



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 : Biotechnologie végétale

Option : Biotechnologie végétale

Thème

**Contribution à l'étude des activités biologiques d'une plante médicinale
de la famille actereaceae**

Présenté par :

- SMAILI Nazim
- AZEGHOUGH Abd EL Aziz
- Benabdallah Aymene

Devant les jurys :

Président : Malki Samira	MCA	Université Oum el Bouaghi
Rapporteur : Boudjouref Mourad	MCB	Université Oum el Bouaghi
Examineur : Mazoz Wissem	MAA	Université Oum el Bouaghi

Année universitaire : 2022-2023

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

*A mes chers-parents ; Pour tous leurs sacrifices, leur
amour,*

*Leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de
mes études, je ne pourrais jamais exprimer le respect que j'ai
pour vous. Vos prières, vos encouragements et votre
soutien m'ont toujours été d'un grand secours. Puisse Dieu,
le tout puissant vous préserver du mal, vous combler de
santé, de bonheur et vous procurer une longue vie.*

*A celui que j'aime beaucoup et qui m'a soutenue tout au long
de ce Travail, mes frères et sœur : Skander, Chemss Eddin,
Mehdi, Nada. Pour leurs encouragements permanents, et
leur soutien moral.*

Nazim

Remerciements :

Nous tenons à remercier en premier, le grand dieu « ALLAH » tout puissant, pour nous avoir donné la force, la volonté et la patience durant toutes nos années d'études.

Nous voudrions exprimer nos sincères remerciements à notre encadreur Mr. Boudjouraf Mourad pour leur précieux conseils, leur disponibilité, leur gentillesse et leur patience tout à long de ce travail. Nous avons beaucoup apprécié travailler à vos côtés tant sur le plan scientifique que sur le plan humain. Nous gardons toujours beaucoup de plaisir à discuter avec vous et à bénéficier de vos conseils.

J'exprime mes plus sincères remerciements au Mme Malki Samira ,

MCA

université de Oum el Bouaghi pour m'avoir fait l'honneur de président le jury de soutenance, et Mme Mazoz Wissem , MAA, Université Oum el Bouaghi pour m'avoir fait l'honneur d'être examinatee..

À toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement, à la réalisation de ce travail.

Sommaire

Liste Des tableaux

Liste des figures

Liste des abriviations

Introduction générale

Première partie : Etude bibliographique

Liste des tableaux.....	6
Liste des figures.....	6
Chapitre : 01	1
Les plantes médicinales.....	1
I. Généralité :.....	3
1. Les méthodes de préparation des plantes médicinales.....	3
1.1.1. Infusion.....	3
1.1.2. Décoction.....	3
Cueillette des plantes médicinales et leur conservation	4
1.1.3. Cueillette	4
1.1.4. Séchage.....	4
1.1.5. Conservation et stockage	5
1. Introduction.....	7
2. Classification des métabolites secondaires.....	7
Les métabolites secondaires sont classés en trois grands groupes : les composés phénoliques, terpènes et alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine (Mansour, 2009).....	7
2.1. Les composés phénoliques.....	7
3. Les polyphénols :	9
4. Les flavonoïdes.....	10
5. Les tanins.....	12
5. Présentation de l'espèce <i>Crataegus azarolus</i>	15
1. Matériel végétal	20
2. Préparation des extraits	20

3.	Etude phytochimique des extraits.....	22
3.1.1	Dosage des polyphénols totaux	22
3.1.2	Dosage des flavonoïdes.....	22
4.	Tests des activités biologiques	23
3.1.3	Activité antioxydante	23
I.	Resultats.....	25
4.1.1.	Dosage des polyphénols totaux	25
4.1.2.	Dosage des Flavonoïdes	26
1.2.1	Activité antioxydante	27
II.	Discussion.....	31
1.	Rendements de l'extraction	31
2.	Analyses quantitatives des extraits.....	31
2.1.	Dosage des polyphénols totaux	31
2.2.	Dosage des flavonoïdes.....	32
2.3.	Activité biologique.....	32
2.3.1.	Activité antioxydante	32
2.3.1.1.	Test de DPPH	32
	Conclusion	34
	References bibliographique	1

Liste des tableaux

Tableau 1 :Teneurs en polyphénols totaux de <i>Crataegus azarolus</i>	25
Tableau 2 : Teneurs en flavonoïdes des extraits de <i>Crataegus azarolus</i>	26
Tableau 3 : Les valeurs des CI50 des extraits de <i>Crataegus azarolus</i>	28

Liste des figures

Figure 1:Voie de biosynthèse de différentes classes des flavonoïdes (Remesy et al., 1996)	12
Figure 2:Aire de répartition du <i>C.azarolus</i> en Algérie (Quezel et Santa, 1962).	16
Figure 3:Arbre et fruits du <i>Crataegus azarolus</i> L.	16
Figure 4:Préparation des extraits	21
Figure 5: Droite d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux. ..	25
Figure 6: Evaluation des polyphenols totaux.....	26
Figure 7: Droite d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes. (Moyenne ±(Moyenne ± ..	27
Figure 8: Evaluation des flavonoides des extraits	27
Figure 9: Diagramme de BHT.....	28
Figure 10:Droite d'étalonnage pour l'extrait methanolique	29
Figure 11:Droite d'étalonnage pour l'extrait de chloroforme	29

Liste des abreviations

AAR : Activité antioxydante relatif.

BHA : Butylated hydroxyanisole.

CE50 : concentrations effectives à 50%.

CI50 : Concentration inhibitrice à 50%.

DPPH : 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl.

FRAP : pouvoir antioxydant par réduction ferrique (Reducing feric antioxydant power).

mg EAg/ μ g d'extraits : milligramme d'équivalent de l'acide gallique par microgramme d'extrait.

mg EC/ μ g d'extraits : milligramme d'équivalent de la catéchine par microgramme d'extrait.

mg EQ/ μ g d'extraits : milligramme d'équivalent de la quercétine par microgramme d'extrait.

RL : Radicaux libres.



Introduction générale

Introduction générale

L'utilisation des plantes est une pratique bien connue depuis l'antiquité et joué un rôle primordial dans l'émancipation des anciennes civilisations. En effet, la vie de l'homme a reposé, dans une certaine mesure, sur les plantes de son environnement, soit pour se soigner, se nourrir ou même se protéger des dangers qu'il guette sans cesse. Au cours de ce dernier siècle, les plantes ont été introduites dans plusieurs domaines industriels : l'industrie des cosmétiques, agroalimentaire, pharmaceutique...etc. Afin de préserver la vie et la santé de l'être humain contre les diverses maladies (la fièvre, la diarrhée, le choléra, le diabète, l'ulcère, le cancer, ...etc.) qui l'attrapent, une importance capitale est dédiée au développement de nouveaux médicaments à base de plantes médicinales.

A cet effet, les chercheurs se sont intéressés à extraire les principes actifs, qui peuvent traiter ces maladies, à partir des plantes médicinales utilisées par leurs ancêtres pour se soigner. A nos jours, de nombreuses populations Africaines, Asiatiques et Américaines (Amérique latine) se soignent avec des traitements à base de plantes médicinales préconisés et transmises par la tradition.

Etant donné, la richesse de notre pays en espèces de la famille d'*Astéracées*, connus pour leurs vertus médicinales, cosmétiques et autres utilisations, une étude approfondie de Celle-ci s'impose dans le cadre de la mise en valeur de la flore Algérienne. La famille d'*Astéracées* est la plus vaste du groupe de dicotylédones, elle comprend 109 genres et 408 espèces sur le territoire Algérien ; plusieurs plantes de cette famille sont cultivées pour leur valeur alimentaire ou comme plantes décoratives.

Actuellement, plus de 50% des médicaments qui traitent les diverses maladies sont d'origine de plantes par utilisation de différents organes (fleurs, feuilles, racines, tiges...) avec des modes d'utilisation multiples (décoction, infusion, poudre...) par ce qu'elle est très riche par des constituants chimiques (flavonoïdes, alcaloïdes, tanins, terpènes, huiles essentielles...).

A travers ce travail, nous présentons deux parties : la première partie qui contient une synthèse bibliographique et une deuxième partie qui est la pratique expérimentale dont laquelle nous abordons l'extraction l'étude phytochimique et l'activité antioxydante.

Chapitre : 01

Les plantes médicinales

I. Généralité :

Les plantes médicinales constituent un patrimoine précieux pour l'humanité et plus particulièrement pour la majorité des communautés démunies des pays en voie de développement qui en dépendent pour assurer leurs soins de santé primaires et leurs substances elles utilisent la plupart des espèces végétales, tant ligneuses qu'herbacées comme médicaments, une croyance bien réponde est que toute plante soigne. Plus de 80 % des populations africaine ont recours à la médecine et à la pharmacopée traditionnelle pour faire face aux problèmes de santé, le continent africain regroupe des plantes médicinales très diversifiées. En effet sur les 300.000 espèces végétales recensées sur la planète, plus de 200.000 espèces vivent dans les pays tropicaux d'Afrique et ont des vertus médicinales. Les plantes médicinales demeurent encore une source de soins médicaux dans les pays en voie de développement en l'absence d'un système médicamente moderne (Salhi et al., 2010)

Les plantes médicinales sont importantes pour la recherche pharmacologique et l'élaboration des médicaments, non seulement lorsque les constitutions des plantes sont utilisées directement comme agent thérapeutique, mais aussi comme matière première pour la synthèse de médicaments ou comme modèle pour les composés pharmaco logiquement actifs (Ameenah, 2006).

1. Les méthodes de préparation des plantes médicinales

1.1.1. Infusion

C'est la forme de préparation la plus simple, elle se prépare en versant de l'eau bouillante sur les parties de plantes fraîches ou séchées et les bien tremper afin d'extraire leurs principes actifs. En laissant reposer la mixture pendant 5 à 10 minutes. Elle convient pour l'extraction de parties délicates ou finement hachées des plantes : feuilles, fleurs, graines, écorces et racines, ayant des constituants volatiles comme les huiles essentielles (Baba-Aïssa, 1999 ; Kraft et Hobbs, 2004). Pour conserver les infusions, il faut les embouteiller à chaud (à environ 80 °C ou 90- 100°C selon les plantes), elles sont stockées pour quelques jours au froid (Chaboussou et Chabauty, 2013).

1.1.2. Décoction

Cette méthode est utilisée lorsque les ou les remèdes utilisés sont constituées de racines, tiges, écorces, graines ou baies ; qui sont les parties les plus coriaces des plantes. Fractionnées

en petits morceaux, les remèdes sont placés dans de l'eau fraîche, qui sera portée à ébullition. Une fois celle-ci atteinte, il est nécessaire de laisser frémir à petit bouillon pendant 5 à 20 minutes. La solution obtenue est appelée décocté (Perry, 2013).

La macération consiste à maintenir en contact le remède avec un solvant à température ambiante pendant une durée de 30 minutes à 48 heures. Dans le cas des tisanes le solvant est l'eau. Cette méthode permet une extraction douce des principes actifs, surtout lorsqu'ils sont thermolabiles (Chabrier, 2010) et elle convient à la plupart des racines, rhizomes et écorces (Lehmann, 2013). Cette technique est surtout utilisée pour les plantes à gomme ou à mucilage, un macéré est ainsi obtenu (Perry, 2013). La préparation ne peut être stockée car elle risque de se fermenter

Cueillette des plantes médicinales et leur conservation

Les plantes médicinales sont cueillies pour être utilisées comme médicament afin de soulager le patient. Les techniques de cueillette et conservation sont en étroite liaison avec le lieu et coutumes.

1.1.3. Cueillette

Les caractéristiques des plantes dépendent principalement du lieu d'origine, de l'époque et de la technique de récolte. La cueillette est liée au climat et aux changements saisonniers. Afin de déterminer les caractéristiques des plantes, il est nécessaire de considérer la partie, la forme, la couleur, la nature et la saveur utilisée (Marschner, 1995). Selon Wichtl (2003) et Delille (2007), lors du processus de récolte, les racines doivent être très fortes, pleinement développées à la fin du repos végétal, et l'écorce gagne une certaine épaisseur jusqu'à se séparer facilement du corps. Des arbustes, des conifères sont plantés au printemps. La partie aérienne soit en floraison, feuilles juste avant la floraison, fleurs au moment de l'épanouissement, graine et fruit à maturité.

1.1.4. Séchage

Le séchage au soleil est la méthode la plus simple et économique, utilisé surtout pour les racines, tiges, graines et fruits. Le séchage à l'ombre est indiqué pour les feuilles et fleurs, car les feuilles vertes séchées au soleil jaunissent, les pétales de fleurs perdent leurs couleurs vives, ce qui peut altérer les propriétés médicinales de ces produits. Les plantes aromatiques ne doivent pas rester trop longtemps au soleil pour ne pas perdre leur parfum (Djeddi, 2012). Le maximum de température admise pour une bonne dessiccation des plantes aromatiques ou

des plantes contenant des huiles essentielles est de 30°C ; pour les autres cas, la température de dessiccation peut varier de 15 à 70°C (Delille L, 2007).

1.1.5. Conservation et stockage

Les plantes médicinales sont conservées dans des récipients légers, aériens et secs en porcelaine, en terre cuite ou en verre coloré, des boîtes en fer blanc sèches, des sacs en papier ou des caisses. Cette technique est nécessaire pour les plantes qui subissent une transformation chimique sous l'influence de la lumière ultraviolette. Les plantes riches en produits volatils et s'oxydant rapidement sont stockées en milieu fermé (Djeddi, 2012)

Chapitre : 02



Les métabolites secondaires

1. Introduction

Parmi les originalités majeures des végétaux leurs capacités à reproduire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires classiques, glucides, protides, lipides, ils accumulent fréquemment des métabolites secondaires. Ces derniers, représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que pharmacologie ou l'agroalimentaire (Macheix et al., 2005).

Les métabolites secondaires sont un groupe de molécules qui interviennent dans l'adaptation de la plante à son environnement ainsi que la régulation des symbioses et d'autres interactions plantes-animaux. La défense contre les prédateurs et les pathogènes, comme agents allélopathiques et pour attirer les agents chargés de la pollinisation ou de la dissémination des fruits (Judd et al., 2002).

Les métabolites secondaires appartiennent à différents groupes chimiques tels que : les alcaloïdes, les terpènes, les composés phénoliques...etc, qui sont répartis de manière diversifiée chez les végétaux. Ils ne sont pas vitaux pour l'organisme mais jouent un rôle important dans la vie du végétal. Aussi, ils interviennent dans l'adaptation de la plante à son environnement et la régulation des symbioses et d'autres interactions plantes-animaux. Ils peuvent également s'utiliser pour se défendre contre les prédateurs et les pathogènes, comme agents allélopathiques ou pour attirer les agents chargés de la pollinisation ou de la dissémination des fruits (Attou, 2011 ; Benayache, 2013).

2. Classification des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont classés en trois grands groupes : les composés phénoliques, terpènes et alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine (Mansour, 2009).

2.1. Les composés phénoliques

Les polyphénols ou composés phénoliques forment une grande classe de produits chimiques qui on trouve dans les plantes au niveau des tissus superficielles, ils sont des composés photochimiques poly hydroxylés et comprenant au moins un noyau aromatique à 6 carbones.

Ils subdivisent en sous classe principales ; les acides phénols, les flavonoïdes, les lignines, les tanins... (Chakou, 2013).

a) Acide phénolique

Les phénols ou les acides phénoliques sont des petites molécules constituées d'un noyau benzénique et au moins d'un groupe hydroxyle, elles peuvent être estérifiées, étherifiées et liées à des sucres sous forme d'hétérosides, ces phénols sont solubles dans les solvants polaires, leur biosynthèse dérive de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique. Les phénols possèdent des activités anti-inflammatoires, antiseptiques et analgésiques (médicament d'aspirine dérivée de l'acide salicylique) (Iserin P., 2001).

b) Flavonoïde

Terme en latin ; flavus = jaune. Ont une structure de C₆-C₃-C₆ à poids moléculaire faible, ils peuvent être considérés parmi les agents responsables des couleurs de plante à côté des chlorophylles et caroténoïdes (Wichtl et Anton, 2009)

Les flavonoïdes représentent une classe de métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal. Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles (Rice et al ,1998).

Les flavonoïdes ont des sous-groupes caractérisés à contenant deux ou plusieurs cycles aromatiques existent sous forme libre dite aglycone ou sous forme d'hétérosides, chacun portant une ou plusieurs groupes hydroxyles phénoliques et reliées par un pont carboné (Adouane, 2016).

Les flavonoïdes sont généralement des antibactériennes (Wichtl et Anton, 2009).

Ils peuvent être exploités de plusieurs manières dans l'industrie cosmétique et alimentaire (jus de citron) et de l'industrie pharmaceutique (les fleurs de trèfle rouge traitent les rhumes et la grippe réduisant les sécrétions nasales), comme certains flavonoïdes ont aussi des propriétés anti-inflammatoires et antivirales (Iserin et al., 2001).

c) Tanins

On distingue deux catégories : Les tanins condensés, polymères d'unités flavonoïdes reliées par des liaisons fortes de carbone, non hydrolysables mais peuvent être oxydées par les acides forts libérant des anthocyanidines. Les tanins hydrolysables, sont des polyesters de glucides et d'acides phénols, ils sont facilement scindés par les enzymes de tannases en oses et en acide

phénol, selon la nature de celui-ci on distingue : les tanins galliques, et les tanins ellagiques (Paris et Hurabielle, 1981).

Les plantes riches en tanins sont utilisées pour retendre les tissus souples et pour réparer les tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure, elles rendent les selles plus liquides, facilitant ainsi le transit intestinal (Iserin et al., 2001).

d) Lignines

Composés qui s'accumulent au niveau des parois cellulaires (tissus sclérenchymes ou le noyau des fruits), au niveau de sève brute qu'ils permettent la rigidité des fibres, ils sont le résultat d'association de trois unités phénoliques de base dénommées monolignols de caractère hydrophobe (Sarni-manchado et Cheyner ,2006).

2.2. Alcaloïdes

Ce sont des substances organiques azotées d'origine végétale, de caractère alcalin et de structure complexe (noyau hétérocyclique), on les trouve dans plusieurs familles des plantes, la plupart des alcaloïdes sont solubles dans l'eau et l'alcool et ont un goût amer et certains sont fortement toxiques (Wichtl et Anton , 2009).

- **Les coumarines :**

Sont de différents types, se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très divers, Ils sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, super oxydes et peroxydes (Madhavi et al, 1996).

2.3 Terpènes et stéroïdes

Sont des composés par l'assemblage d'un nombre entier d'unité penta carbonée ramifiée ; le 2-méthyl- butadiène (isoprène), selon le nombre d'unité isoprénique qui les constituent, on distingue : les monoterpènes en C 10, les sesquiterpènes en C15, les diterpènes en C20 et les triterpènes en C30, ... (Guignard et al., 1995 ; Harbone, 1998 et Bruneton, 1999).

Ces molécules présentent en forme des huiles essentielles ; parfums et goût des plants, pigments (carotène), hormones (acide abscissique), des stérols (cholestérol) ; les stéroïdes sont des triterpènes est étracycliques, possèdent moins de 30 atomes de carbone, synthétisés à partir d'un triterpène acyclique (Hopkings , 2003).

3. Les polyphénols :

Les polyphénols caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portent des groupements hydroxyles libres ou glycosylés. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux

supérieures (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) ; et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogénèse, la germination des graines et la maturation des fruits (Boizot et Charpentier, 2006). Les principales classes des composants phénoliques sont les acides phénoliques (acide caféique, acide ferulique, acide chlorogénique...), les flavonoïdes, les tanins, et les coumarines (King and Young, 1999 ; Tapiero et al., 2002). Les composants phénoliques sont des molécules biologiquement actives (King et Young, 1999), largement utilisés en thérapeutique comme vasoconstricteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et antimicrobiens (Bahorun, 1997 ; Cetkovic et al., 2008).

Les métabolites secondaires majoritaires du fruit de *Crataegus azarolus*, sujet d'étude, se présentent en flavonoïdes (flavones, flavanols) et en tanins condensés d'unité de base flavanol (flavan-3-ol : épicatechine), d'où l'aubépine est considérée comme drogue à proanthocyanidols dimères (Bruneton, 1999).

Activités biologiques des polyphénols

D'après la littérature, les polyphénols ont plusieurs activités biologiques telles que les activités antioxydants, antivirales (Ulomskiy et al., 2020), antibactériennes (Abudunia et al., 2017), antidiabétiques (Ren et al., 2020), anticancéreuses (Yang et al., 2020), analgésiques, anti-inflammatoire, antipyrétiques (Javed et al., 2020), cardioprotectrices, neuroprotectrices, antiasthmatiques, antiseptiques, protection cérébrovasculaire, hypocholestérolémiantes, hépatoprotectrices (Ganesan et Baojun, 2017), antifongique, antithrombotiques, (Ali et al., 2007), antiallergiques et vasodilatatrices (Falleh et al., 2008)

4. Les flavonoïdes

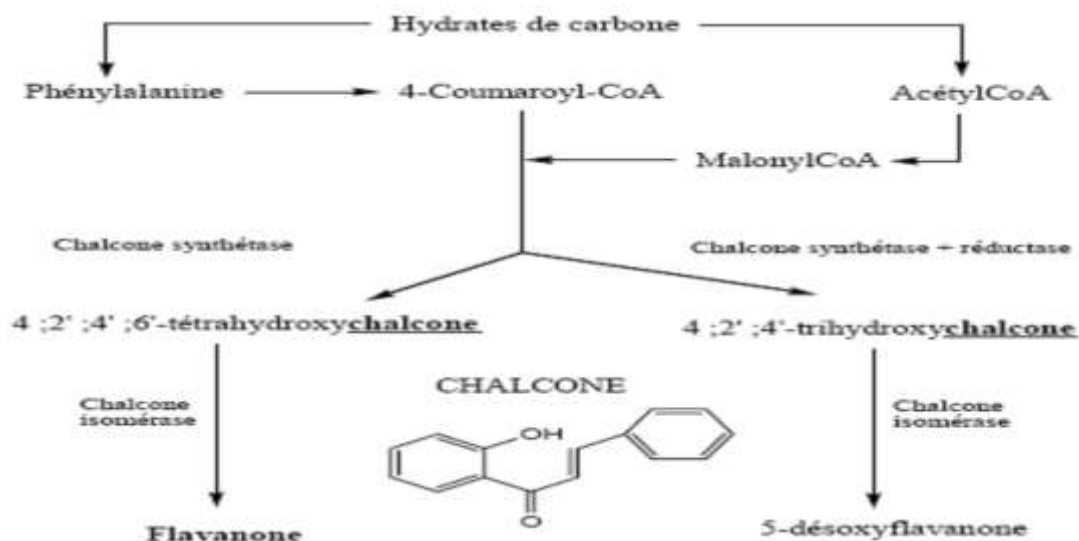
Les flavonoïdes (*flavus*, jaune en latin) représentent une large gamme de composés naturels, ils font partie de la famille des polyphénols. Ils sont considérés comme les pigments universels des végétaux. Tous les flavonoïdes possèdent le même élément structural de base, à savoir l'enchaînement 2-phénylchromane, dont plusieurs sont responsables de la couleur vive des fleurs, des fruits et des feuilles (Pietta, 2000 ; Ghedira, 2005).

4.1 Classification et structure chimique des flavonoïdes

Les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules selon le degré d'oxydation et la nature des substituants portés sur le cycle C (Pietta, 2000), dont les plus importantes sont les flavones, les flavanones, les flavonols, les flavanols, les isoflavones et les

anthocyanidines. La **figure 1** résume les deux voies shikimate et acétate, principales de la biosynthèse des flavonoïdes ainsi que leurs différentes classes (Remesy et *al.*, 1996).

Les composés de chaque classe se distinguent entre eux par le nombre, la position et la nature des substituants (groupement hydroxyles, méthoxyles et autres) sur les deux cycles aromatiques A et B (Heim et *al.*, 2002). Dans les flavonoïdes au sens strict, le deuxième cycle benzène (B) se lie à l'hétérocycle (C) en position 2. Lorsque la liaison s'effectue en position 3, les composés résultant sont des isoflavonoïdes. En plus l'hétérocycle (C) peut être pyrone (flavon) ou son dihydrodérivé (flavanone). La fixation d'un groupement hydroxyle sur le carbone 3 dans les deux cas précédents constitue respectivement les flavonols et les flavononols (Birt et *al.*, 2001). A l'état naturel, on trouve très souvent les flavonoïdes sous forme de glycosides. Une ou plusieurs de leurs fonctions hydroxyles sont glycosylées, l'unité glycosidique la plus commune est le glucose mais parfois elle peut être Glucorhamnose, galactose, arabinose ou rhamnose. La partie du flavonoïde autre que le sucre est appelée aglycone ou génine (Heim et *al.*, 2002)



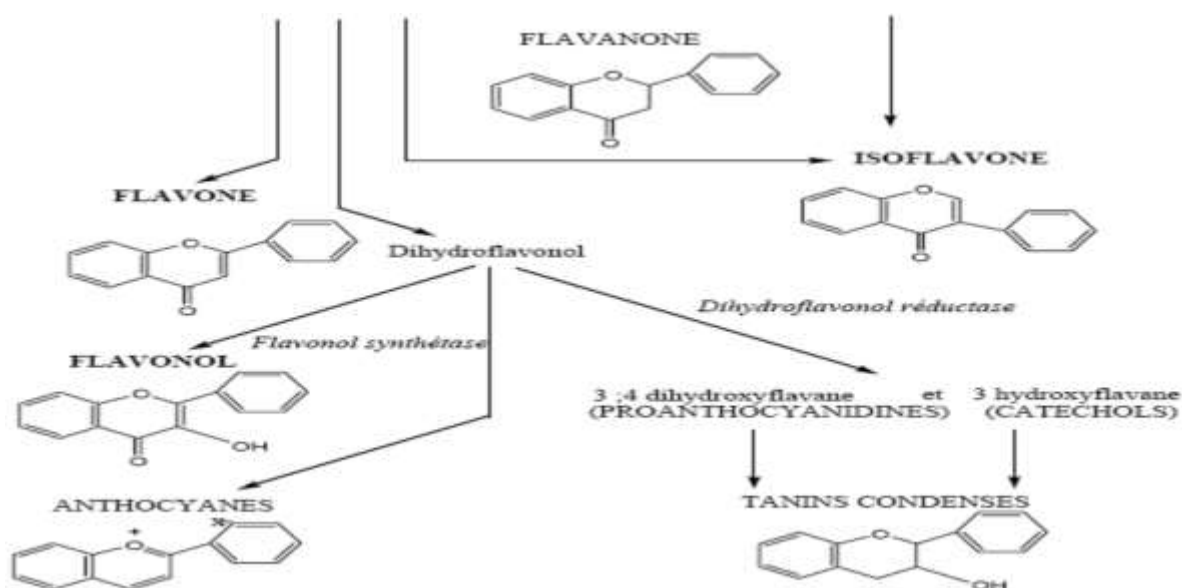


Figure 1: Voie de biosynthèse de différentes classes des flavonoïdes (Remesy et al., 1996)

4.2 Activités biologiques des flavonoïdes

La principale propriété initialement attribuée aux flavonoïdes, est d'être vasculoprotectrice et venotonique (Bruneton, 1999). De nos jours, les propriétés des flavonoïdes sont largement étudiées dans le domaine médical où on leur reconnaît des activités : antivirales, anti-tumorales, anti carcinogènes, anti-inflammatoires, hypotenseurs et diurétiques, antioxydantes et hépato protecteurs (Middleton et al., 2000). Ces activités sont attribuées en partie aux propriétés anti-oxydantes de ces composés naturels (Saija et al., 1995).

5 Les tanins

Les tanins sont des composés polyphénoliques, hydrosolubles de masse moléculaire comprise entre 500-3000. Ayant la propriété de tanner la peau, c'est-à-dire de la rendre imputrescible. Cette propriété est liée à leur aptitude à se combiner à des macromolécules (protéines, polysaccharides...) (Zimmer et Cordesse, 1996 ; Ghestem et al., 2001). Parmi les caractéristiques des tanins le goût d'astringence qui est une sensation tactile due à la précipitation des protéines salivaires et qui crée une sensation d'assèchement dans la bouche (Peronny, 2005).

Le rôle biologique des tanins dans la plante est lié à sa propre protection contre les infections fongiques et bactériennes (Peronny, 2005), les insectes et les animaux herbivores (Khanbabaee et Ree, 2001).

5.1 Activités biologiques et thérapeutiques des tanins

Les tanins sont des molécules biologiquement actives, douées d'activités pharmacologiques remarquables et des effets caractéristiques sur la santé humaine (Chavan et *al.*, 2001 ; Okuda, 2005). Comme anti-inflammatoire, anticancérogénique, son potentiel peut être lié à la propriété antioxydante qui apparaît importante dans la protection cellulaire des dommages oxydatifs (Yang et *al.*, 2000 ; Chung et Wei, 2001).

Les tanins dimères procyanidoliques, considérés comme responsables de l'activité inotrope cardiaque positive et coronarodilatatrice des sommités fleuries de l'aubépine ont aussi des propriétés proches de celles des flavonoïdes : augmentation de la résistance capillaire, diminution de la perméabilité capillaire, augmentation du tonus veineux, stabilisation du collagène, etc. (Bruneton, 1999).

Les tanins présentent une activité antiulcéreuse et antiparasitaire, en effet, la consommation des plantes à tanins peut affecter la biologie de certaines espèces de parasites intestinaux (Peronny, 2005).

5.2 Activité antioxydante des tanins

Les tanins ont la particularité d'inhiber la peroxydation des lipides en agissant comme donneur de proton et accepteur de radicaux libres, stoppant ainsi le mécanisme d'auto oxydation (Perret, 2001). Les tanins hydrolysables et condensés sont 15 à 30 fois plus efficaces que les phénols simples (Peronny, 2005).

Chapitre 03

Présentation de l'espèce

Crataegus azarolus

5. Présentation de l'espèce *Crataegus azarolus*

Crataegus : nom générique des Aubépines de la famille des Rosacées, désignant en latin « *Crataegon* » ou « *Crataegos* », l'Azerolier (*Crataegus azarolus* L.) peut être du grec (kratos) par allusion à la dureté du bois (Couplan, 2000).

3.2. Classification botanique

D'après Messaili (1995), La position taxonomique de *C. azarolus* est comme suite

- **Règne** : Végétale
- **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)
- **Ordre** : Rosales
- **Famille** : Rosacées
- **Tribu** : Pirées
- **Genre** : *Crataegus*

3.3. Origine et Répartition

D'après Mazzocchi (1999) et Brosse (2000) *C. azarolus* est originaire de la méditerranée orientale, sud de l'Europe, Afrique du nord et de l'Asie (de la Crète au Turkestan) et il est présent à l'état sauvage dans tous les pays méditerranéens. L'aubépine, comprend plus de 200 espèces, répandue dans les zones tempérées de l'hémisphère nord (Ozcan et al., 2005).

L'azerolier est présent à l'état sauvage dans tous les pays méditerranéens ; Il est aussi cultivé en Europe, notamment en France surtout pour ses variétés à gros fruits (Pellotti, 1987; Brosse, 2000). Naturalisé en Amérique du nord et cultivé en région méditerranéenne (Grieve, 2003) .

En Algérie, *C. azarolus* est localisé surtout dans les régions de Constantine, d'une façon spontanée en forme de forêts assez rares et parfois planté en haies ou en clôture dans les jardins en zone rurales. Les espèces existantes en plus d'azerolier en Algérie, on trouve : *Crataegus oxyacantha* L. (boumekherri ou babaadjina), *Crataegus monogyna* Jacq. (ssp de *C. oxyacantha*), *Crataegus maura* et l'hybride *azarolus* × *oxyacantha* = *C. ruscinonensis* Gren. et Blanc (Azerolier du Roussillon) (Gloaguen, 1982), ce dernier existe dans la région de Constantine, il diffère de *C. azarolus* par ses pédicelles glabres et ses fruits plus petits (10-15mm) au lieu de 15 à 30 mm (Quezel et Santa, 1962).

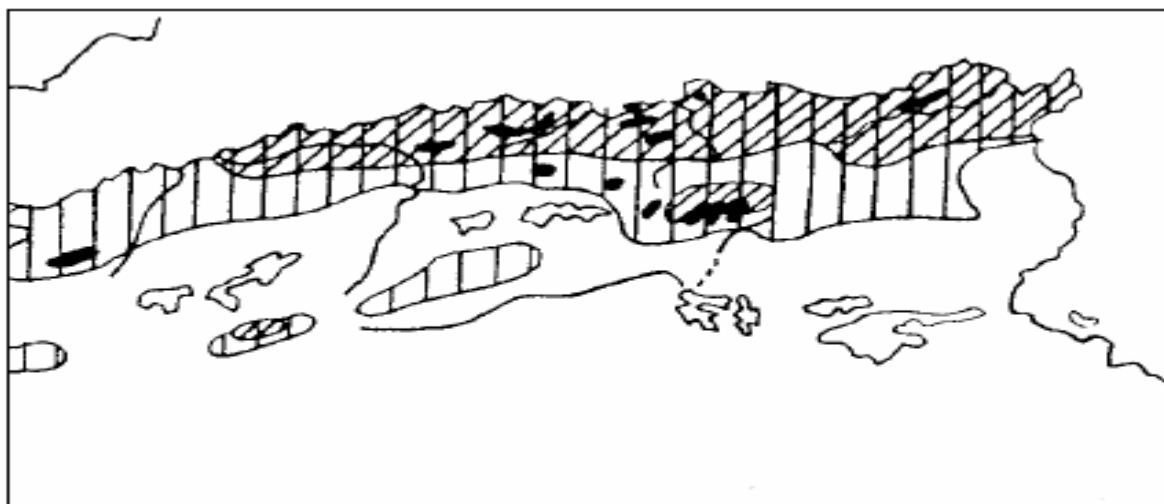
La présence de *C. azarolus* a pu être confirmée dans les régions suivantes :

Constantine : Djebel El Meridj, El Khroub et Ain Abid ;

Guelma : Oued Zenati, Ras el Akba ;

Souk Ahras : Bouchegouf ;

Sétif : Bouгаа, Ain Roua, Ain Kbira, Beni Aziz, djebel Boutaleb et Ouled Tebène ;



C. azarolus.  *C. oxyacantha*. 

Figure 2: Aire de répartition du *C. azarolus* en Algérie (Quezel et Santa, 1962).

3.4. Description :

C. azarolus est un petit arbre de (4-6m), plus rarement (jusqu'à 12m). Ecorce lisse et gris clair, devenant brunâtre avec gerçures. Rameaux pourpres foncés, peu épineux (parfois sans pines), les jeunes blanchâtres cotonneux, bourgeons globuleux (Quezel et Santa, 1962).

Feuilles caduques, alternes, à pétiole poilu-cotonneux (au moins à la base), de 2 à 5 cm de longueur, en forme d'éventail profondément divisées en 3-5 lobes entiers ou peu dentés, poilus, de couleur verte blanchâtre en dessous (fig03)



Figure 3: Arbre et fruits du *Crataegus azarolus* (www.comune.fe.it)

Fleurs blanches ou rosées (avril-mai), odorantes, en bouquets terminaux en inflorescences denses, de 10 à 20 petites fleurs à pédoncules velus-cotonneux (Brosse, 2000).

Fruits assez gros (azeroles) mûrissent en Septembre Octobre ressemblât à des pommes miniature, de forme ovoïde 1,5 à 2 cm de diamètre, rouge vermillon ou jaunâtre vire au blanc Crème, a la chair pulpeuse parfumée, d'un goût acidulé, agréable, a 2 noyaux osseux, planes à La face intérieure, parfois trois noyaux triangulaires rainurés, ou un seul noyau entier (Espiard, 2002).

3.5. Composition chimique

Plusieurs travaux ont été réalisés pour déterminer la composition chimique de l'aubépine afin d'expliquer son pouvoir traitant et ses applications médicales et pharmaceutiques. Les fruits de *C. azarolus* contiennent 15.9% des sucres totaux, les oses simples majoritaires sont le fructose, glucose et rhamnose (Dzhangaliev, 2002).

Les travaux sur plusieurs variétés de *C. azarolus* (Bignami et al., 2000) montrent sa richesse en saccharose dans quelques variétés et son absence chez certains. Selon l'étude réalisée sur la fraction glucidique de *C. azarolus* Algérien qui provient de la région de Mila, les sucres solubles sont d'une teneur de 9.86% de la matière sèche, où 3.03% présente des sucres réducteurs et 6.83% du saccharose. Concernant les polysaccharides, cette espèce renferme 6.86% de pectine et 11.97% de cellulose, de la matière fraîche du fruit. Son apport énergétique est de 37.98 Kcal (Saadoudi, 2008). Le contenu des fruits secs de *C. azarolus* en aminoacides totaux varie entre 3 à 6%, caractérisé par des acides aminés aromatiques (Chang et al., 2006).

Les lipides sont présents en trace, le travail de Ferhat, (2008) sur l'azerole de la région de N'gaous aboutit au contenu de 0.67% matière grasse par matière sèche. D'où 1.32% de cette matière sont des lipides insaponifiables, les acides gras dominants qui sont l'acide oléique et l'acide linoléique. L'aubépine est caractérisée par sa richesse en acides organiques (3-6%), tels que l'acide caféique, malique, tartrique, citrique et chlorogénique (Chang et al., 2006 ; Kjaer et al., 2006). L'augmentation de ces acides permet de stabiliser les substances phénoliques au cours du stockage (Bruneton, 1999 ; Chang et al., 2006). Les polyphénols interviennent dans la qualité alimentaire des fruits. D'où, les composés phénoliques déterminent également la saveur des fruits. Les flavonoïdes sont responsables de l'amertume des fruits attardés (citrus surtout) et peuvent donner naissance par transformation chimique à des dihydrochalcones à saveur sucrée.

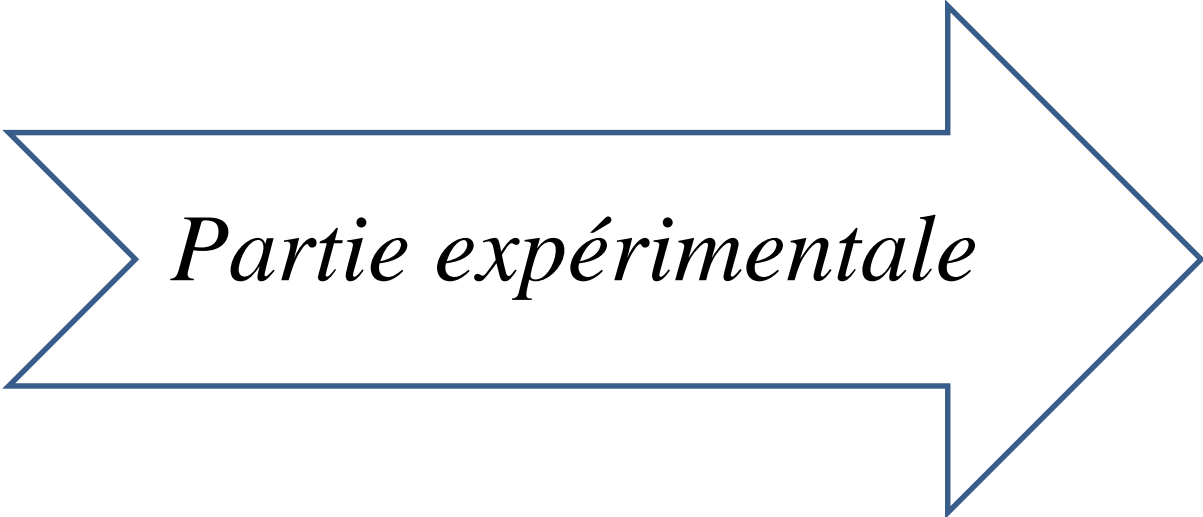
Les analyses réalisées par Hadjimitsi et Zabetakis (2005) sur la pulpe des azéroles ont permis la détermination de quarante-quatre composés volatils dominés par les aldéhydes aliphatiques et aromatiques, les cétones, les alcools, les monoterpènes et les triterpènes.

Les études réalisées par Urbonaviciūtė et *al.*, (2006) au moyen d'HPLC, ont démontré la présence des flavonoïdes tels que : la quercitrine. Les extraits aqueux des azeroles sont très riches en flavonoïdes (Skerget et *al.*, 2005 ; Chang et *al.*, 2006)

Les majeurs métabolites secondaires de cette espèce sont des flavonoïdes (1-2%) et des proanthocyanidols (2-3%) (Bruneton, 1999).

Les flavonoïdes et les oligomères procyanidiniques sont surtout dans les feuilles et les fleurs, mais ils sont plus faibles dans les fruits : environ 0.1-0.5% flavonoïdes, ainsi la vitexine et la vitexine 2''-rhamnoside ne sont présents qu'en traces (Wichtel et Anton, 1999).

Les constituants non phénoliques sont les acides triterpéniques pentacycliques de (0.5-1.4%), comme l'acide oléanolique et son dérivé le 2- α hydroxy connu sous le nom de l'acide crataegolique sont parmi les composés caractéristiques des *Crataegus* (Chang et *al.*, 2002 ; Fong et Bauman, 2002).



Partie expérimentale

1. Matériel végétal

Les fruits de la plante d'azerolier est nettoyée ensuite séchée à l'ombre, à l'abri de l'humidité et à une température ambiante puis conservées dans des sacs en papier jusqu'à l'utilisation.

1.2. Appareils et produits chimiques

➤ Appareillage

- Spectrophotomètre
- Etuve type Z TiCHEnE
- Rotavapeur type Buchi R-200
- Balance de précision.
- Agitateur

➤ Produits chimiques

Les produits et les réactifs chimiques utilisés dans notre étude sont :

Chlorure d'aluminium (AlCl_3), réactif de Folin ciocalteu, carbonate de sodium (Na_2CO_3), 2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl (DPPH), acide gallique, Ethanol ; chloroforme .

2. Préparation des extraits

2.1. Préparation de l'extrait de chloroforme

Dans un Erlenmeyer une masse de 10g du matériel végétal est mise en contact avec 100ml de chloroforme, à une température de 25°pendant 24h avec une agitation continue, puis l'ensemble est filtré en utilisant une bande à gaze et un papier filtre puis le filtrat est récupéré l'opération est répétée une deuxième fois. Les deux filtrats sont additionnés et évaporés en utilisant un Rotavapor à une température allant de 45°c à 50°c (Khettaf et *al.*, 2016)..

2.2. Préparation de l'extrait d'éthanol

Selon la méthode de Khettaf et ses collaborateurs (2016) : Dans un Erlenmeyer une masse de 10g du matériel végétal est mise en contact avec 100ml d'éthanol, à une température de 25°pendant 24h avec une agitation continue, puis l'ensemble est filtré en utilisant une bande à gaze et un papier filtre puis le filtrat est récupéré l'opération est répétée une deuxième fois. Les deux filtrats sont additionnés et évaporés en utilisant un Rotavapor à une température allant de 45°c à 50°c) (Khettaf et *al.*, 2016).



Figure 4: Préparation des extraits

3. Etude phytochimique des extraits

Dans le but de caractériser les extraits de *Crataegus azarolus* des analyses quantitatives ont été effectuées.

3.1. Analyses quantitative

3.1.1 Dosage des polyphénols totaux

Le contenu en polyphénols totaux des extraits aqueux et éthanolique de *Crataegus azarolus* est estimé par la méthode de Folin-Ciocalteu (Singleton et *al.*, 1999). Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMO₁₂O₄₀). C'est une technique basée sur la réduction en milieu alcalin de la mixture phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) phosphomolibdique (H₃PMo₁₂O₄₀) du réactif de Folin par les groupements oxydables des composés phénoliques, conduisant à la formation de produits de réduction de couleur bleue (oxyde de tungstène et de molybdène). Ces derniers présentent un maximum d'absorption à 765 nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité des phénols présents dans les extraits végétaux (Georgé et *al.*, 2005).

a) Mode opératoire

Dans deux tubes à essai, un volume de 1 ml des solutions d'extraits à différentes concentrations sont ajoutées à 1ml de réactif de Folin-Ciocalteu (10%), après 5 min, une quantité de 375 µl de carbonates de sodium (7,5%) est additionnée ensuite le mélange est laissé réagir 2 heures à température ambiante. Une lecture est faite à 750 nm. L'acide gallique (0-200 µg/ml) est utilisé comme standard pour établir la courbe d'étalonnage. Toutes les opérations sont réalisées en duplicata.

La teneur en polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage ; elle est exprimée en microgramme d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG/mg d'extrait).

3.1.2 Dosage des flavonoïdes

La méthode du trichlorure d'aluminium (AlCl₃) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les différents extraits (Bahorun et *al.*, 1996).

a) Mode opératoire

Un volume égal à 1 millilitre de la solution méthanolique de trichlorure d'aluminium $AlCl_3$ (2 %) est ajouté à 1 ml de la solution de l'échantillon (extraits ou standard) contenant différentes concentrations, le mélange est laissé réagir pendant 10 min puis la lecture est faite à 430 nm.

Toutes les opérations sont réalisées en duplicata.

La quantité des flavonoïdes contenue dans l'extrait est calculée à l'aide d'une gamme d'étalonnage en utilisant la quercétine comme standard. Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalents de quercétine par milligramme d'extrait (μg EQ/mg d'extrait).

4. Tests des activités biologiques

3.1.3 Activité antioxydante

a) Test de DPPH

L'activité antiradicalaire des différents extraits, est évaluée par le test au 2,2-diphényl-2-Picryl-hydrazyle (DPPH.); elle est réalisée par la méthode décrite par (Blois. 1958).

Dans ce test, les antioxydants réduisent le diphényl picrylhydrazyl (DPPH) ayant une couleur violette en un composé jaune. L'intensité de la couleur de DPPH est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Sanchez-Moreno, 2002).

- **Mode opératoire**

à 1,5 ml de la solution méthanolique de DPPH (0.1mM) est ajouté 1,5 ml des solutions des deux extraits à différentes concentrations après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, les absorbances sont mesurées à 517 nm contre le blanc correspondant.

Toutes les opérations sont réalisées en duplicata.

Le pourcentage de l'activité anti-radicalaire est calculé selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'activité antioxydante} = [\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon} / \text{Abs contrôle}] \times 100.$$



Résultats et discussions

I. Resultats

Analyse quantitative

4.1.1. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux des extraits de fruits de *Crataegus azarolus* a été effectuée par la méthode au réactif de Folin-Ciocalteu. C'est l'une des méthodes les plus anciennes conçue pour déterminer la teneur en polyphénols. La Quantité des polyphénols correspondante de chaque extrait a été rapportée en microgramme D'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait).

Les teneurs en polyphénols totaux (Fig.) des extrais de chloroforme et d'éthanol sont 237.59 ± 0.17 EAG/mg ; 295.76 ± 0.219 EAG/mg EAG/mg d'extraits respectivement.

Les résultats sont représentés dans Tableau.

Tableau 1 :Teneurs en polyphénols totaux dans * Crataegus azarolus *

Extrait	Teneur
Chloroforme	237.59 ± 0.17
Ethanol	295.76 ± 0.219

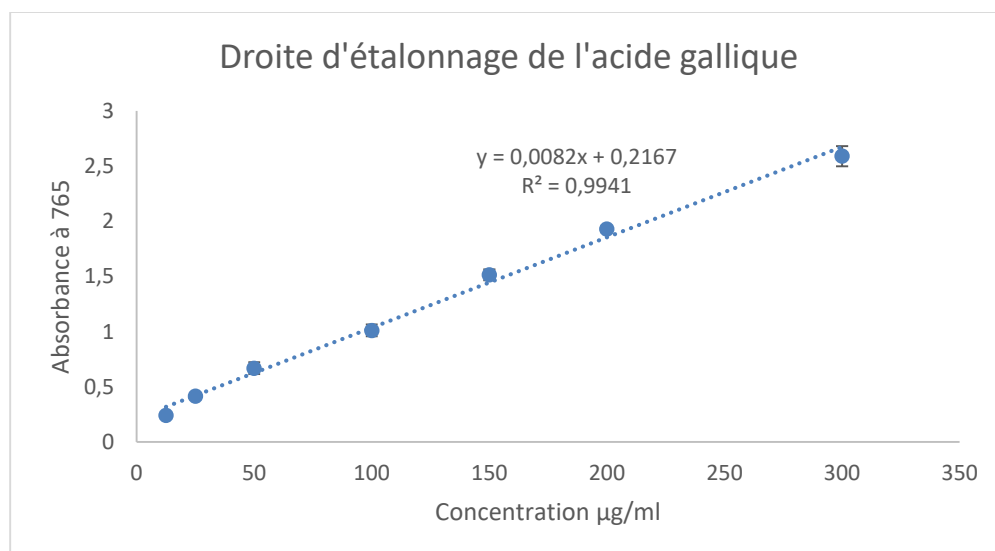


Figure 5: Droite d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

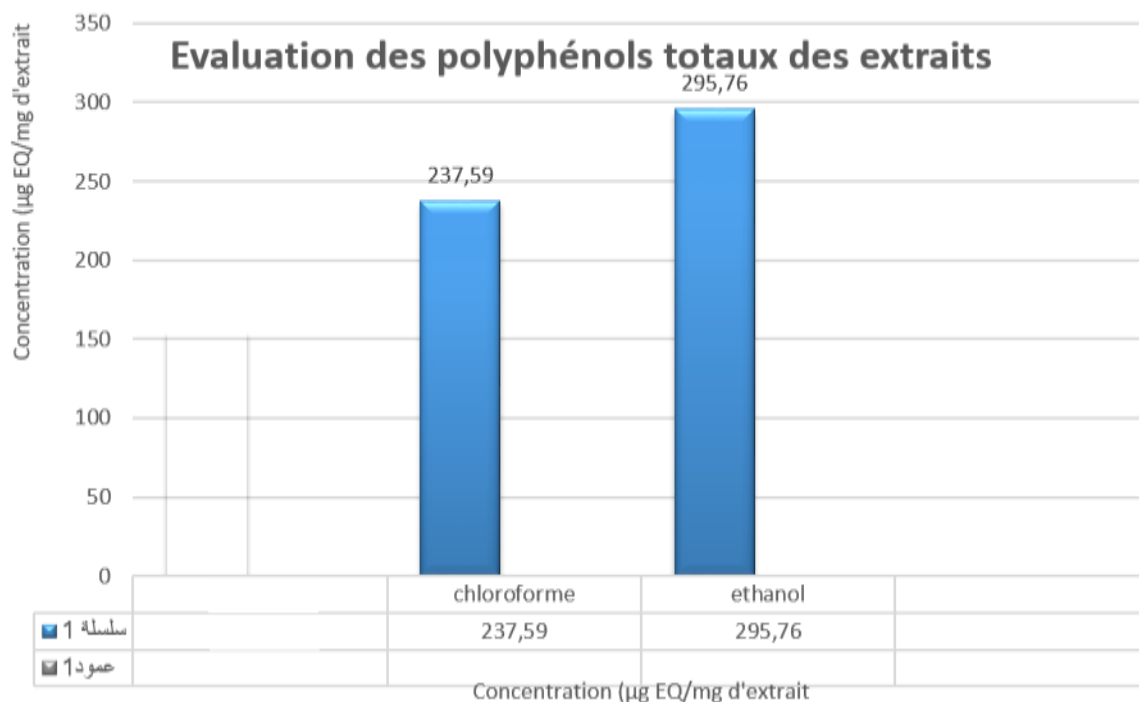


Figure 6: Evaluation des polyphénols totaux

4.1.2. Dosage des Flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode au trichlorure d'aluminium et L'étalon été la quercétine. La teneur en flavonoïdes est exprimée en microgramme d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait (µg EQ/mg d'extrait).

Les teneurs en flavonoïdes sont de 65.26 et 0.0055µg EQ/mg d'extrait de chloroforme et 38.59 et 0.005 d'extrait d'éthanol.

Tableau 2 : Teneurs en flavonoïdes totaux dans les extraits de Crataegus azarolus

Extrait	Teneur
Chloroforme	65.26±0.0055
Ethanol	38.59±0.005

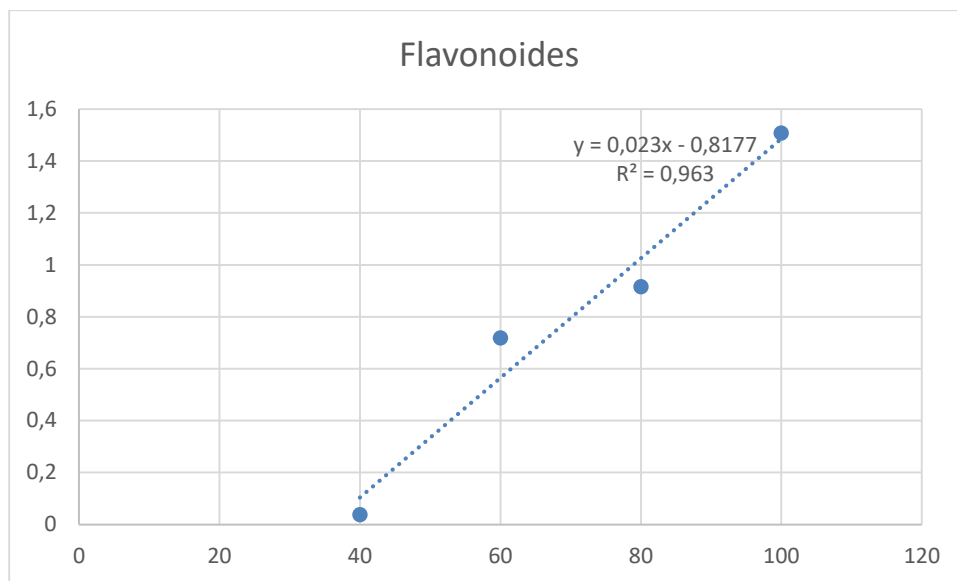


Figure 7: Droite d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes. (Moyenne ±(Moyenne ± SD de deux mesures).

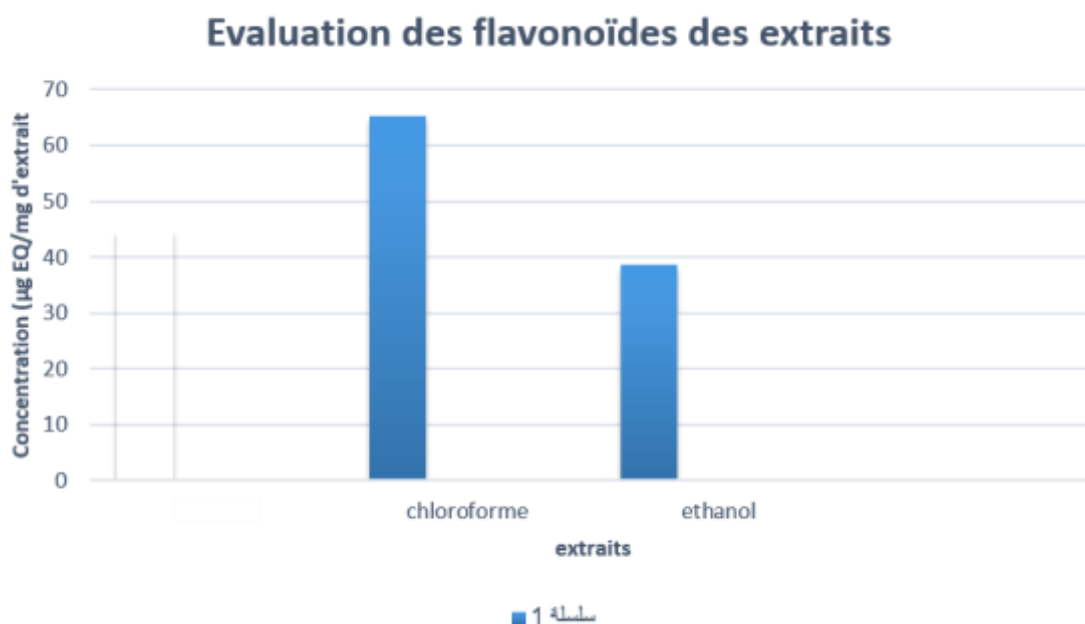


Figure 8: Evaluation des flavonoides des extraits

1.2. Activité biologique

1.2.1 Activité antioxydante

a) Test de DPPH

L'activité antioxydant de nos extraits a été évaluée par la méthode du radical 2,2-diphényl-1 picrylhydrazyle (DPPH). Cette méthode est basée sur la réduction d'une solution alcoolique

De DPPH en présence d'un antioxydant qui donne un hydrogène ou un électron (Bortolomeazzi et al., 2007).

L'activité antioxydante des extraits est exprimée en CI50 (Tableau 7). Ce paramètre a été employé par plusieurs groupes de chercheurs pour présenter leurs résultats, il définit la concentration de l'extrait exigée pour réduire 50% de DPPH en solution. Les valeurs de l'CI50 sont déterminés graphiquement (Fig 09), dont l'abscisse représente la concentration de l'extrait brut et l'ordonné l'activité antioxydante en pourcentage.

Les résultats obtenus montrent que les extraits de *Crataegus azarolus* ont une activité antiradicalaire concentration dépendante . Elle est de 668.175375 ± 0.001 pour les extraits de chloroforme et 151.05 ± 0.05 pour les extraits d'éthanol .

Tableau 3: Les valeurs des CI50 des extraits de crataegus azarolus Les valeurs représentent la moyenne de trois essais \pm SD.

Extrait	CI 50 $\mu\text{g/ml}$
Ethanol	151.05 ± 0.05
Chloroforme	668.175375 ± 0.001

BHT :

BHT: IC50 = $19.55 \pm 0,028 \mu\text{g/ml}$

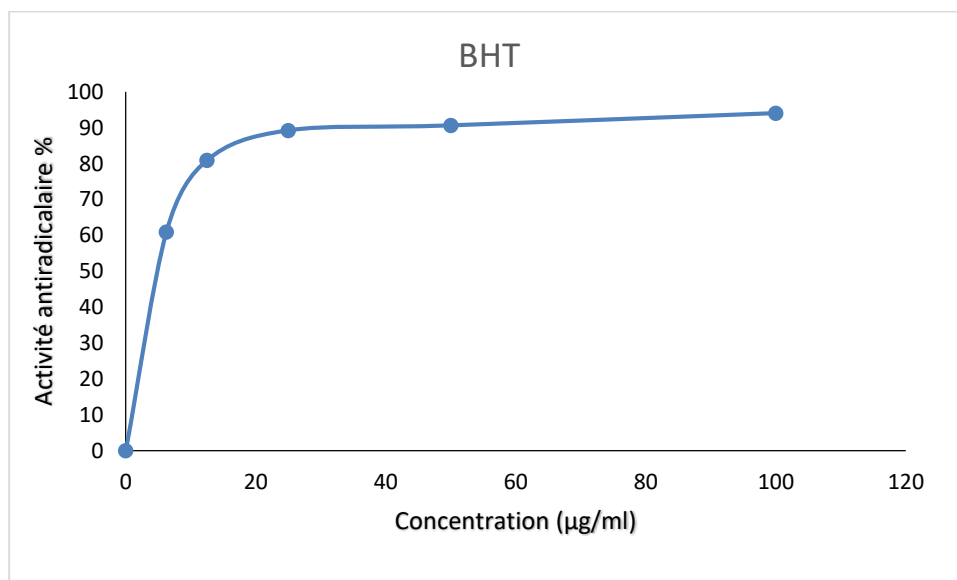


Figure 9: Diagramme de BHT

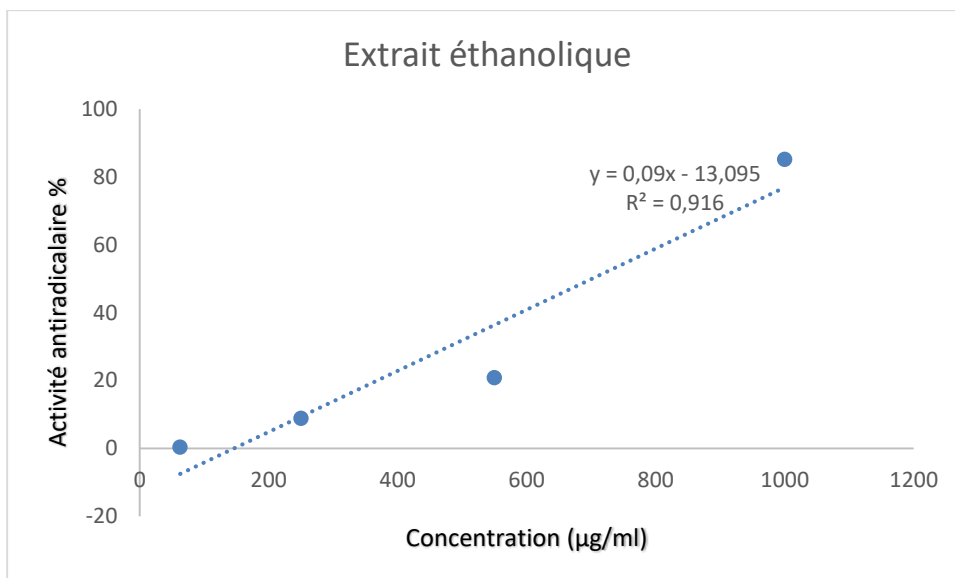


Figure 10: Droite d'étalonnage pour l'extrait methanolique

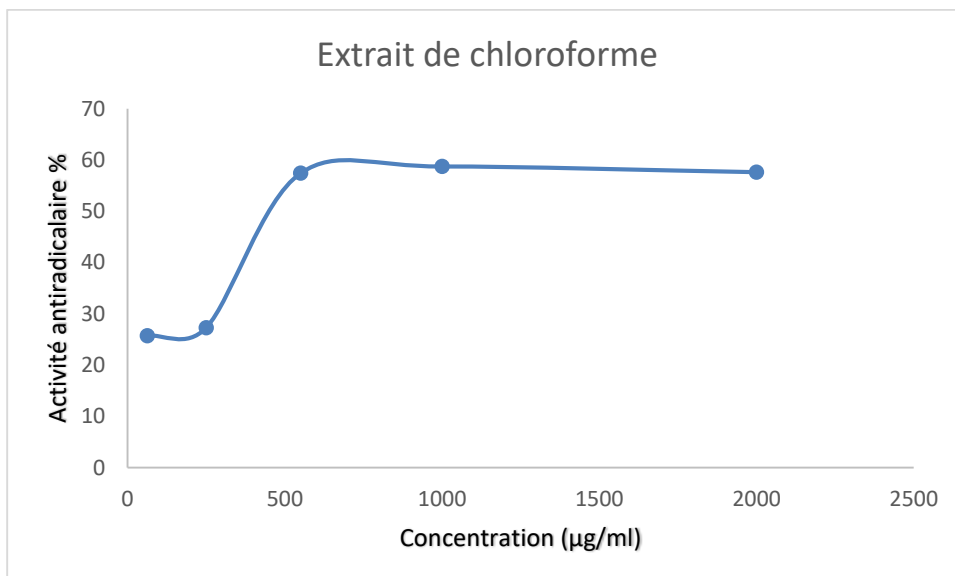


Figure 11: Droite d'étalonnage pour l'extrait de chloroforme



Discussions

II. Discussion

1. Rendements de l'extraction

Le degré de solubilité des métabolites est attribué à leur contenu chimique, ce dernier varie de composés simples à composés polymérisés. Dans la matière végétales il peut exister des quantités variables de métabolite secondaire tel que les acides phénoliques, les anthocyanines, les flavonoides et les tanins. Cette diversité structurale est responsable de la grande variabilité des propriétés physico-chimiques qui influence l'extraction des métabolites actifs. Entre autre, la solubilité des composés phénoliques est affectée par la polarité du solvant utilisé par conséquent, il est très difficile de développer un procédé d'extraction approprié à l'extraction de tous les composés de la plante (Mahmoudi *et al.* 2013).

2. Analyses quantitatives des extraits

L'étude quantitative des extraits bruts de *Crataegus azarolus* au moyen des dosages spectrophotométriques, avait pour objectif la détermination de la teneur des polyphénols Totaux et les flavonoïdes.

2.1. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols est estimée par la méthode utilisant le réactif de Folin-ciocalteau. Ce réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique(H₃PM₁₂O₄₀). Il est réduit par les phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (Talbi *et al.*, 2015).

L'extrait éthanolique représente l'extrait le plus riche en polyphénols ce qui réfère le plus probable à la solubilité relative des polyphénols dans l'éthanol et l'eau respectivement.

En fait, la solubilité des polyphénols dépend de type de solvant utilisé, leur degré de polymérisation ainsi que de leur interaction avec d'autres constituants et la formation de complexes insolubles. Pour une plus haute récupération de polyphénols, le méthanol est le solvant approprié (Falleh *et al.*, 2008).

2.2. Dosage des flavonoïdes

La détermination qualitative des flavonoïdes s'effectue par la méthode de trichlorure d'aluminium($AlCl_3$), puisque plus employé, elle se base sur la formation d'un complexe flavonoïde-ion d'aluminium, ayant une absorbance maximale à 430nm.

Les résultats de dosages des flavonoïdes montrent que la teneur des flavonoïdes est faible dans les deux extraits,

2.3. Activité biologique

2.3.1. Activité antioxydante

2.3.1.1. Test de DPPH

L'activité antiradicalaire des différents extraits est évaluée par le test au DPPH, celui-ci est souvent utilisé pour à raison de la rapidité des résultats, comme il est très adopté dans les systèmes antioxydants hydrophile et lipophile. ((Y.Cai et *al.*, 2004).

Tous les extraits ont un pouvoir anti-radicalaire envers le DPPH.

Parmi les deux extraits *Crataegus azarolus* l'extrait d'éthanol représente l'extrait le plus actif avec une CI_{50} de l'ordre de $151.05 \pm 0.05 \mu\text{g/ml}$, tandis que l'extrait de chloroforme montre une activité antiradicalaire très faible.

La comparaison de ces valeurs avec celles des antioxydants standards, montrent que les deux extraits sont moins actifs que les standards utilisés (BHA, quercétine, acide ascorbique) dont les valeurs de l' CI_{50} sont de l'ordre de 23.625, 5.568, 9,339 $\mu\text{g/ml}$ respectivement.



Conclusion

Conclusion

La connaissance et l'usage des plantes constituent un vrai patrimoine de l'être humain. Leur importance dans le domaine de la santé publique est très accentuée dans ces dernières années grâce aux thérapeutiques qu'elles procurent.

De nos jours les plantes médicinales restent l'une des sources les plus utilisées pour fabriquer des remèdes utilisés dans le traitement de différentes maladies.

(*Crataegus azarolus*) est un arbre fruitier du genre *Crataegus*, les rendements des extractions montrent que le rendement de l'extrait éthanolique est supérieur à celui de l'extrait aqueux.

Les résultats de l'analyse quantitative montrent que l'extrait éthanolique est riche en composés polyphénoliques, tandis que l'extrait de chloroforme possède une faible teneur en raison de leur solubilité plus élevée dans l'éthanol. Les résultats de dosage des flavonoïdes expose que la meilleure teneur est présentée par l'extrait de chloroforme. Par ailleurs, les deux extraits montrent une faible inhibition vis-à-vis du radical DPPH.

Des études sur d'autres extraits en utilisant d'autres solvants organiques sont nécessaires, comme elles doivent renforcer par d'autres méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante. Les études de la composition chimique des différents extraits ainsi que l'étude *in vivo* sont souhaitables pour mieux comprendre le processus de l'activité antioxydante.



Références

Bibliographique

References bibliographique

- **Abudunia, A. M., Marmouzi, I., Faouzi, M. E. A., Ramli, Y., Taoufik, J., El Madani, N., ... & Ibrahimi, A. (2017).** Anticandidal, antibacterial, cytotoxic and antioxidant activities of *Calendula arvensis* flowers. *Journal de mycologie medicale*, 27(1), Pp.90-97.
- **Adouane S., 2016** – Etude ethnobotaniques des plantes médicinales dans la région méridionale des Aurès. Mémoire de magister, Univ mohamed khider, Biskra.
- **Ali, M. B., Hahn, E. J., & Paek, K. Y. (2007).** Methyl jasmonate and salicylic acid induced oxidative stress and accumulation of phenolics in *Panax ginseng* bioreactor root suspension cultures. *Molecules*, 12(3), Pp.607-621.
- **Ameenah, Abu, and Bilal Philips.** "The Evolution Of Fiqh." *Islamic Book service. New Delhi. India* (2006).
- **Attou, A. (2011).** Contribution à l'étude phytochimique & activités biologiques des extraits de la plante *Ruta chalepensis* (fidjel) de la région d'Ain Témouchent. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de magister en biologie, université Abou Bekr belkaid Tlemcen, Pp.9-15.
- **Baba Aissa F. (1999).** Encyclopédie des plantes utiles, Flore d'Algérie et du Maghreb. Rouiba:235-236.
- **Bahorun T., Gressier B., Troitin F., Brunete C., Dine T., Vasseur J., Gazin J.C., Pinkas M., Luycky M., Gazin M., 1996.** Oxygen species scavenging activity of phenolic extract from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparation. *Arzeimittel-Forschung*, 46: 1086-1089.
- **Bahorun, T., Gressier, B., Troitin, F., Brunete, C., Dine, T., Vasseur, T., Gazin, TC., Pinkas, M., Luycky, M., Gazin, M. (1996).** Oxygen species scavenging activity of phenolic extract from Hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparation. *Arznei Forschung*. 46. 1086-1089.
- **Benayache, F. (2013).** Étude phytochimique et biologique de l'espèce *thymus numidicus* Poiret. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de magister en chimie organique, université Constantine 1, Pp.23-34.
- **Bignami C., Poalocci A., Scossa A., Bertazza G., 2000.** Preliminary evaluation of nutritional and medicinal component of *Crataegus azarolus* fruits. *Journal of food Enginnering*, 5: 241-247.
- **Birt D. F., Hendrich S., Wang W., 2001.** Dietary agents in cancer prevention: flavonoids and iso flavonoids. *Pharmacology & therapeutics*. 90: 157-177.
- **Boizot, N, et J-P Charpentier. (2006).** *Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier*. Le cahier des Techniques de l'Inra. pp79.
- **Bortolomeazzi, R., Sebastianutto, N., Toniolo, R., Pizzariello, A. (2007).** Comparative evaluation of the antioxidant capacity of smoke flavouring phenols by crocin bleaching inhibition, DPPH radical scavenging and oxidation potential. *Food Chemistry*. 100. 1481- 1489.
- **Brosse J., 2000.** Larousse des arbres et des arbustes. Larousse (Ed). Canada, 576p.
- **Bruneton J., 1999.** Pharmacognosie phytochimie, plantes médicinales, (3e éd). Tec & Doc (Ed). Paris, 1120 p.
- **Chaboussou AD, Chabauty A. (2013).** Modes opératoires des extraits végétaux en viticulture biologique. *L'Agriculture Biologique en pays de la Loire*: 1-4.

- **Chang P., Xub S., 2003.** -C-glucoside flavonoids from the leaves of *Crataegus pinnatifida* bge. var. major n.e.br. *Journal of Asian Natural Products Research*, **5**(2): 131-136
- **Chavan U-D., Shahidi F., Naczk M., 2001.** Extraction of condensed tannins from beach pea (*Lathyrus maritimus* L.) as affected by different solvents. *Food Chemistry*, **75**: 509-512.
- **Couplan F., 2000.** Dictionnaire Etymologique de Botanique. Delachaux et Nestlé(Ed). Paris,283p.
- **DELILLE L., 2007** - Les plantes médicinales d'Algérie. Éd.BERTI, Alger, 122 P
- **DJEDDI S., 2012** - Les huiles essentielles "Des mystérieux métabolites secondaires": Manuel de formation destiné aux étudiants de Master. ED. Presses Académiques Francophones Grèce, 64 p.
- **Dzhangaliev A. O., Salova T. N. AND Turekhannova P. M., 2002.** The wild fruit and nut plants of Kazakhstan. Horticultural Reviews, *Jules Janick Kazakhstan*, **29**, 306p.
- **Espiard E., 2002.** Introduction à la transformation industrielle des fruits. Tec &Doc (Ed). Paris, 360p.
- **Falleh H, Ksouri R, Chaieb K, Karray-Bouraoui N, Trabelsi N, Boulaaba M and Abdelly C. (2008).** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*. 331. 372-379.
- **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), Pp.372-379.
- **Ferhat R., 2008.** Etude de la fraction lipidique et la composition en acides gras des fruits de : *Celtis australis* L., *Crataegus azarolus* L., *Cratagus monogyna* Jacq., *Elaeagnus angustifolia* L et *Ziziphus lotus* L. Mémoire de Magister. Université El Hadj-Lakhder. Batna,102p.
- Ganesan, Kumar, and Baojun Xu. "A critical review on polyphenols and health benefits of black soybeans." *Nutrients* 9.5 (2017): 455.
- **Georgé, S., Brat, P., Alter, P., Amiot, J.M. (2005).** Rapid determination of polyphénols and vitamin C in plant-derived products. *Journal of Agricultural and food chemistry*. 53. 1370-1373.
- **Ghedira K., 2006.** La nigelle cultivée: *Nigella sativa* L. (Ranunculaceae). *Phytothérapie*,**4**: 1-7.
- **Grieve A., 2003.** A Modern Herbl. Vol 1. Jonathan (Ed). Great, Britain, 566p.
- **Guignard J.L.;Cosson L.et Henry H., 1995** : Abrégé de phytochimie ;Hasson. 224p.
- **Harbone J.B., 1998** : Phytochemical Methods : A guide to moderne techniques of plant analysis 3e ed. :chapman and hill.1998. 303p.
- **Heim E. k., Tagliaferro A. R., Bobilya D. J., 2002.** Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. **13**: 572-584.
- **Hopkins W.G., 2003** – Physiologie végétale. Ed.Boeck et Lancier SA, Paris,514 p.
- **Iserin P., 2001-** Encyclopédie des plantes médicinales. Ed.Larousse-bordas,
- **Javed, F., Jabeen, Q., Aslam, N., & Awan, A. M. (2020).** Pharmacological evaluation of analgesic, anti-inflammatory and antipyretic activities of ethanolic extract of *Indigofera argentea* burm. F. *Journal of Ethnopharmacology*, 112966.
- **Judd W.S. ; Campbell C.S. ; Kellogg E.A. et Stevens P., 2002** : Botanique Systématique: une perspective phylogénétique; Ed 1: DEBOECK; p: 84-336.

- **Khettaf, abdelkrim., nacera, belloula., seloua, dridi. (2016).** Antioxidant activity, phenolic and flavonoid contents of some wild medicinal plants in southeastern Algeria. *African journal biotechnology*. 15(13). 524-530.
- **King A and Young G., 1999.** Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. *Journal of the American dietetic association*, **99**: 213-218.
- **Kraft K, Hobbs C. 2004.** Pocket guide to herbal medicine: Georg Thieme Verlag. Germany l'espece centaurea africana. Mémoire de magister, Univ. Constantine, 8 p.
- **Lehmann, Winfred P. 2013** *Historical linguistics: An introduction*. Routledge,
- **Macheix J.J., Fleuriet A. et JAY-allemend C., 2005** – Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaire d'importance économique. Ed. Presses polytechnologiques et universitaires romandes, France, 192 p.
- **Madhavi D.L. et al; 1996;** Food antioxidants; Ed: CRC PRESS; p: 361- 460.
- **Mahmoudi, Souhilaa., Khali, Mustaphaa., Mahmoudi., Nacéra. (2013).** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus L.*). Revue « Nature & Technologie ». *B- Sciences Agronomiques et Biologiques*. 35-40.
- **Mansour A ., 2009** – Investigation phytochimique de l'extrait n-butanol de
- **Marceau Perry. 2013** Enquête sur les principales demandes en officines. (Thèse)
- **MARSCHNER H., 1995** - Mineral nutrition of higher plants. Second Edition, Academic Press Inc, 889 p.
- **Mazzocchi J., Dalioche G., Frenot U., 1999.** Glaner dans le midi. Tetrass (Ed). Paris, 169p.
- **Messaili B., 1995.** Botanique, Systématique des spermaphytes. OPU (Ed). Alger, 91p.
- **Middleton E., Kandaswami C., Thioharidies T. C., 2000.** The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacological reviews*. **52**: 673-751..
- **Okuda T., 2005.** Systematics and health effects of chemically distinct tannins in medicinal plants. *Phytochemistry*, **66**: 2012-2031.
- **Ozcan M., Haciseferogullari H., Maracoglu T., Arslan D., 2005.** Hawthorn (*crataegus spp.*) fruit: some phesical and chemical properties. *Journal of food Enginerring*, **68**: 409-413.
- **Paris M. et Hurabielle M., 1980** : Abrégé de Matière Médicale (Pharmacognosie), *Tome I Paris*.
- **Pelloti A., 1987.** Fleurs et plantes médicinales. Delachaux et Nestle (Eds). Paris, 191.
- **Peronny S., 2005.** La perception gustative et la consommation des tannins chez le MAKI (Lemur Catta). These de Doctorat du Museum national d'histoire naturelle. Discipline Eco- Ethologie. 151p.
- **Pietta P.G., 2000.** Flavonoids as antioxidants. *Journal of natural products.*, **63**: 1035-1042.
- **Quezel P. et Santa S., 1962.** Nouvelle flore de l'Algerie et des regions desertiques Méridionales. Tome1. Centre National de la Recherche scientifique (Ed). Paris, 566p.
- **Remesy C., Manach C., Demigne C., Texier O., Regeat F., 1996.** Intérêt nutritionnelle des flavonoïdes. *Méd & Nut.* **32**(1): 17-27.
- **Ren, M., Xu, W., Zhang, Y., Ni, L., Lin, Y., Zhang, X., & Huang, M. (2020).** Qualitative and quantitative analysis of phenolic compounds by UPLC-MS/MS and biological activities of *Pholidota chinensis* Lindl. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 113350.
- **Rice-Evans C. A. et Packer L., 1998:** Flavonoids in Heatth and Disease; Ed: MARCEL DEKKER; p: 61- 160.

- **Saadoudi M., 2008.** Etude de la fraction glucidique des fruits de : *Celtis australis* L., *Crataegus azarolus* L., *Crataegus monogyna* Jacq., *Elaeagnus angustifolia* L et *Ziziphus lotus* L. Mémoire de Magister. Université El Hadj-Lakhder, Batna, 80p.
- **Saija A., Scalse M., Lanza M., Marzullo D., Bonina F., Castelli F., 1995.** Flavonoids as antioxidant agents importance of their interaction with biomembranes. *Free radical biology & medicine*, **19**: 481-486.
- Salhi S., Fadli M., Zidane L., Douira A. (2010). Etudes floristique et ethnobotanique des plantes médicinales de la ville de Kenitra (Maroc). *Lazaroa*, **31**, 133-146.
- **Sanchez-Moreno, C. (2002).** Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in food and biological systems. *International Journal of Food Science and Technology*, **8**. 121-137.
- **Singleton, V. L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R. M. (1999).** Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-ciocalteu Reagent. *Methods Enzymol.* 152-177.
- **Skerget M., Kotnik P., Hadolin M., Rizner Hars A., Smonic M., Knez Z., 2005.** Phenols, proanthocyanidines, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food chemistry*, **89**: 191-198.
- *spp.*) fruit: some phesical and chemical properties. *Journal of food Enginnering*, **68**: 409-413.
- **Talbi, H., Boumaza, A., El-mostafa, K., Talbi, J., Hilali, A. (2015).** Extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L. (Evaluation of antioxidant activity and physico-chemical composition of methanolic and aqueous extracts of *Nigella sativa* L. *Mater. Environ. Sci.* **6** (4). 1111-1117.
- **Ulomskiy, E. N., Ivanova, A. V., Gorbunov, E. B., Esaulkova, I. L., Slita, A. V., Sinegubova, E. O., ... & Gerasimova, E. L. (2020).** Synthesis and biological evaluation of 6-nitro-1, 2, 4-triazoloazines containing polyphenol fragments possessing antioxidant and antiviral activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 127216.
- **Urbonavieituté V.J., Jakstas O., Karnisova O., Janulis V. and Maruska A., 2006.** Capillary electrophoretic analysis of flavonoids in single-styled hawthorn (*Crataegus monogyna* jacq.) ethanolic extracts. *Journal of chromatography "A"*, **11**(12): 339-344.
- **Wichtl M., Anton R.** Plantes thérapeutiques – Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique, 2ème édition, Ed. TEC & DOC, 2003.
- **Wichtl M., Anton R., 2009.** Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Édition LAVOISIR, Paris: 38, 41
- **Yang, Q. Q., Farha, A. K., Cheng, L. Z., Kim, G., Zhang, T., & Corke, H. (2020).** Phenolic content and in vitro antioxidant activity in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) are not directly related to anti-proliferative activity. *Food Bioscience*, 100662.
- **Zimmer N et Cordesse R. 1996.** Influence des tannins sur la valeur nutritive des aliments des ruminants. (Ed) INRA Prod Anim, **9**: 167-179.

Résumé

L'objectif de cette étude est porté à évaluer les activités biologiques des extraits d'une plante médicinale de la famille des actereaceae. L'analyse quantitative des extraits aqueux et éthanolique révèle que les extraits éthanoliques sont relativement riche en polyphénols ($295.76 \mu\text{g EAG/mg}$), alors que les extraits aqueux contiennent une faible concentration ($237.59 \mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait). La teneur des flavonoïdes dans les extraits éthanoliques et aqueux est $38.59, 65.29 \mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait respectivement.. Par ailleurs les deux extraits ont montré une forte activité anti-radicalaire vis-à-vis du radical DPPH avec des CI 50 de l'ordre de $886.17, 151.05 \mu\text{g/ml}$ pour les extraits éthanoliques et aqueux respectivement.

Mots clés : *Crataegus azarolus*, polyphénols, flavonoïdes, activité antioxydante, activité antiradiculaire

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم الأنشطة البيولوجية لمستخلصات نبات طبي من عائلة actereaceae. تكشف المستخلصات المائية والإيثانولية أن المستخلصات الإيثانولية غنية نسبياً بالبوليفينول (295.76 ميكروغرام / EAG ملغ)، بينما تحتوي المستخلصات المائية على نسبة منخفضة تركيز (237.59 ميكروغرام / EAG ملغ من المستخلص. (محتوى الفلافونويد في المستخلصات الإيثانولية والمائية $38.59.65.29$ ميكروغرام من EQ / mg من المستخلصات الإيثانولية والمائية $38.59.65.29$ ميكروغرام من EQ / mg من المستخلصات الإيثانولية والمائية هي $38.59.65.29$ ميكروغرام من EQ / mg من المستخلص بالإضافة إلى ذلك، أظهر المستخلصان نشاطاً قوياً مضاداً للجذور ضد جذور DPPH مع قيم CI 50 حوالي $886.17, 151.05$ ميكروغرام / مل للمستخلصين الإيثانولي والمائي على التوالي.

الكلمات المفتاحية: *Crataegus azarolus*، بوليفينول، فلافونويد، نشاط مضاد للأكسدة، نشاط مضاد للجذر