoir réducteur nettement inférieur à celui de standard BHT.

**Tableau 6** : valeurs des EC50 des extraits et de témoin BHT.

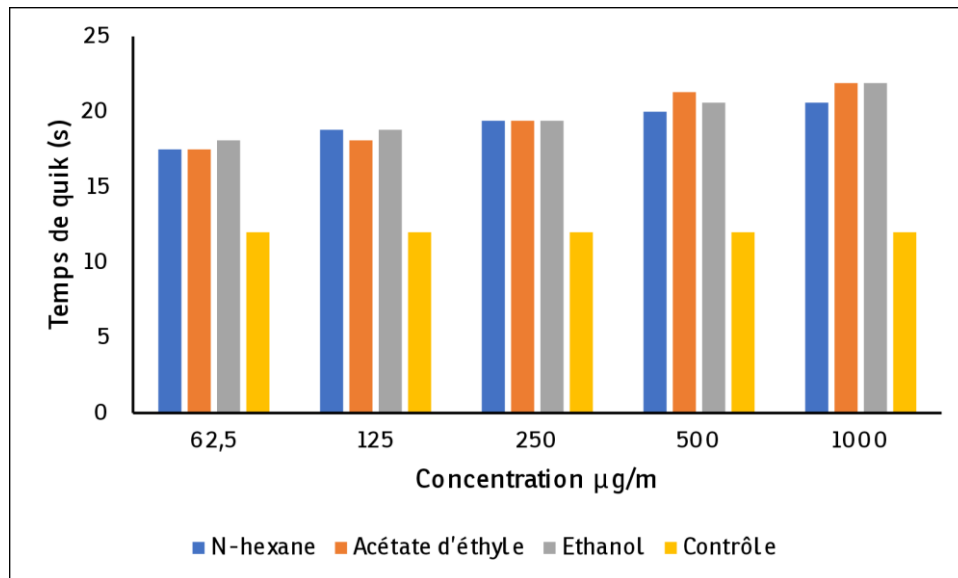
Extrait	EC 50 ( $\mu\text{g/ml}$ )
N-hexane	$929.36 \pm 0.002$
Acétate d'éthyle	$321.34 \pm 0.002$
Ethanol	$513.35 \pm 0.0018$
BHT	$11.64 \pm 0.0024$

Selon les études de Boudjada (2018), sur des extraits de chloroforme et de butanol, ils ont trouvé des valeurs de l'EC50 égales à  $96,93 \pm 2,65 \mu\text{g/ml}$  et  $42,33 \pm 0,31 \mu\text{g/ml}$  pour les deux extraits ; ces valeurs restent nettement supérieures à celles de nos extraits. La teneur en composés phénoliques d'un extrait peut refléter son potentiel antioxydant (Lee et al.2007).

## Résultats et discussions

### III.2. Activité anticoagulante

L'activité anticoagulante des extraits de *Crataegus Azarolus* a été évaluée vis-à-vis de la voie exogène *in vitro*, à l'aide d'un test chromométrique : test de taux de prothrombine (TQ), un prolongement de ce dernier par rapport au témoin, confirme une activité anticoagulante de l'extrait.



**Figure 12:** Temps de Quick en présence des extraits comparé au contrôle négatif

Les résultats obtenus sont mentionnés dans le tableau ci-dessous

**Tableau 7:** Les résultats de dosage

Concentration µg/ml	N-hexane	Acétate d'éthyle	Ethanol	Contrôle
62.5	17.5	17.5	18.1	12
125	18.8	18.1	18.8	12
250	19.4	19.4	19.4	12
500	20	21.3	20.6	12
1000	20.6	21.9	21.9	12

Les résultats de la présente étude montrent que trois extraits de la plante sont capables d'allonger significativement ( $P < 0.05$ ) le taux de prothrombine d'une manière dose dépendance.

## Résultats et discussions

A la lumière bibliographie effectué sur l'activité anticoagulante des extraits de *Crataegus Azarolus*, pas de recherche effectuée sur l'activité anticoagulante de cette plante.

# Conclusion

## Conclusion

Ce travail avait pour l'objectif d'étudier les activités antioxydante et anticoagulante de fruits de *Crataegus Azarolus L*, cette dernière est une plante d'où les fruits sont consommables dans la société Algérienne.

L'extraction réalisée sur des fruits de la plante étudiée dans ce travail a permis d'obtenir un rendement qui diffèrent en fonction des solvants utilisés alors que la teneur en composés phénoliques, flavonoïdes et tanins était conséquente.

L'activité antioxydante des différents extraits de *Crataegus Azarolus . L* à été évaluée par deux méthode : la réduction de radical libre DPPH , et la méthode de pouvoir antioxydant réducteur de fer (FRAP). Pour le premier test les résultats ont montré que l'activité antiradicalaire a été élevé pour l'extrait d'acétate d'éthyle et faible pour les deux autres extraits. Pour le test de FRAP les résultats obtenus ont été aussi remarquable pour l'extrait d'acétate d'éthyle.

L'activité anticoagulante des différents extraits a été déterminée en utilisant le test de temps de Quik, les résultats indiquent que les trois extraits sont doués d'une activité anticoagulante et plus particulièrement pour l'extrait d'éthanol.

D'autres recherches sur la plantes *Crataegus azarolus L* montre que cette dernière possède des molécules bioactives tel que les polyphénoles ,les flavonoides et les tanins. On peut l'utiliser dans plusieurs domaines : pharmaceutiques , cosmétiques ,thérapeutiques et dans l'agriculture .

L'analyse de la composition chimique des extraits par les différentes méthodes (HPLC/MS ; RMN) ont permis d'identifier les différents composés des extraits, de plus une étude in vivo est souhaitable pour obtenir une vue plus approfondie sur les activités antioxydantes et anticoagulantes des extraits de la plante.

# Références

## Listes des références

### Liste des références

- Alirezalu, A., Ahmadi, N., Salehi, P., Sonboli, A., Alirezalu, K., Mousavi Khaneghah, A., ... & Lorenzo, J. M. (2020). Physicochemical characterization, antioxidant activity, and phenolic compounds of hawthorn (*Crataegus spp.*) fruits species for potential use in food applications. *Foods*, 9(4), 436.
- Alara, O. R., Abdurahman, N. H., & Olalere, O. A. (2020). Ethanolic extraction of flavonoids, phenolics and antioxidants from *Vernonia amygdalina* leaf using two-level factorial design. *Journal of King Saud University-Science*, 32(1), 7-16.
- Amarowicz, R.; Pegg, R.; Rahimi, B.; Moghaddam, P.; Barl, B.; et Weil, J. A. (2004). Free radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food chemistry*, 84, 551-562.
- Athurkoral, Y.; Lee, K.; Kim, S. and Jeow, Y. (2007). Anticoagulant activity of marine green and brown algae collected from Jeju Island in Korea. *Chimie pharmaceutique*. 98(9):1711-1716.
- Bubonja-Sonje M, Giacometti J, Abram M. (2011). Antioxidant and antilisterial activity of olive oil, cocoa and rosemary extract polyphenols. *Food Chemistry*, 127: 1821–1827.
- Belkhir, M., Rebai, O., Dhaouadi, K., Sioud, B., Amri, M., & Fattouch, S. (2013). Antioxidant and Antimicrobial Activities of Tunisian Azarole (*Crataegus Azarolus L.*) Leaves and Fruit Pulp/Peel Polyphenolic Extracts. *International Journal of Food Properties*, 16(6), 1380–1393.
- Beloued, A. (2005). *Plantes médicinales d'Algérie*. Offices des publications universitaires. 33p
- Boizot N., and Charpentier J.P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre fustier. *Le cahier des techniques de l'Inra*. pp 79-82.
- Bouaziz, A., et al., Phytotherapy of hypertension in Setif region (Eastern Algeria). *Proceedings book. The second African congress on biology and health, Setif, Algeria, 2012*; pp. 39-42.
- Bouaziz, A.; Khennouf, S.; Abdalla, S.; Djidel, S.; Abu Zarg, M.; Bentahar, A.; Dahmana, S.; Baghiani, A. and Amira, S. (2014). Phytochemical analysis, antioxidant activity and hypotensive effect of Algerian azarol (*Crataegus Azarolus L.*) Leaves extracts *Research journal of pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences* 5(2):286-305.
- Boudraa, S., Hambaba, L., Zidani, S., & Boudraa, H. (2010). Composition minérale et vitaminique des fruits de cinq espèces sous exploitées en Algérie : *Celtis australis L.*, *Crataegus*

## Listes des références

- azarolus L., *Crataegus monogyna* Jacq., *Elaeagnus angustifolia* L. et *Zizyphus lotus* L. Fruits, 65(2), 75–84.
- Boudjada, A. (2018). Etude phytochimique de deux espèces *Crataegus azarolus* L. (Rosaceae) et *Dioscorea communis* L. (Dioscoreae). Univ Mentouri Constantine. P 139-141.
- Caquet, R. (2004). Examens de laboratoire : prescription et interprétation. 9<sup>ème</sup> Edition Mosson, Paris. P388-389.
- Chang, Q., Zuo, Z., Harrison, F., & Chow, M. S. S. (2002). Hawthorn. *The Journal of Clinical Pharmacology*, 42(6), 605–612.
- Chang, W.-T., Dao, J., & Shao, Z.-H. (2005). Hawthorn: Potential Roles in Cardiovascular Disease. *The American Journal of Chinese Medicine*, 33(01), 1–10.
- Cheeseman, K. H., & Slater, T. F. (1993). An introduction to free radical biochemistry. *British Medical Bulletin*, 49(3), 481–493.
- Chen, H., Jin, M., Wang, Y., Wang, Y., Meng, L., Li, R., ... Wei, J. (2014). Effect of *Toonamicrocar* paharms leaf extract on the coagulation system. *Bio Med Research International*, 2014, 1–7.
- Chia-chi C, Ming-Huay Y, Hwei-Mei and Jing -Chuan C. (2002). Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, (10), p178-182.
- Cordier, W., & Steenkamp, V. (2011). Herbal remedies affecting coagulation: A review. *Pharmaceutical Biology*, 50(4), 443–452.
- Crivellaro, A., & Schweingruber, F. H. (2013). Atlas of wood, bark and pith anatomy of Eastern Mediterranean trees and shrubs: with a special focus on Cyprus. Springer Science & Business Media. p 468.
- Debosree, G. (2015). Tannins from Foods to Combat Diseases. *International Journal of Pharma Research & Review*, 4(5):40-44.
- Dzhangaliev A. O., Salova T. N., Turekhannova P. M. (2002). The wild fruit and nut plants of Kazakhstan. *Horticultural Reviews, Jules Janick Kazakhstan*, 29, 317.

## Listes des références

- El Kadi F Z., Kanoun k., Bouanani F Z. Said S.,Labbaci FZ. (2022).Phytochemical profile and biological activity of the aerial parts of *Crataegus Oxyacantha* L. (Hawthorn)-A Cardiotonic Herb .*Journal of Horticulture, Forestry and Biotechnology*, 26(2): 56-62
- Haddouchi, F., Chaouche, T. M., &Halla, N. (2018). Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. *Phytothérapie*, 16(S1), S254-S262.
- Gale, A. J. (2010). Continuing education course #2:Currentunderstand- ing of hemostasis. *Toxicologic Pathology*, 39(1), 273–280
- Ghedira, K. (2005). Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytotherapie*, 3(4), 162–169.
- Goleniowski, M., Bonfill, M., Cusido, R., &Palazón, J. (2013). Phenolic Acids. *Natural Products*, 1951–1973.
- Kallassy, H. (2017). Phytochemistry and biologicalactivities of selectedLebanese plant species (*Crataegus azarolus* L. and *Ephedracampylopoda*) (Doctoral dissertation, Université de Limoges; Université Libanaise).
- Hawes, E. (2018). Patient education on oral anticoagulation. *Pharmacy*, 6(2), 34.
- Justin, N. K., Edmond, S., Ally, R. M. and Xin, H. (2014). Plant Secondary Metabolites: Biosynthesis, Classification, Function and Pharmacological Properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2 : 377-392.
- Kabran,G. R., Mamyrbekova-Bekro, J. A., Jean-Luc, P., Yves-Alain, B., Nicolas, S., Arnaud, V., Emmanuelle, M. (2014). Identification de composés phénoliques extraits de deux plantes de la pharmacopée ivoirienne. *J. Soc. Ouest-Afr. Chim* (10) 038 57-63038, 57 - 63
- Kazi Tani, Ch., Le Bourgeois T. & Munoz F.( 2010). Aspects floristiques des adventices du domaine phytogéographique oranais (Nord-Ouest algérien) et persistance d'espèces rares et endémiques. *Flora Mediterranea* (19) : 29-46.
- Kubitza, D., & Haas, S. (2006). Novel factor Xa inhibitors for preven- tion and treatment of thromboembolicdiseases. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 15(8), 843–855.

## Listes des références

- Lin, Y.-T.; Lin, H.-R.; Yang, C.-S.; Liaw, C.-C.; Sung, P.-J.; Kuo, Y.-H.; Cheng, M.-J.; Chen, J.-J ;(2022). Antioxidant and Anti- $\alpha$ -Glucosidase Activities of Various Solvent Extracts and Major Bioactive Components from the Fruits of *Crataegus pinnatifida*. *Antioxidants* , 11: 320.
- Lee,y.R; Woo,K.S; Kim,K.J; Son,J.R. and Jeong,H.S.(2007) Antioxidant activities of ethanol extracts from germinated specialty rough Rice. *Food Sci.Biotechnol.*16:765-770.
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on humanhealth. *Pharmacognosy Reviews*, 4(8), 118.
- Macheix, J.J. (1996). Les composés phénoliques des végétaux : quelles perspectives a la fin du XXème siècle ? *Acta Botanica Gallica. Botany Letters*, 143 (6) : 473-479.
- Messaili B., (1995). Botanique, Systématique des spermaphytes. OPU (Ed). Alger, 91p. Origine et réparation.
- Mira,A; Alkhiary,W. and Kuniyoshi.(2015). Antiplatelet and anticoagulant activities of Angelica shikokiana extract and its isolated compounds. *Clinical and Applied Thrombosis Hemostasis*. 12(3):6-9.
- Molyneux, P. (2004). The use of stable free radical diphenyl picryl hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Song Klana Krim J.Sci. Techno*, 26, 211-219.
- Nabila, B ; Nassima, B. (2012). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Saturya Calamintha.ssp. Nepeta L.* Briq. Nature et technologi. BP119, Telemcen 1300, Algérie.
- Naboulsi, I. & Aboulmouhajir, A. (2018). Plants extracts and secondary metabolites, their extraction methods and use in agriculture for controlling crop stresses and improving productivity. *Acad. J. Med. Plants*, 6(8) : 223–240.
- Nazhand, A., Lucarini, M., Durazzo, A., Zaccardelli, M., Cristarella, S., Souto, S. B., ... Santini, A. (2020). Hawthorn (*Crataegus spp.*):An Updated Overview on Its Beneficial Properties. *Forests*, 11(5), 564.
- Ou,B ; Hampsch-woodill,M ;et Prior,R.L.(2001). Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe . *Journal of Agricultural et food chemistry*, 49, 4619-4626.

## Listes des références

- Palta, S., Saroa, R., & Palta, A. (2014). Overview of the coagulation system. *Indian Journal of Anaesthesia*, 58(5), 515.
- Pawlaczyk-Graja, I. (2018). Polyphenolic-polysaccharide conjugates from flowers and fruits of single-seeded hawthorn (*Crataegus monogyna* Jacq.): Chemical profiles and mechanisms of anticoagulant activity. *International Journal of Biological Macromolecules*, 116, 869–879.
- Pietta P.G., 2000. Flavonoids as antioxidants. *Journal of natural products*., 63(7): 1035-1042.
- Popovici, C.; Saycova, I.; et Tylkowskib . (2010). évaluation de l'activité anti oxydant des composés phénolique par la réactivité avec le radical libre DPPH . *Revue de Génie industriel* (4), 1-8.
- Rajput, M ; Khan, R ; Qazi, N. and Zeeshan, F. (2012). Effect of Methanol Extract of Ajwain *Trachyspermum ammi* on blood coagulation in Rats. *Journal of biology*. 11(02):2-4.
- Rong Tsao . (2010). Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols . *Nutrients* , 2 : 1231-1246
- Rosario , G.M., Emmanuel, I .E & Raúl N.A. (2013). Antioxidant compounds in hawthorn fruits (*Crataegus* spp.) of Mexico Compuestos antioxidantes en frutos de tejocote (*Crataegus* spp.) de México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 84: 1298-1304 .
- S. Agostini-Costa, T. da, F., R., R., H., Silveira, D., & A., M. (2012). Secondary Metabolites. *Chromatography and Its Applications*.
- Saadoudi, M., Hamebaba, L., & Abdeddaim , M. (2012). Study of the Glucidic Fraction of *Celtis Australis* L, *Crataegus Azarolus* L, *Crataegus Monogyna* Jacq., *Elaeagnus Angustifolia* L. and *Zizyphus Lotus* L. Fruits. 06.
- Sabrina Krief. Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. Sciences du Vivant. Museum national d'histoire naturelle - MNHN PARIS, 2003. Français ; pp 17.
- Sell, C.S. (2003). Fragrant Introduction to Terpenoid Chemistry. *The Royal Society of Chemistry* (R.S.C.), p1-2.
- Sharma, A. K., & Sharma, A. (Eds.). (2022). Plant Secondary Metabolites: Physico-Chemical Properties and Therapeutic Applications. *Springer Nature*.

## Listes des références

Shatoor, A. S., Shati, A., Al Humayed, S. M., Shatoor, A. K., Alhawiti, N. M., & Alqahtani, S. A. (2019). The hypocoagulant effect of *Crataegus aronia* in rats entails vitamin K-dependent and vitamin K-independent effects. *Journal of Food Biochemistry*.

Sukrasno, S., Tuty, S., Fidrianny, I., 2017. Antioxidant evaluation and phytochemical content of various rice bran extracts of three varieties rice from Semarang, Central Java, Indonesia. *Asian J. Pharmaceut. Clin. Res.* 10, 377–382.

Talbi, H ; Boumaza, A ; El mostafa, K; Talbi, J; Hilali, A. (2015). Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico chimique des extraits méthanolique et aqueux de la nigella sativa. *J. M. ESCN.2028\_2508* 6 (4).1111\_1117.

Yahyaoui, A., Arfaoui, M. O., Rigane, G., Hkir, A., Amari, K., Ben Salem, R., & Ammari, Y. (2019). Investigation on the Chemical Composition and Antioxidant Capacity of Extracts from *Crataegus azarolus* L.: Effect of Growing Location of an Important Tunisian Medicinal Plant. *Chemistry Africa*

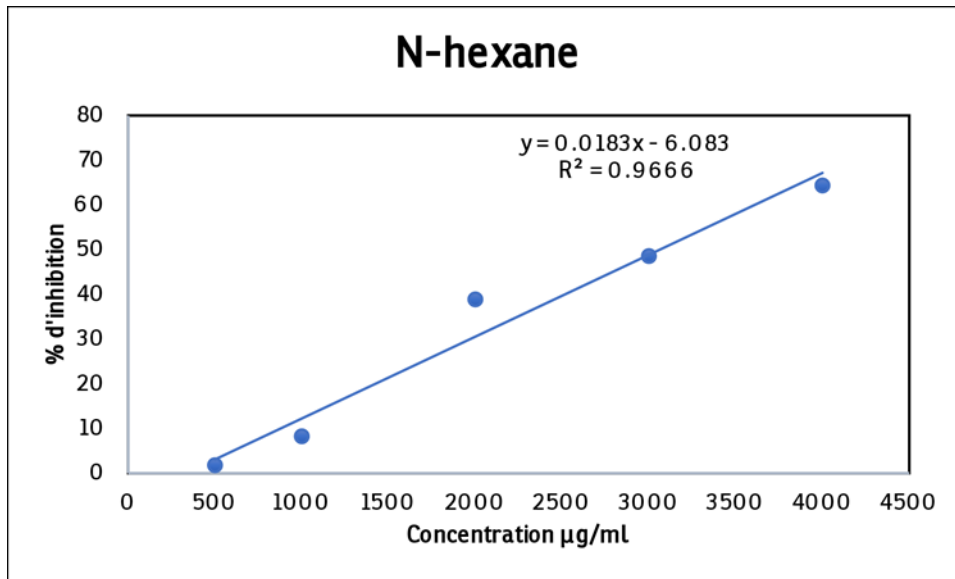
Yahyaoui, A., Arfaoui, M. O., Rigane, G., Hkir, A., Amari, K., Ben Salem, R., & Ammari, Y. (2019). Investigation on the chemical composition and antioxidant capacity of extracts from *Crataegus azarolus* L.: effect of growing location of an important Tunisian medicinal plant. *Chemistry Africa*, 2, 361-365.

Wall, M. E., Wani, M. C., Brown, D. M., Fullas, F., Olwald, J. B., Josephson, F. F., ... Kinghorn, A. D. (1996). Effect of tannins on screening of plant extracts for enzyme inhibitory activity and techniques for their removal. *Phytomedicine*, 3(3), 281–285

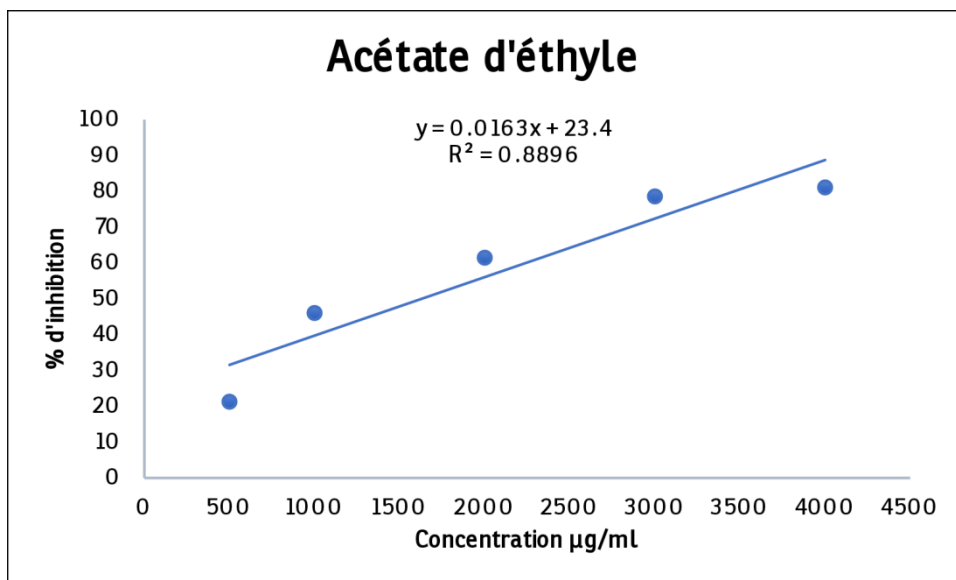
Zesheng, Z., Qi C., Min, Z., Yu, H., Walter K.K., H., Zhen-Yu, C. (2021). Characterization of antioxidants present in hawthorn fruits. *Journal of Nutritional Biochemistry* 12 : 144–152.

# Annexes

## Annexes

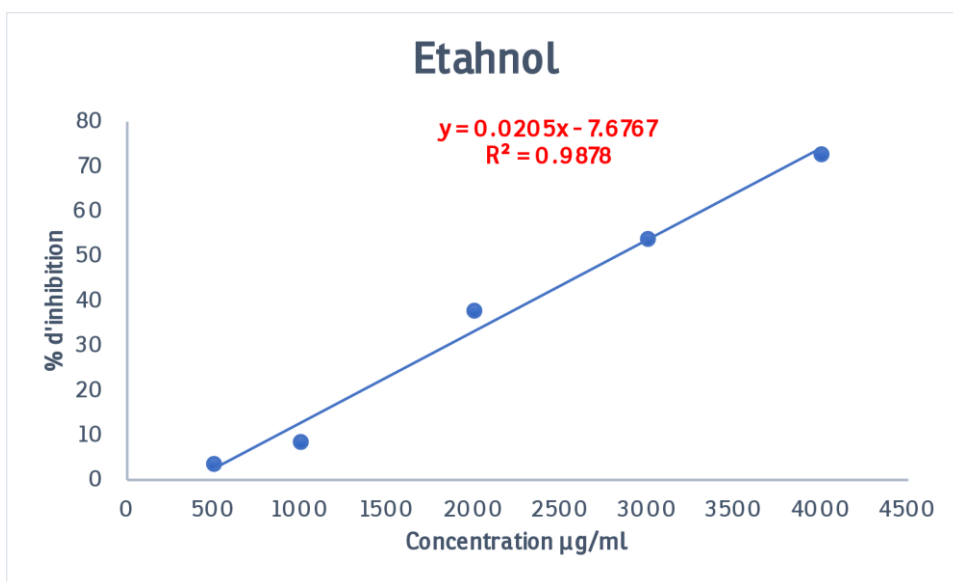


Annexes 1 : courbe d'activité antioxydante DPPH d'extrait n- hexane

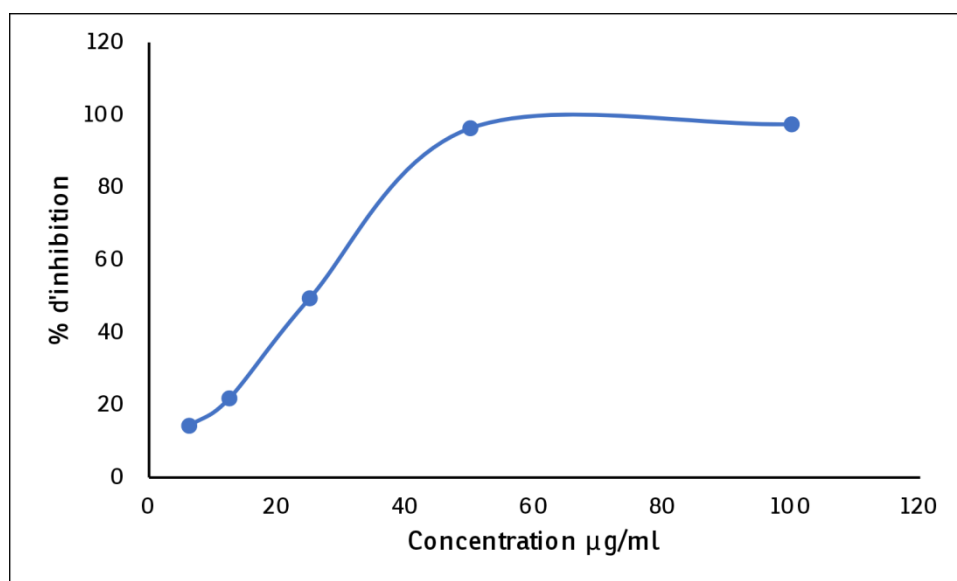


Annexes 2 : courbe d'activité antioxydante DPPH d'extrait acétate d'éthyle.

## Annexes



Annexes3 : courbe d'activité antioxydante d'extrait éthanol



Annexes 4: courbe d'étalonnage acide ascorbique pour activité antioxydante DPPH.

## Annexes

### Résultats de taux de prothrombine

- **Annexes 5 : Echantillon N° :01 (24ans Masculin )**
- TP échantillon :81,6 %      INR :1,20      Temps de couagulation :13,8S
- TP témoin négatif :81,6%      INR :1,20      Temps de couagulation :13,8S

	N-hexane		Acétate d'éthyle		Ethanol	
Dose d'extrait	Temps De couagulation(S)	TP(%) - INR	Temps De couagulation(S)	TP-INR	Temps De couagulation(S)	TP-INR
1000	19	41,1 -2,00	15	69,0 -1,40	18,1	49,7 -1,9
500	16,9	56,0 -01,7	14,4	74,8 -1,30	17,5	52,7 -1,8
250	15,6	64 -1,5	13,8	81,6 -1,20	16,9	56,0 -1,7
125	15	69 -1,40	13,8	81,6 -1,20	15,6	64 -1,5
62,5	14,4	74,8 -1,30	13,8	81,6 -1,20	14,4	74 -1,3

- **Annexes 6 : Echantillon N° : 02 (26 ans Masculin )**
- TP échantillon :100 %      INR :1,00      Temps de couagulation :12S

TP témoin négatif :100%      INR :1,00      Temps de couagulation :12S

	N-hexane		Acétate d'éthyle		Ethanol	
Dose d'extrait	Temps De couagulation(S)	TP(%) - INR	Temps De couagulation(S)	TP-INR	Temps De couagulation(S)	TP-INR
1000	18,1	49,7 - 1,9	17,5	52,7 -1,8	20	42,6 -2,2
500	17,5	52,7 -1,8	16,3	59,7 -1,5	19,4	44,7 -2,1
250	16,3	59,7 -1,5	15,6	64 -1,5	18,8	47,1 -2,0
125	15,0	69 -1,4	14,4	74,8 -1,3	18,1	49,7 -1,9
62,5	14,4	74,8 -1,3	13,1	89,9 -1,1	17,5	52,7 -1,8

## Annexes

- **Annexes 7 : Echantillon N° : 03 (24 ans Feminin )**
- TP échantillon :100 %      INR :1,00    Temps de couagulation :12S
- TP témoin négatif :100%    INR :1,00    Temps de couagulation :12S

Dose d'extrait	N-hexane		Acétate d'éthyle		Ethanol	
	Temps De couagulation(S)	TP(%) - INR	Temps De couagulation(S)	TP-INR	Temps De couagulation(S)	TP-INR
1000	21,9	37,2 - 2,5	18,8	47,1-2,0	26,3	28,8 -3,4
500	20 ,00	42,6 -2,2	18,1	49,7 -1,9	25	30,8 -3,2
250	18,8	47,1 -2,0	17,5	52,7 -1,8	24,4	31,9 -3,0
125	17,5	52,7 -1,8	16,9	56 -1,7	23,1	34,4 -2,8
62,5	16,3	59,7 -1,5	15,6	64 -1,1	21,3	38,9 -2,4

- **Annexes 8: Echantillon N° : 04 (25 ans Masculin )**
- TP échantillon :100 %      INR :1,00    Temps de couagulation :12S
- TP témoin négatif :100%    INR :1,00    Temps de couagulation :12S

Dose d'extrait	N-hexane		Acétate d'éthyle		Ethanol	
	Temps De couagulation(S)	TP(%) - INR	Temps De couagulation(S)	TP-INR	Temps De couagulation(S)	TP-INR
1000	20	42,6 - 2,2	18,8	47,1-2,0	19,4	44,7 -2,1
500	19 ,4	44,7 -2,1	18,1	49,7 -1,9	18,8	47,1 -2,00
250	18,1	49,7 -1,9	17,5	52,7 -1,8	18,1	49,7 -1,9
125	17,5	52,7 -1,8	16,9	56 -1,7	17,5	52,7 -1,8
62,5	16,3	59,7 -1,5	16,3	59,7 -1,5	16,3	59,7 -1,5

## Annexes

- **Annexes 9: Echantillon N° : 05 (24 ans Masculin )**
- TP échantillon :89,9 %      INR :1,10      Temps de couagulation :13,1S
- TP témoin négatif : 89,9 %      INR :1,10      Temps de couagulation :13,1S

Dose d'extrait	N-hexane		Acétate d'éthyle		Ethanol	
	Temps De couagulation(S)	TP(%) - INR	Temps De couagulation(S)	TP-INR	Temps De couagulation(S)	TP-INR
1000	20,6	40,6 - 2,3	21,9	37,2-2,5	21,9	37,2 -2,5
500	20	42,6 -2,2	21,3	38,9 -2,4	20,6	40,6 -2,3
250	19,4	44,7 -2,1	19,4	44,7 -2,1	19,4	44,7 -2,1
125	18,8	47,1 -2,00	18,1	49,7 -1,9	18,8	47,1 -2,00
62,5	17,5	52,7 -1,8	17,5	52,7 -1,8	18,1	49,7 -1,9

### Annexes 10: Echantillon N° : 06 (25 ans Féminin )

- TP échantillon :100 %      INR :1,00      Temps de couagulation :12S
- TP témoin négatif : 100 %      INR :1,00      Temps de couagulation :12S

Dose d'extrait	N-hexane		Acétate d'éthyle		Ethanol	
	Temps De couagulation(S)	TP(%) - INR	Temps De couagulation(S)	TP-INR	Temps De couagulation(S)	TP-INR
1000	19,4	44,7 - 2,1	18,1	49,7-1,9	22,5	35,7 -2,7
500	18,1	49,7 -1,9	17,5	52,7 -1,8	21,3	40,6 -2,3
250	17,5	52,7 -1,8	16,3	59,7 -1,5	20	42,6 -2,2
125	16,3	59,7 -1,5	15,6	64 -1,5	18,8	47,1 -2,00
62,5	15,6	64 -1,5	15	69 -1,4	18,1	49,7 -1,9

## Annexes

- **Annexes 11: Echantillon N° : 07 (26 ans Féminin )**
- TP échantillon :89,9 %      INR :1,10    Temps de couagulation :13,1S
- TP témoin négatif : 89,9 %      INR :1,10    Temps de couagulation :13,1S

Dose d'extrait	N-hexane		Acétate d'éthyle		Ethanol	
	Temps De couagulation(S)	TP(%) - INR	Temps De couagulation(S)	TP-INR	Temps De couagulation(S)	TP-INR
1000	20,00	42,6 - 2,2	21,3	38,9-2,4	22,5	35,7 -2,7
500	18,8	47,1 -2,0	20,0	42,6 -2,2	21,9	37,2 -2,5
250	17,5	52,7 -1,8	19,4	44,7 -2,1	20,0	42,6 -2,2
125	16,9	56 -1,7	18,1	49,7 -1,9	18,8	47,1-2,0
62,5	15,6	64 -1,5	16,9	56 -1,7	17,5	52,7 -1,8

- **Annexes 12 : Echantillon N° : 08 (25 ans Masculin )**
- TP échantillon :100 %      INR :1,00    Temps de couagulation :12S
- TP témoin négatif : 100 %      INR :1,00    Temps de couagulation :12S

Dose d'extrait	N-hexane		Acétate d'éthyle		Ethanol	
	Temps De couagulation(S)	TP(%) - INR	Temps De couagulation(S)	TP-INR	Temps De couagulation(S)	TP-INR
1000	18,8	47,1 -2,0	17,5	52,7 - 1,8	25	30,8 -3,2
500	17,5	52,7 -1,8	16,9	56 - 1,7	23,1	34,4 -2,8
250	16,9	56 -1,7	16,3	59,7 - 1,5	21,9	37,2 - 2,5
125	15,6	64 -1,5	15	69 -1,4	20	42,6 - 2,2
62,5	15	69 -1,4	14,4	74,8 -1,3	18,8	47,1 - 2,0

## Annexes

- **Annexes 13 : Echantillon N° : 09 (25,5 ans Masculin )**
- TP échantillon :100 %      INR :1,00    Temps de couagulation :12S
- TP témoin négatif : 100 %      INR :1,00    Temps de couagulation :12S

Dose d'extrait	N-hexane		Acétate d'éthyle		Ethanol	
	Temps De couagu lation( S)	TP(%) - INR	Temps De couagula tion(S)	TP-INR	Temps De couagu lation( S)	TP-INR
<b>1000</b>	<b>20,0</b>	<b>42,6 -2,2</b>	<b>18,8</b>	<b>47,1 - 2,0</b>	<b>19,4</b>	<b>44,7 - 2,1</b>
<b>500</b>	<b>18,8</b>	<b>47,1 - 2,0</b>	<b>18,1</b>	<b>49,7 - 1,9</b>	<b>18,8</b>	<b>47,1 - 2</b>
<b>250</b>	<b>17,5</b>	<b>52,7 -1,8</b>	<b>17,5</b>	<b>52,7 - 1,8</b>	<b>18,1</b>	<b>49,7 - 1,9</b>
<b>125</b>	<b>16,9</b>	<b>56 -1,7</b>	<b>16,3</b>	<b>59,7 - 1,5</b>	<b>17,5</b>	<b>52,7 - 1,8</b>
<b>62,5</b>	<b>15,6</b>	<b>64 -1,5</b>	<b>15,6</b>	<b>64 - 1,5</b>	<b>16,3</b>	<b>59,7 - 1,5</b>

## Annexes

- **Annexes 14 : Echantillon N° : 10 (24 ans Féminin )**
- TP échantillon :100 %      INR :1,00    Temps de couagulation :12S
- TP témoin négatif : 100 %      INR :1,00    Temps de couagulation

Dose d'extrait	N-hexane		Acétate d'éthyle		Ethanol	
	Temps De couagulation(S)	TP(%) - INR	Temps De couagulation(S)	TP-INR	Temps De couagulation(S)	TP-INR
<b>1000</b>	<b>19,4</b>	<b>44,7 - 2,1</b>	<b>18,8</b>	<b>47,1 - 2,0</b>	<b>22,5</b>	<b>35,7 - 2,7</b>
<b>500</b>	<b>18,8</b>	<b>47,1 - 2,0</b>	<b>17,5</b>	<b>52,7 - 1,8</b>	<b>20</b>	<b>42,6 - 2,2</b>
<b>250</b>	<b>17,5</b>	<b>52,7 - 1,8</b>	<b>16,9</b>	<b>56 - 1,7</b>	<b>19,4</b>	<b>44,7 - 2,1</b>
<b>125</b>	<b>16,3</b>	<b>59,9 - 1,5</b>	<b>16,3</b>	<b>59,7 - 1,5</b>	<b>18,8</b>	<b>47,1 - 2</b>
<b>62,5</b>	<b>15,6</b>	<b>64 - 1,5</b>	<b>15</b>	<b>69 - 1,4</b>	<b>18,1</b>	<b>49,7 - 1,9</b>

# Résumé

## ملخص

يعرف نبات *Crataegus azarolus* بأنه نبتة طبية تنتمي إلى عائلة Rosaceés ، تنتشر هذه النبتة المعروفة باسم "الزعرورة" بصفة خاصة في منطقة الشرق الجزائري. تم الحصول على المستخلصات العضوية بواسطة النقع وذلك باستعمال ثلاث مذيبات عضوية: الهيكسان ، اسيتات الايثيل و الايثانول، كان مردودية الاستخلاص (22,54%) (2,04% (0,88)m/m% على الترتيب. تم تحديد المحتوى الفينولي الكلي في المستخلصات باستعمال طريقة كاشف- Folin- Ciocalteu كانت النتائج كما يلي 21,6 6, 21- 20,6- 31,6 µg EAG/ mg d'extract في مستخلصات كل من الهيكسان ، اسيتات الايثيل و الايثانول على الترتيب. تم تقدير تركيز الفلافونويدات باستعمال طريقة AICI3 كان تركيز هذه الاخيرة : 75- 81- 59- 76 µgEAQ /mg d'extract في مستخلصات كل من الهيكسان ، اسيتات الايثيل و الايثانول على الترتيب. بينما تم تقدير تركيز التانينات باستعمال طريقة vanillin فكان تركيزها كما يلي 80-38,33-46,67 µg EC/ mg d'extract في مستخلصات كل من الهيكسان، اسيتات الايثيل و الايثانول على الترتيب . قدرت النشاطية المضادة للاكسدة باستعمال طريقتين مختلفتين: تقنية إرجاع الجذر الحر DPPH واختبار FRAP. بالنسبة لاختبار DPPH كانت قيم IC50 للمستخلصات كما يلي 86.25±2804 - 1330±66.5µg/ml - 2883.75±100.25µg/ml لمستخلصات كل من الهيكسان، اسيتات الايثيل و الايثانول على الترتيب. اما يخص اختبار FRAP تم الحصول على قيم النشاطية التالية - 321.34±0.002µg/ml - EC50=929.36±0.002µg/ml : 515.35±0.0018µg/ml بالنسبة لمستخلصات كل من الهيكسان، اسيتات الايثيل و الايثانول على الترتيب.

كما تم اختبار النشاطية المضادة للتخثر وقد أظهرت النتائج ان جميع المستخلصات تملك نشاطية جيدة خاصة بالنسبة للمستخلص الإيثانولي.

كلمات مفتاحية: *Crataegus azarolus* :، المستخلصات العضوية، النشاطية المضادة للأكسدة، النشاطية المضادة للتخثر.

## Résumé

*Crataegus azarolus* est une plante médicinale appartenant à la famille des Rosacées. Cette plante, connue sous le nom de "zaaroura", est particulièrement répandue dans la région de l'Est algérien. Les extraits organiques ont été obtenus par macération en utilisant trois solvants organiques : n-hexane, acétate d'éthyle et éthanol. Les rendements d'extraction ont été respectivement de (22,54%) (2,04%) (0,88%*m/m*). Les teneurs phénoliques totales ont été déterminées par la méthode du réactif de Folin-ciocalteu, elle est de : 31,6 -20,6 -21,6  $\mu\text{g EAG/mg}$  d'extrait dans les extraits d'hexane, d'acétate d'éthyle et d'éthanol, respectivement. La concentration en flavonoïdes a été estimée par la méthode  $\text{AlCl}_3$ . La concentration de ces derniers était de 75-81-59, 76 $\mu\text{gEAQ/mg}$  d'extrait dans les extraits d'hexane, d'acétate d'éthyle et d'éthanol, respectivement. La concentration en tanins a été estimée à l'aide de la méthode de la vanilline : 38,33-46,67 -80  $\mu\text{g CE/ mg}$  d'extrait : dans les extraits d'hexane, d'acétate d'éthyle et d'éthanol, respectivement. L'activité antioxydante a été évaluée en utilisant deux méthodes différentes : La technique de réduction des radicaux libres DPPH et le test FRAP. Pour le test DPPH, les valeurs  $\text{IC}_{50}$  des extraits étaient les suivantes :  $2804 \pm 86,25 \mu\text{g/ml}$  -  $1330 \pm 66,5 \mu\text{g/ml}$  -  $2883,75 \pm 100,25 \mu\text{g/ml}$  pour les extraits d'hexane, d'acétate d'éthyle et d'éthanol, respectivement. Quant au test FRAP, les valeurs d'activité suivantes ont été obtenues :  $\text{EC}_{50} = 929,36 \pm 0,002 \mu\text{g/ml}$  -  $321,34 \pm 0,002 \mu\text{g/ml}$  -  $515,35 \pm 0,0018 \mu\text{g/ml}$  pour les extraits d'hexane, d'acétate d'éthyle et d'éthanol, respectivement. L'activité anticoagulante a également été testée, et les résultats ont montré que tous les extraits avaient une bonne activité, en particulier pour l'extrait éthanolique.

**Mots-clés :** *Crataegus azarolus*, extraits organiques, activité antioxydante, activité anticoagulante