

**UNIVERSITE ABDERRAHMANE MIRA DE BEJAIA.**

**FACULTE DE TECHNOLOGIE.**

**Département de Génie Des Procédés**

**Mémoire de fin de Cycle**

**En vue de l'obtention du diplôme de Master en Génie Des Procédés**

**Option : Génie Pharmaceutique**

**Thème**

**Contribution à l'étude de l'activité Anti-Oxydante  
de la plante *Crataegus Monogyna Jacq* (Aubépine).**

**Réalisés par**

**1- BELKACEMI Thanina.**

**2- BISKRI Dyhia.**

**Membres du Jury**

Pr.BELKACEMI.H,

Dr.BELHADJ.N,

**Encadreur** : Mr. BELHAMEL Kamel,

**Co-Encadreur**: Mme. BELHAMEL Chiraz,

# Remerciements

*Au terme de ce modeste travail, on tient à remercier tout d'abord le Bon Dieu qui nous a donné le courage et la patience pour élaborer ce travail. Et tous qui sont de*

*loin et de près en particuliers :*

*A notre Encadreure, Mr. BELHAMEL pour avoir accepté notre encadrement et pour ses nombreux conseils précieux ;*

*A mme BELHAMEL.C qui nous a suivis tout au long de ce travail ;*

*Nous tenons à remercier aussi :*

*Madame BELHADJ N., de nous avoir fait l'honneur d'examiner ce travail,  
Madame BELKACEMI H. de nous avoir consacré de son temps en nous faisant  
l'honneur de présider le jury et d'évaluer notre travail*

*Nos sincères sympathies à tous les membres de nos familles respectives, nos amis  
ainsi que tous ceux qui ont contribué à la finalisation de ce travail ;*

*Avous tous Merci.*

# DEDICACE

*Je dédie ce mémoire à mes très chers parents qui ont toujours été là pour moi, et qui m'ont soutenu tout au long de mes études ;*

*A mes sœurs Tinhinane & Céline, mon frère Massinissa ;*

*A ma nièce Joanna ;*

*Mon beau frère Amine ;*

*A tous mes oncles et mes tentes paternels et maternels ;*

*A tous mes cousins et toutes mes cousines ;*

*A mes chers ami(e)s Rosa, Sabrina, Cylia, Yasmine, Nesrine, Latifa;*

*A ma binôme Thanina et toute sa famille ;*

*A tout ceux qui mon aidée de près et de loin pendant toute la durée de mon parcours éducatif.*

# *DEDICACE*

*Avec un cœur plein d'amour et de fierté je dédie ce  
modeste travail à :*

*Mes très chers parents pour leurs sacrifices, je leur serai  
éternellement reconnaissante.*

*Mes chères sœurs Samira, Kahina et Djagdjiga*

*Mes chers frères Idir, Louanes et Sofiane*

*Ma très chère nièce Thilelli*

*Mes très chers neveux Cyliane, Aylimas et Astene*

*Ma belle sœur Basma*

*Mon beau frère Omar*

*Ma binôme Dyhia et toute sa famille*

*Mes amis, mes camarades, ainsi que tous ceux qui me  
connaissent*

*Et en mémoire de mon ami AYADI Houssam qui nous a  
quitté trop tôt.*

*Thanina.B*

# Liste des Figures

- **Figure N°01** : Présentation de l'espèce *Crataegus Monogyna Jacq* du village Tizi Ahmed, commune de Tichy, Béjaia. .... **03**
- **Figure N°02** : Présentation des feuilles et fruits du *Crataegus Monogyna* ..... **04**
- **Figure N°03** : Structure chimique des acides phénoliques ..... **14**
- **Figure N°04** : Structure chimique de base d'une molécule de flavonoïde ..... **15**
- **Figure N°05** : Structure d'un Tanin hydrolysable ..... **16**
- **Figure N°06** : Structure d'un Tanin condensé ..... **16**
- **Figure N°07** : Structure de quelques Coumarines ..... **17**
- **Figure N°08** : Présentation des fruits de *Crataegus Monogyna* séchés et broyés. .... **20**
- **Figure N°9** : Présentation des feuilles de *Crataegus Monogyna* séchés et broyés ..... **21**
- **Figure N°10** : Les fruits de *Crataegus Monogyna* après tamisage ..... **21**
- **Figure N°11** : Des feuilles de *Crataegus Monogyna Jacq* après tamisage ..... **22**
- **Figure N°12** : L'extrait finale de l'aubépine après extraction ..... **23**
- **Figure N°13** : Schéma récapitulatif du dosage des poly-phénols totaux. .... **24**
- **Figure N°14** Teneur en polyphénols totaux dans les extraits fruits et feuilles de *Crataegus Monogyna* ..... **29**
- **Figure N°15** : Activité antiradicalaire des extraits de fruits et de feuilles de *Crataegus Monogyna* ..... **30**

- **Figure N°16 :** Activité antioxydante utilisant le fer ferrique des extraits de fruits et de feuilles de *Crataegus Monogyna*..... **31**
- **Figure N°17 :** Activitéantioxydante utilisant le phosphomolybdate d’ammoniumdes extraits de*Crataegus Monogyna*..... **32**
- **Figure N°18 :** La spectrophotométrie IR de l'extrait méthanolique aqueux de fruit. .... **33**
- **Figure N°19 :** Spectrophotométrie IR de l'extrait aqueux de fruit ..... **34**
- **Figure N°20 :** Spectrophotométrie IR de l'extrait méthanolique de fruit..... **35**
- **Figure N°21 :** Spectrophotométrie IR de l'extrait méthanolique aqueuxde feuilles..... **36**
- **Figure N°22 :** Spectrophotométrie IR de l'extrait méthanolique de feuilles ..... **37**
- **Figure N°23 :** Spectrophotométrie IR de l'extrait aqueux de feuilles. .... **38**

# *Liste des Tableaux*

- **Tableau I:** Noms Vernaculaires de l'Aubépine..... **04**
- **Tableau II :** Constituants chimiques de la partie comestible du *Crataegus monogyna* .. **06**
- **Tableau III :** Composition chimique de la partie charnue du fruit de *Crataegus monogyna* ..... **07**
- **Tableau IV :** Propriétés Chimiques de l'Aubépine ..... **08**
- **Tableau V :** Les trois grandes classes de métabolites secondaires..... **11**
- **Tableau VI :** Classification des composés phénoliques selon le nombre de carbone ..... **12**
- **Tableau VII :** Caractéristiques écologiques du lieu de récolte. .... **20**

# Sommaire

Liste des Figures

Liste des tableaux

INTRODUCTION GENERALE..... 01

## Chapitre I : Recherche Bibliographique.

I.1. Présentation de l'espèce <i>Crataegus Monogyna Jacq.</i> .....	02
I.1.1 : Etude bibliographique de <i>Crataegus Monogyna</i> .....	02
I.1.2 : Description botanique du <i>Crataegus Monogyna</i> .....	02
I.1.3 : Systématique de la plante.....	04
I.1.4 : Etymologie et appellations .....	04
I.1.5 : Localisation géographique de <i>Crataegus Monogyna Jacq</i> .....	05
I.1.6 : Utilisation traditionnelle de la plante.....	05
I.1.8 : Chimie de la plante .....	06
I.1.8.1 : Composition en métabolites primaires .....	06
I.1.8.2 : Composition en métabolites secondaires .....	08
I.1.8.2.1 : Dans les feuilles .....	08
I.1.8.2.2 : Dans les fruits.....	09
I.1.9 : Principales propriétés pharmacologiques de <i>Crataegus Monogyna Jacq</i> .....	09
I.1.9.1 : Cardiotonique .....	09
I.1.9.2 : Action sédative sur le système nerveux central.....	09
I.1.9.3 : Autres actions.....	10
I.1.10 : Toxicité .....	10
I.2 : Métabolites Secondaires et l'Activité Antioxydante.....	10

<b>I.2.1 : Généralités.....</b>	<b>10</b>
<b>I.2.2 : Classification des composés phénoliques.....</b>	<b>11</b>
<b>I.2.2.1 : Classification basée sur le nombre d’atomes de carbone.....</b>	<b>12</b>
<b>I.2.2.2 : Classification basée sur la répartition dans le monde végétal.....</b>	<b>12</b>
<b>I.2.2.3 : Classification basée sur la couleur.....</b>	<b>13</b>
<b>I.2.2.4 : Classification basée sue le squelette de base.....</b>	<b>13</b>
<b>I.2.2.5 : Classification basée sur la complexité.....</b>	<b>13</b>
<b>I.2.2.6 : Classification basée sur le nombre de noyau aromatique.....</b>	<b>13</b>
<b>6.1 : Acides phénoliques.....</b>	<b>13</b>
<b>6.2 : Flavonoïdes.....</b>	<b>14</b>
<b>6.3 : Anthocyanes.....</b>	<b>15</b>
<b>6.4 : Tanins.....</b>	<b>15</b>
<b>6.5 : Lignines.....</b>	<b>17</b>
<b>6.6 : Coumarines.....</b>	<b>27</b>
<b>I.2.3 : Activités Biologiques.....</b>	<b>17</b>
<b>I.2.3.1 : Activité Antioxydante.....</b>	<b>17</b>
<b>I.2.3.1.1 : Définition d’un Antioxydant.....</b>	<b>18</b>
<b>I.2.3.1.2 : Radicaux libres.....</b>	<b>18</b>
<b>I.2.3.1.3 : Stress oxydatif.....</b>	<b>18</b>
<b>I.2.3.1.4 : Mécanisme d’action des Antioxydants.....</b>	<b>19</b>

## **Chapitre II : Matériels et méthodes.**

<b>II.1 : Présentation de l’étude réalisée.....</b>	<b>20</b>
<b>II.2 : Prétraitement des échantillons.....</b>	<b>20</b>
<b>II.2.1 : Nettoyage, séchage et broyage.....</b>	<b>20</b>
<b>II.2.2 : Tamisage et conservation.....</b>	<b>21</b>
<b>II.3 : Extraction.....</b>	<b>22</b>

<b>II.3.1 : Extraction par macération à l'eau.....</b>	<b>22</b>
<b>II.3.2 : Extraction avec un solvant organique.....</b>	<b>22</b>
<b>II.3.3 : Extraction par Macération à l'Eau et avec un Solvant Organique.....</b>	<b>23</b>
<b>II.4 : Analyse chimique .....</b>	<b>23</b>
<b>II.4.1 : Dosage des poly-phénols totaux .....</b>	<b>23</b>
<b>II.4.2 : Activité antioxydante .....</b>	<b>25</b>
<b>2.1 :Test du radical au DPPH .....</b>	<b>25</b>
<b>2.2 : Mesure du pouvoir réducteur .....</b>	<b>25</b>
<b>2.3 : Test de phosphomolybdate d'ammonium .....</b>	<b>26</b>
<b>II.4.3 : Spectrophotométrie infrarouge (IR) .....</b>	<b>26</b>

### **Chapitre III : Résultats et discussions**

<b>III.1. Analyse chimique .....</b>	<b>28</b>
<b>III.1.1. Dosage des polyphénols totaux .....</b>	<b>28</b>
<b>III.1.2. Test au DPPH.....</b>	<b>29</b>
<b>III.1.3. Mesure du pouvoir réducteur .....</b>	<b>31</b>
<b>III.1.4. Test de phosphomolybdate d'ammonium.....</b>	<b>32</b>
<b>III.1.5. Spectrophotométrie infrarouge .....</b>	<b>33</b>
<b>CONCLUSION GENERALE.....</b>	<b>39</b>

#### **Références Bibliographiques**

#### **Annexes**



# *INTRODUCTION*

L'utilisation des plantes et des épices pour leur flaveur, leur propriété préservative et leur effet bénéfique sur la santé est connue depuis l'antiquité. Les plantes continuent d'être une source importante de composés pour la santé humaine et un grand intérêt s'est focalisé sur les plantes médicinales, concernant leur longue utilisation en médecine populaire, ainsi que leurs propriétés prophylactiques, principalement dans les pays en développement [1].

En Algérie, la population a recours à la médecine traditionnelle, en utilisant les plantes médicinales, dont le nombre est estimé à 3000 espèces, avec 15% qui sont endémiques. La valorisation de ces plantes demeure un domaine de grande importance pour le pays[2].

Ces plantes sont une source inépuisable de produits caractérisés par des propriétés thérapeutiques diversifiées utilisés dans le traitement de plusieurs maladies telles que les maladies inflammatoires, cardiovasculaires, neuro-dégénératives et les cancers.

L'aubépine dont sa variante l'aubépine Monogyne ( *Crataegus Monogyna Jacq.* ), un fruit très apprécié par la population algérienne et notamment par les enfants, est une plante médicinale couramment utilisée en phytothérapie pour ses propriétés sédatives, vasculoprotectrices et antioxydantes.[3]

Les substances naturelles issues de ce fruit ont des intérêts multiples mis au profit dans l'industrie, en alimentation et en pharmaceutique. Parmi ses composés on retrouve dans une grande mesure des métabolites secondaires qui sont illustrés en thérapeutique.

Le but de notre travail est de comparer l'évaluation de l'apport en substance à activité antioxydante, et la détermination du potentiel antioxydant des extraits de feuilles et de fruits du genre *Crataegus Monogyna*.

Ce travail est scindé en deux parties : initié par une étude bibliographique sur l'espèce étudiée en particulier, les principales classes des composés phénoliques (polyphénols, flavonoïdes, tannins, les coumarines, etc) ainsi que sur l'activité anti-oxydante de cette dernière. La deuxième partie expose les méthodes analytiques utilisées et les résultats obtenus ainsi que leurs discussions.



# *Chapitre I*

*Recherche Bibliographique*

### I.1. Présentation De l'Espèce *Crataegus Monogyna Jacq*

#### I.1.1 Etude Bibliographique de *Crataegus Monogyna Jacq*

*Crataegus* appartient à la famille des rosacées, il contient un nombre variable d'espèces allant de 150 à 1200[4].

Il a été rapporté que *Crataegus* est riche en métabolites secondaires tels que les Flavonoïdes, Tannins, Quercétine, Lutéoléine, Apigénine, Rutine, Hespéridine, Orientin, Isorientin, et Vitamine C [5].

Les Flavonoïdes, les Pro-Anthocyanidines et les Poly Phénols sont caractérisés par la présence des acides Penta-Cycliques, des Tri-terpénoïdes, des acides Phénoliques et des acides Aromatiques [6].

Les Pro-Cyanidines Oligomères, Flavonoïdes, Triterpènes, Polysaccharides, des Catécholamines ont été identifiés dans le genre du *Crataegus* et beaucoup de ces derniers ont été évalués pour leurs activités biologiques [7].

Des espèces de *Crataegus* ont été employées traditionnellement depuis l'antiquité. En outre la présence d'anti-oxydantes au sein de ces plantes explique amplement leurs effets thérapeutiques bénéfiques[8,9].

#### I.1.2. Description Botanique du *Crataegus Monogyna Jacq*.

Arbrisseau épineux très commun, de 1 à 4m de haut, souvent utilisé comme plante ornementale. Les rameaux, brun foncé, ligneux, ont un diamètre de 1 à 2,5 mm et portent des feuilles alternes, pétiolées. Ainsi que de nombreuses petites fleurs, blanches, disposées sur un même plan [7,10].

Les feuilles, plus ou moins profondément lobées, ont un bord légèrement denté ou presque entier, divisées en 3 ou 7 lobes acuminés. Leur face ad-axiale est vert foncé ou vert brun, leur face ab-axiale est d'un vert-gris plus clair et présente une nervation réticulée dense et saillante.

Les feuilles de *Crataegus Monogyna Jacq* sont dépourvus de poils ou en portent seulement des isolés. Les fleurs, très abondantes en mai, blanches, ont une odeur vive plutôt désagréable [6,10].

Elles comportent un calice tubulaire vert-brun composé de 5 sépales libres, réfléchis, une corolle formée de 5 pétales libres de couleur blanc, jaune ou brunâtre, arrondis ou approximativement ovales, brièvement ongiculés et de nombreuses étamines.

L'ovaire, soudé au calice, comporte 1 seul carpelle, surmonté d'un long style expliquant le nom de l'espèce, *Monogyna* et contient 1 seul Ovule.

Le fruit est couronné par les lobes du calice, c'est une drupe de petite taille (de 8 à 10 mm de long), charnue, de forme ovoïde, à la surface glabre, rouge ou jaunâtre (presque toujours rouge vif à maturité), une pulpe farineuse à 1 noyau (graine). Ce fruit est parfois appelé cenelle en français (figure n°01) [ 11-13].



**Figure n°01:**Présentation de l'espèce *Crataegus Monogyna* du village Tizi Ahmed, commune de Tichy, Béjaia.

### I.1.3. Systématique de la Plante

La classification Botanique de l'Aubépine *Monogyna* selon [14]; Est comme suit (figure n°02):

- **Embranchement** : Spermaphytes,
- **Sous-embranchement**: Angiospermes,
- **Classe** : Dicotylédones,
- **Sous-classe** : Dialypétales,
- **Série** : Calciflores,
- **Ordre** : Rosales,
- **Famille** : Rosacées,
- **Tribu** : Rosacées spontanées,
- **Genre** : *Crataegus*,
- **Espèce** : *Crataegus Monogyna Jacq.*



**Figure n°02:** Présentation des feuilles et fruits du *Crataegus Monogyna*

### I.1.4. Etymologies et Appellations

Dérivé du mot grec Kratos qui signifie la dureté du bois, l'aubépine est le nom commun de toutes les espèces végétales du genre *Crataegus* [15].

L'appellation de l'aubépine est différente dans tous les pays du monde et parfois même au sein de la même région (Tableau I).

**Tableau I :** Noms Vernaculaires de l'Aubépine.

Langues	Noms
Français	Epine blanche, Epine de mai, Valériane du cœur, Cenellier, Poire d'oiseau [16].
Berbère	Idhmim, Atelmen, Zaarour [17].
Arabe	Zaarour, Berri, Admam, Boumekhri, Baba aajina [18].
English	Hawthorn, Quick thorn [19].
Indian	Vansaangli [20].

### I.1.5. Localisation Géographique de *Crataegus Monogyna Jacq*

Dans le monde, *Crataegus Monogyna Jacq* occupe une aire très vaste comprenant toute l'Europe, l'Afrique du Nord et l'Asie occidentale jusqu'à l'Inde, et se trouve dans toute la France surtout le Midi (sud de la France)[11,21,22]. En Algérie, elle est commune dans les forêts et les maquis de l'Atlas Tallien, elle peut être confondue avec d'autres espèces [23].

### I.1.6. Utilisation Traditionnelle de la Plante

Les fruits cueillies en début de floraison séchés à l'ombre et utilisés en infusion contre les diarrhées, la goutte et autre ; il en est de même pour l'écorce qui est récolté avec la monté de la sève et peu être utilisé frais ou séché [18,25,26].

Les feuilles et les fleurs peuvent être administrées par voie orale, en infusion (tisane) ou décoction (infusion froide) mais également par voie externe on effectuant des bains de main et des pieds. Actuellement, des préparations à base d'aubépine occupent une place prépondérante dans le domaine de la pharmacothérapie, ces préparations renferment des extraits secs, fluides, des teintures (préparer avec 40 à 50% d'alcool) [24,26,27].

Une décoction de feuilles et de fruits de *Crataegus* est employée pour traiter les maladies cardio-vasculaires, le cancer, le diabète et la faiblesse sexuelle dans le système traditionnel de la médecine Arabe [7].

Les aubépines ont une large liste d'utilisation en médecine traditionnelle chinoise et la médecine à base des plantes européenne[28].

En Europe, l'utilisation de l'aubépine remonte à une époque très ancienne[29]. Son utilisation pour le traitement des maladies cardiaques a été commencée à la fin de 1800[30].

Dans la médecine traditionnelle chinoise, les fruits de l'aubépine sont utilisés pour stimuler la digestion et la fonction de l'estomac, l'amélioration de la circulation sanguine et l'élimination de la stase des sangs. Ainsi, ils sont utilisés dans les prescriptions pour traiter l'indigestion avec distension épigastrique, diarrhée; aménorrhée; hypertension; et l'hyperlipidémie[31].

En Europe, les fruits, les feuilles, les fleurs d'aubépine ou leurs combinaisons ont été traditionnellement utilisés comme astringent, antispasmodique, cardiotonique, diurétique, hypotensif et comme agent anti-Athérosclérotique[32].

L'herbe est utilisée pour traiter divers problèmes cardiaques y compris l'insuffisance cardiaque, l'angine de poitrine, l'hypertension, légère altération du rythme cardiaque et l'athérosclérose[31].

Le fruit aubépine est consommé non seulement en médecine, mais également dans différentes fins culinaires, telles que la préparation de confitures, gelées, boisson sirops et vins [32].

### I.1.8. Chimie de la Plante

#### I.1.8.1. Composition en métabolites primaires

**TableauII:** Constituants chimiques de la partie comestible du *Crataegus Monogyna*[33].

Fractions		Teneurs (g/100g de matière sèche)
Protéines		2.5
Lipides		2.3
Eléments minéraux	K	1.25
	Ca	0.44
	Mn	0.33
	Mg	0.06
	P	0.05

**Tableau III:** Composition chimique de la partie charnue du fruit de *Crataegus Monogyna* [34] [35].

Fractions		Teneurs
<b>Glucides (g/100g de matière sèche).</b> [34]	Sucres solubles	11.45 ± 0.33
	Sucres réducteurs	7.86 ± 0.13
	Saccharose	3.59 ± 0.45
	Cellulose	11.40 ± 0.91
	Pectines	1.60 ± 0.91
<b>Éléments minéraux (mg/100g matière sèche).</b> [35]	Calcium	414.18 ±4.03
	Magnésium	156.52 ±15.43
	Sodium	31.20 ± 0.00
	Phosphore	20.09 ± 4.03
	Potassium	1694.80 ±31.71
	Cuivre	0.31 ± 0.10
	Fer	4.09 ± 0.03
	Manganèse	1.52 ± 0.25
	Zinc	0.32±0.01
	Cobalt	0.17±0.02
	Plomb	0.31±0.07
<b>Vitamines (m%)</b> [35]	Tocophérol	0.79±0.09
	Caroténoïdes	1.37±0.00
	Vitamine C	4.07±0.69
	Thiamine	0.05±0.00
	Pyroxidine	0.012
	Biotine (µg/g)	0.031

**Tableau IV : Propriétés Chimiques de l'Aubépine « Crataegus»[36].**

Fractions		Teneurs
Taux d'humidité %		64.26
Protéines Brutes %		2.48
Huile brute %		0.87
Cellulose brute %		4.67
Cendres totales %		2.28
Cendres insolubles dans HCl %		0.0012
Eléments minéraux (ppm)	Ca	03046.37
	K	13539.96
	Mg	01502.55
	Na	00312.18
	P	01477.88
	Fe	32.77
	Se	0.56
	Cr	1.10

### I.1.8.2. Composition en métabolites secondaires

#### I.1.8.2.1. Dans les feuilles

Il existe plusieurs types de substances Poly-phénoliques : parmi les Flavonoïdes on cite: les Hétérosides du Quercétol (Quercétol-3-Galactoside ou Hypéroside, Quercétol-3-Rhamnoglucoside ou Rutoside, Quercétol-3-Rhamnogalactoside) et les C-hétérosides divers, souvent sous forme de Rhamnosides (principalement de la Vitexine-C-glucoside, de l'Apigénine ou Trihydroxy-5-7-4'' Flavone et son Rhamnoside en 4')[12].

Des Leuco Anthocyanidines qui sont des polymères Flavanniques, des dimères de Flavannes 3-4 diols [12], des oligomères ProCyanidines, (-)-épi catéchine et /ou (+)-catéchine, des acides phénols (acide chlorogénique et l'acide caféique)[6, 37].

### I.1.8.2.2. Dans les fruits

Dans les fruits, existent des Leuco-Anthocyanidines, les glycosides, des Pro-Cyanidines qui donnent après leur hydrolyse l'Epicatéchol et l'Antho-Cyanidol, les flavonoïdes et leurs glycosides : hyperoside (quercétine-3-galactoside), quercétine, vitexine, vitexine-O-rhamnoside, isovi-texine-O-rhamnoside, acétylvitexine - O-rhamnoside, rutine, quercitrine (quercétine-3-rhamnoside), orientine, kaempférol, spiréoside, saponarétine, oligomères procyanidines, catéchines et acides phénoliques (acide chlorogénique, acide caféique, saponines triterpéniques, etc.) [38,39].

### I.1.9. Principales Propriétés Pharmacologiques de *Crataegus Monogyna Jacq.*

#### I.1.9.1. Cardiotonique

Des études cliniques ont mis en évidence que des extraits d'Aubépine étaient efficaces dans le traitement des insuffisances Cardiaques de stade I et II [40-42].

Elle exerce un effet ino-trope positif et chrono-trope négatif par diminution notamment de l'AMP phosphodiesterase [27], elle augmente l'amplitude des contractions de Cardio-myocytes isolés avec une dépense d'énergie modérée en bloquant la dépolarisation des courants  $K^+$  [43,44].

L'Aubépine réduit la formation de lactate lors de l'ischémie chez le rat [45]. Il a été mis en évidence, in vivo que l'Aubépine lors d'une ischémie prolongée atténue considérablement l'élévation du segment-ST (mesurée par un ECG) et supprime la diminution du rythme cardiaque.

Elle diminue également de façon dose-dépendante l'incidence de la tachycardie et de la fibrillation ventriculaire [46].

#### I.1.9.2. Action sédative sur le système nerveux central

Elle exerce une action sédative, Anxiolytique et diminue l'agressivité [47]. En effet, l'administration d'Aubépine chez des patients hypertendus diminue l'anxiété [48]. L'Aubépine diminue également la température corporelle et de ce fait prépare le sommeil [47].

### I.1.9.3. Autres actions

En outre, les extraits à base de Pro-Cyanidines de l'Aubépine aident à réduire le niveau du cholestérol et à diminuer le taux des triglycérides [49-51].

La teinture de Crataegus empêche également l'accumulation du cholestérol dans le foie en augmentant la dégradation de cholestérol en acides biliaires et simultanément par suppression de la biosynthèse du cholestérol [52]. Les Pro-Anthocyanidines sont aussi très anti-oxydantes [53].

Les fruits et les feuilles de l'aubépine ont été considérés comme de bons remèdes pour les douleurs de l'appareil digestif et urinaire [54].

### I.1.10. Toxicité

L'administration par voie orale, de l'extrait alcoolique à 10% (fruits et feuilles de l'Aubépine), pourrait entraîner une toxicité aigue avec une dose létale à 50% (DL50) de 18.5ml/Kg chez les souris et 33.8 ml/kg chez les rats [49].

Compte tenu de ses utilisations culinaires, on peut émettre l'hypothèse que l'aubépine provoque des effets indésirables négligeables [55]. Aux doses thérapeutiques, l'aubépine provoque des effets indésirables très limités, tels que sueurs, maux de tête, éruption cutanée légère, palpitations, somnolence, agitation et effets indésirables gastro-intestinaux [56]. Une revue systémique analysant 5 577 patients, auxquels des extraits d'aubépine standardisés ont été administrés, a montré que la plupart des effets indésirables allaient de légers à modérés [55]. Jusqu'à présent, les études cliniques ont montré qu'il n'y a pas d'effets indésirables significatifs associés à la consommation d'aubépine [55].

## I.2. Métabolites Secondaire et l'Activité Antioxydante.

### I.2.1. Généralités

Les plantes possèdent des métabolites primaires qui sont les protéines, les glucides et les lipides, ainsi que des métabolites secondaires qui sont classés en plusieurs groupes. Parmi ceux-ci, les composés phénoliques, les terpènes, les stéroïdes et les composés azotés dont les

alcaloïdes (tableau V). Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activité biologique[57-59].

**Tableau V** : Les trois grandes classes de métabolites secondaires.

Type	Leurs dérivés	Nombre des molécules caractérisées
Terpénoïdes	L'IPP (isopentenyl diphosphate), une molécule à 5 C.	25000
Alcaloïdes	Acide aminés	12000
Composés phénoliques	Voie de l'acide shikimique et acétate/malonate	8000

Les composés phénoliques sont caractérisés par la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle. Ce dernier peut être libre ou engagé dans une autre fonction de type éther, ester ou hétéroside. Ce sont des dérivés non azotés dont le ou les cycles aromatiques sont principalement issus du métabolisme de l'acide shikimique et/ou de celui d'un polyacétate [60].

Ils sont présents chez tous les végétaux. Toutefois, leur répartition qualitative et quantitative est inégale selon les espèces, les organes, les tissus, les stades physiologique la saison et la région[61-63].

### I.2.2. Classification des Composés Phénoliques

Les composés phénoliques peuvent être regroupés en de nombreuses classes qui se différencient d'abord par la complexité du squelette de base ( allant d'un simple C6 à des formes très polymérisées), ensuite par le degré de modification de ce squelette ( degré d'oxydation, de méthylation...), enfin par les liaisons possibles des ces molécules de base avec d'autres molécules ( glucides, lipides, protéines, autres métabolites secondaires pouvant être ou non des composés phénoliques) [61,64].

### I.2.2.1. Classification basée sur le nombre d'atomes de carbone

Les polyphénols sont classés selon le nombre de carbone en dix groupes[65]. (Tableau VI).

**Tableau VI :** Classification des composés phénoliques selon le nombre de carbone[65].

Structure	Groupes
C <sub>6</sub>	- Phénol simple ,benzoquinone
C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>	- Acide phénolique
C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub>	- Acide phénylacétique
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	- Acide cinnamiques, phénylpropènes,coumarines, chromones
C <sub>6</sub> -C <sub>4</sub>	- Naphtoquinones
C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub> -C <sub>6</sub>	- Xanthonnes
C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>	- Stilbènes , anthraquinones
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>	- Flavonoides
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	- Lignines
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> ) <sub>2</sub>	- Biflavonoides

### I.2.2.2. Classification basée sur la répartition dans le monde végétal

Les polyphénols sont classés en trois familles qui sont : la famille des composés phénoliques largement répandus (flavonoïdes, acides phénoliques, anthocyanes, etc.) la famille des composés phénoliques peu répandus (benzoquinones, biflavonyles, etc.) et la famille des composés phénoliques complexes (tannins et lignines) [66].

### I.2.2.3. Classification basée sur la couleur

Les composés phénoliques peuvent être classés selon la couleur en trois familles de molécules de structures voisines : les flavonoïdes, stricto-sensu qui sont des pigments végétaux jaunes orangés, les anthocyanes de couleur rouge violet et les tannins qui sont incolores [73].

### I.2.2.4. Classification basée sur le squelette de base

En se basant sur le squelette, les polyphénols sont classés en plusieurs classes : les phénols simples, les benzoquinones, les acides phénoliques, l'acétophénone, les acides phénylacétiques, les acides hydroxycinnamiques, les coumarines et isocoumarines, les stilbènes, la chromone anthraquinone, les flavonoïdes, les lignances, les néolignanes, les lignines, les xanthones et les naphthoquinones [68].

### I.2.2.5. Classification basée sur la complexité

Les sont classés composés phénoliques en deux groupes : forme simple (acides phénoliques et flavonoïdes) et forme condensée (tannins et lignines) [61].

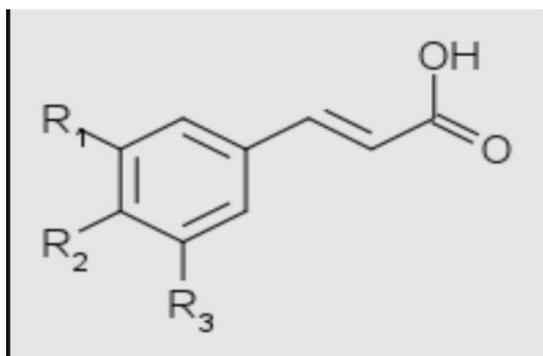
### I.2.2.6. Classification basée sur le nombre de noyau aromatique

Les polyphénols sont classés selon le nombre de noyaux aromatiques qui les constituent en cinq groupes : les flavonoïdes, les acides phénoliques, les alcools phénoliques, les stilbènes et les lignanes [69].

Les composés phénoliques sont classés selon le nombre de noyaux aromatiques en acides phénoliques, coumarines, lignines, flavonoïdes et tannins [25].

#### I.1.2.6.1. Acides phénoliques

Le terme acide phénolique s'applique à tous les composés organiques ayant au moins un groupe carboxyle et un groupe hydroxyle phénoliques [25]. Ils sont subdivisés en deux groupes : les acides hydroxy cinnamiques et les acides hydroxy benzoïques [70].



**Acide Hydroxy Cinammique.Acide**

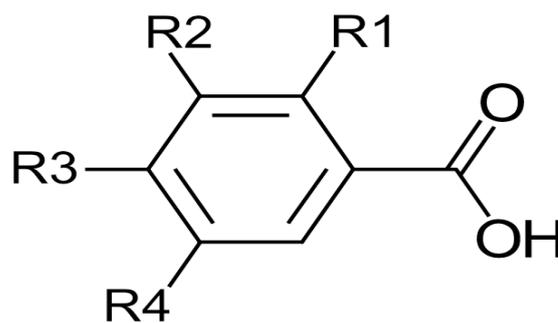
$R_1=R_2=R_3=H$  Acide cinnamique

$R_1=R_3=H, R_2=OH$  Acide *p*-coumarique

$R_1=R_2=OH, R_3=OH$  Acide caféique

$R_1=OCH, R_2=OH, R_3=H$  Acide férulique

$R_1=R_3=OCH, R_2=OH$  Acide sinapique



**Hydroxy Benzoïque.**

$R_1=R_2=R_3=R_4=H$  Acide benzoïque

$R_1=R_4=H, R_2=R_3=OH$  Acide protocatéchique

$R_1=H, R_2=R_3=R_4=OH$  Acide gallique

$R_1=OH, R_2=R_3=R_4=H$  Acide salicylique

$R_1=R_4=OH, R_2=R_3=H$  Acide gentisique

**Figure n°03** : Structure chimique des acides phénoliques [70].

**I.2.2.6.2. Flavonoïdes**

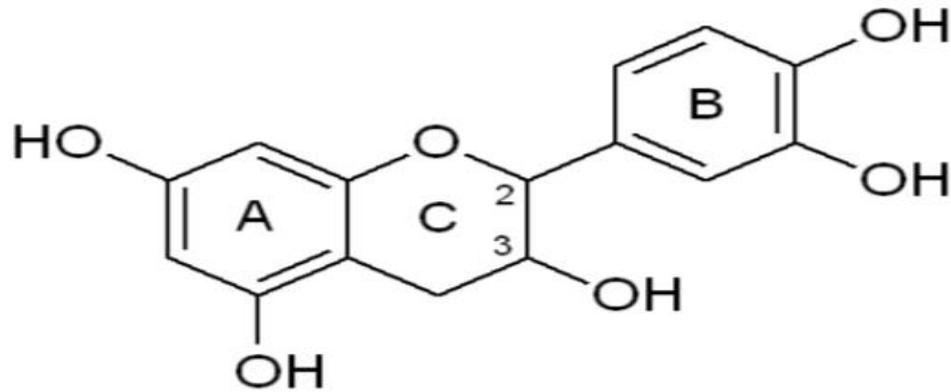
Les flavonoïdes sont des composés largement répandus dans le règne végétal, avec 6902 molécules identifiées dans 1678 espèces de plantes [71].

Ces composés sont connus pour leurs excellentes propriétés chimiques et biologiques[72].

Ils tirent leur dénomination du mot latin *flavus* qui veut dire jaune [73]. Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange, et rouge de différents organes végétaux [25].

Tous les flavonoïdes dérivent de l'enchainement de benzo- $\gamma$  pyrone. Ils peuvent être classés selon la nature des différents substituants présent sur les cycles de la molécule et du degré de saturation du squelette benzo- $\gamma$  pyrone[74]. Ainsi, ils sont classés en cinq sous classes principales : les flavonols, les flavones, les isoflavonoïdes, les flavonones et les flavanols [75].

Les flavonoïdes sont caractérisés par une structure de base commune en C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> dans laquelle deux cycles benzéniques (cycle A et B) sont reliés par un hétérocycle oxygéné à trois carbones (cycle C) (figure n°04) [66 ,76].



**Figure n°04** : Structure chimique de base d'une molécule de flavonoïde [76].

### I.2.2.6.3. Anthocyanes

Le terme anthocyane est initialement utilisé pour désigné les substances responsables de la couleur des fleurs de bleuet [25]. Cette appellation est appliqué à un groupe de pigments hydrosolubles responsables de la couleur rouge, rose, mauve, pourpre, bleue ou violette de laplupart des fleurs et des fruits [77-79]. Ces substances dérivent du métabolisme général des flavonoides [25]. L'anthocyanidine est la structure de base des anthocyanes [80].

### I.2.2.6.4. Tanins

Les tanins sont un groupe hétérogène des dérivés phénoliques ayant la propriété de précipiter les solutions d'albumine et de rendre la peau imputrescible [81,82].

L'action défavorable des tannins sur la digestibilité des nutriments, notamment l'azote alimentaire, est expliqué par l'aptitude de ces molécules à se combiner avec les protéines alimentaires. Ceci les rend inattaquables par les enzymes protéolytiques [82].

Selon leur structure et leur origine biosynthétique, les tannins sont subdivisés en tanins hydrolysables et tanins condensés [25 ,76].

- **Tanins hydrolysables**

Les Tanins hydrolysables sont des esters de glucides et d'acides phénoliques, ou des dérivés d'acides phénoliques, la molécule glucidique est en général le glucose.[66] Tandis que, l'acide phénolique est soit l'acide gallique (gallotanins) ou bien l'acide éllagique (éllagitanins) [25,83,84] (figure n°05).

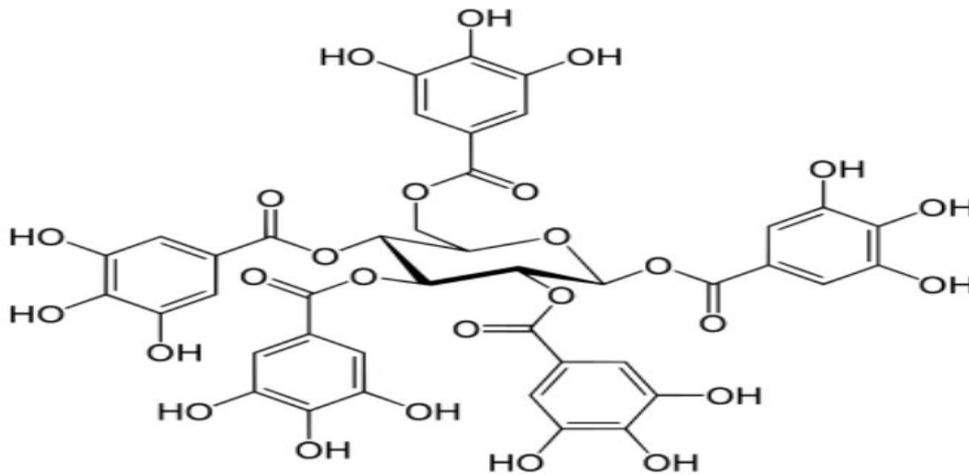


Figure n°05: Structure d'un tanin hydrolysable [66].

- **Tanins condensés**

Les Tanins condensés ou les pro anthocyanidines sont des polymères flavaniques. Ils sont constitués d'unités de flavan-3-ol liées entre elles par des liaisons carbone-carbone, le plus souvent C<sub>4</sub>-C<sub>8</sub> ou C<sub>4</sub>-C<sub>6</sub> [25,85] (figure 6). Le poids moléculaires des tannins condensés se situe entre 2000 et 4000 Da comprenant 10 à 20 oligomères de tanins condensés [86].

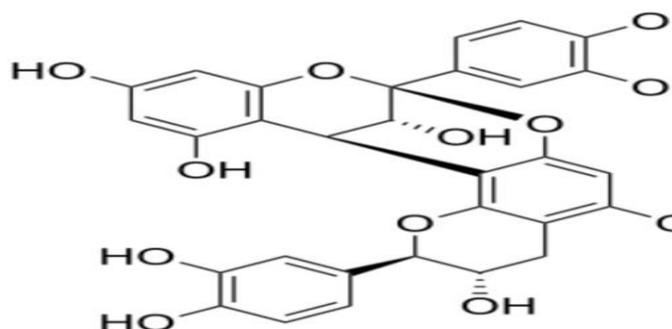


Figure 6: Structure d'un tanin condensé.[72]

### I.2.2.6.5. Lignines

Les Lignines sont définies comme étant la partie non glucidique des membranes cellulaires [72]. Ils s'agit de mélange de polymères amorphes de trois constituants : les alcools p-coumarylique, coférylique et sinapylique [87]. Ils ont également les caractéristiques d'être hydrophobes et s'incruster progressivement dans les parois secondaires, conférant ainsi au végétal rigidité, imperméabilité et résistance [88].

### I.2.2.6.6. Coumarines

Les Coumarines furent isolées de la fève Tanka (*Coumaromaodorata*), à laquelle elles confèrent leur odeur caractéristique [79]. Ces composés possèdent des hydroxyles phénoliques qui peuvent être méthylés ou engagés dans des liaisons hétérosides [73]. (figure7)

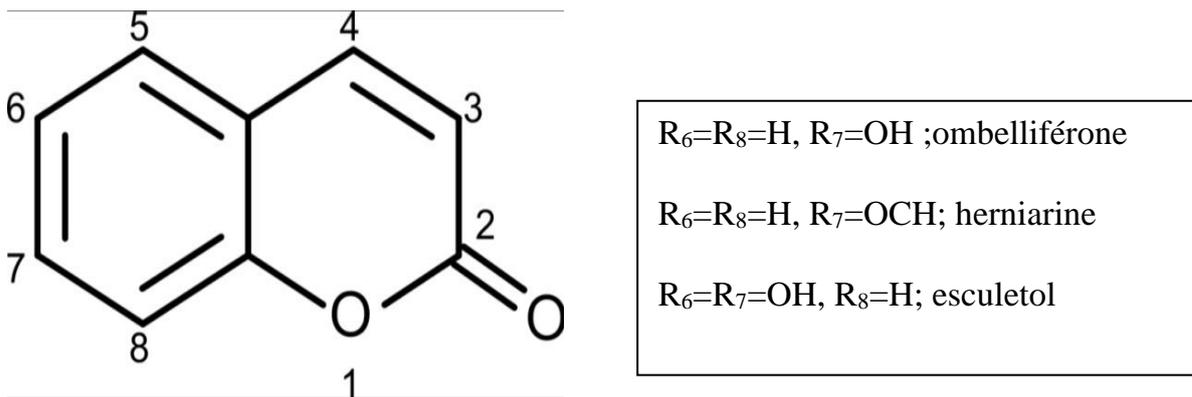


Figure 7 : Structure de quelques coumarines [76].

### I.2.3. Activités Biologiques

#### I.2.3.1. Activité Antioxydante

Une grande partie de l'intérêt des recherches porte sur l'étude des molécules antioxydantes et leurs incidences sur les radicaux libres [89].

Dans les circonstances ordinaires, les radicaux libres sont produits en faibles quantités par l'organisme. Cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense. Mais la production peut devenir excessive ou résulter de phénomènes toxiques

exogènes et l'organisme va devoir se protéger de ces excès par différents systèmes antioxydants [90].

### I.2.3.1.1. Définition d'un Antioxydant

Un Antioxydant est une substance qui inhibe ou retarde significativement l'oxydation d'un substrat [91,92]. Il capte les radicaux libres et les rend inoffensifs en interagissant directement avec les composés réactifs de l'oxygène [93,94], complexe les ions métalliques pro-oxydants et empêche la formation de l'oxygène singulet [95,93].

### I.2.3.1.2. Radicaux libres

Un Radical libre est une molécule indépendante contenant un ou plusieurs électrons non appariés [96].

Ces électrons offrent une très grande réactivité chimique aux radicaux libres [97].

Ces espèces chimiques instables cherchent à récupérer un électron dans leur environnement pour retrouver un état plus stable [98].

La production de ces radicaux libres est liée à plusieurs facteurs :

- Manque d'antioxydant dans l'alimentation;
- Mécanismes physiologiques (respiration mitochondriale);
- Mécanismes pathologiques (inflammation, Infection, toute pathologie dégénérative et vieillissement accéléré) [99] ;
- Habitudes de vie non adéquates (tabagisme, consommation excessive d'alcool,...etc) [100].

### I.2.3.1.3. Stress oxydatif

L'organisme possède ses propres moyens de défense lui permettant de lutter contre les radicaux libres. Quand ce système de protection perd son efficacité (mutation, inactivation

d'enzyme, ...) ou quand le nombre des radicaux libres augmente de manière importante, il survient un stress oxydant [90].

Ce stress engendré conduit à un dysfonctionnement catalytique de la cellule et pouvant provoquer une augmentation des risques pour le cancer, les maladies cardiovasculaires, les maladies neurodégénératives, le processus de vieillissement, le rhumatisme, les maladies inflammatoires, la cataracte, le diabète sucré, l'hypertension et le SIDA [100,101].

Cependant le stress oxydatif peut être défini comme un déséquilibre entre les systèmes producteurs d'espèces radicalaires oxydantes et les systèmes de défense antioxydants au profit des premiers. Ceci implique la production d'espèces réactives de l'oxygène [102].

#### **I.2.3.1.4. Mécanisme d'action des Antioxydants**

Les Antioxydants peuvent agir contre l'oxydation de deux manières distinctes : soit en protégeant les lipides cibles des initiateurs de l'oxydation, soit en interrompant la phase de la propagation de la chaîne d'oxydation [87].

Dans le premier cas, les Antioxydants dits préventifs empêchent ou piègent la formation des dérivés réactifs de l'oxygène responsables de l'initiation de l'oxydation. Dans le second cas les antioxydants dits briseurs de chaînes arrêtent les radicaux propagateurs de l'oxydation [104].

Les Antioxydants phénoliques d'origine végétale consommés par l'homme permettent de compléter l'action des antioxydants endogènes. Leurs capacités à céder un électron permet de lutter contre les espèces actives de l'oxygène, les espèces réactives de l'azote et de rétablir le potentiel antioxydant des vitamines A,E et C [105].

Les polyphénols possèdent une activité Chélatrice de métaux tels que le cuivre et le fer [106].



# *Chapitre II*

*Matériel et méthodes*

### II.1. Présentation de l'Etude Réalisée

Notre étude est effectuée sur les parties feuilles et fruits d'une plante algérienne à savoir *Crataegus Monogyna*, qui appartient à la famille des rosacées. Les feuilles et fruits ont été récoltés dans la région de Tizi Ahmed situé à la commune de Tichy, dans la wilaya de Béjaïa .(tableau VII)

**Tableau VII :** Caractéristiques écologiques du lieu de récolte.

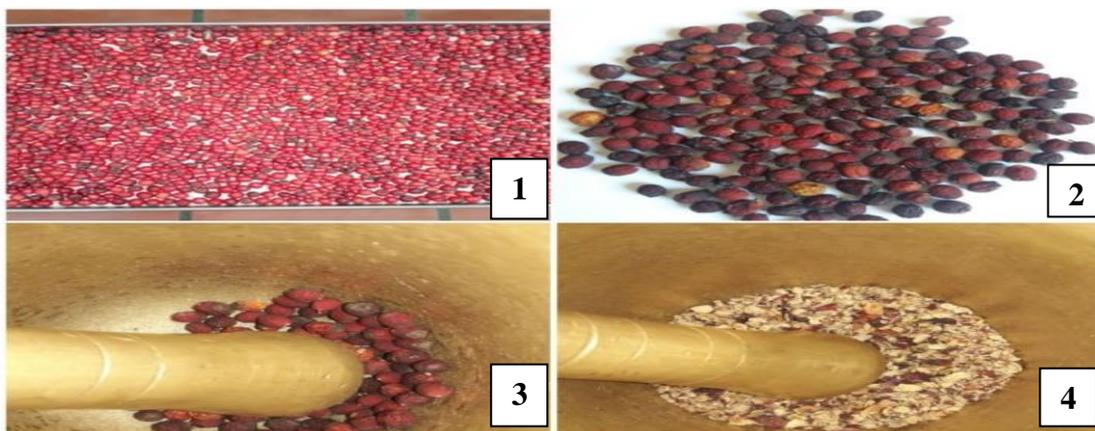
Lieu	Espèces	Latitude	Longitude	Altitude	Zone
Tichy	<i>C.Monogyna</i>	N36° 51' 01.05	E4° 52' 59.93	30	Méditerranéenne

### II.2. Prétraitement des Echantillons

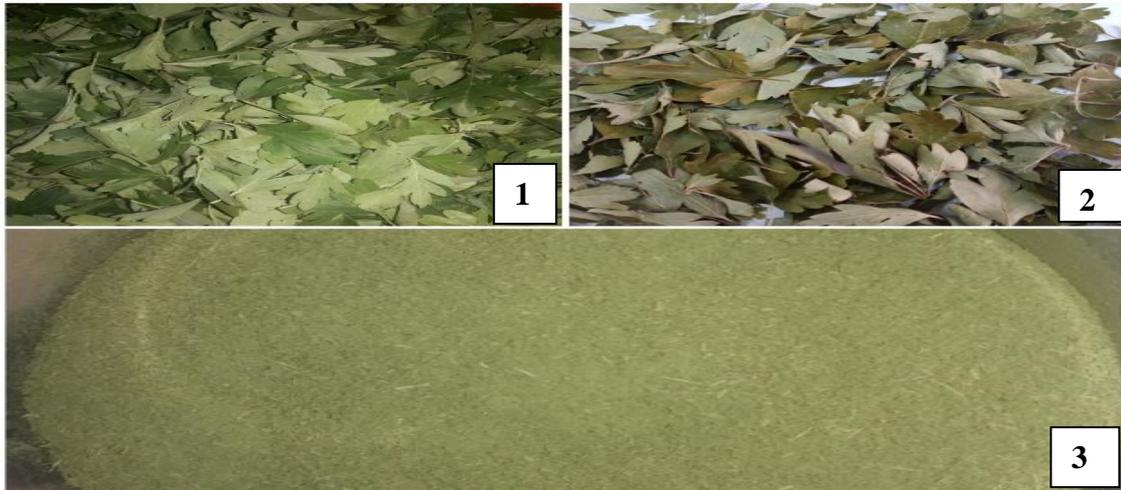
#### II.2.1. Nettoyage, Séchage et Broyage

Les parties étudiées (fruits et feuilles) sont débarrassées des déchets tels que la poussière, les petites pierres, les autres organes (racine, tige, portions mortes ou altérées,...etc.).

Les échantillons de fruits sont séchés à l'étuve à 40°C pendant 1 semaine jusqu'à la stabilisation du poids. Ils sont ensuite broyés à l'aide d'un mortier et pilon puis passent dans un broyeur électrique. Contrairement aux feuilles qui ont séchées à l'air libre et à l'abri de la lumière pendant 15 jours, puis broyées à l'aide d'un broyeur électrique (figure 8, 9).



**Figure n°08 :** Présentation des fruits de *Crataegus Monogyna* (1-Nettoyage, 2-Séchage et 3,4-Broyage).



**Figure n°09** : Présentation des feuilles de *Crataegus Monogyna* (1-Nettoyage, 2-Séchage et 3-Broyage).

### II.2.2. Tamisage et Conservation

Les particules obtenues après le broyage, sont tamisées à travers un tamis de 250  $\mu$ m de diamètre afin d'obtenir des poudres fines et homogènes. Elles sont ensuite conservées dans des flacons en verre, à l'abri de la lumière et de l'humidité (figure n°10, 11).



**Figure n° 10**: Les fruits de *Crataegus Monogyna* après tamisage.



**Figure n° 11 :** Les feuilles de *Crataegus Monogyna* après tamisage.

### II.3. Extraction

Afin d'extraire les principes actifs de la plante testée, on utilise les trois solvants :

#### II.3.1. L'Extraction par Macération à l'Eau

5g de poudre de fruit et de feuilles ont été introduites dans une fiole et macérés dans 200 ml d'eau distillée, sous agitation puis mises au repos pendant 48 heures à température ambiante et à l'abri de la lumière. Le mélange est filtré à l'aide d'un papier filtre [107]. (Figure 12)

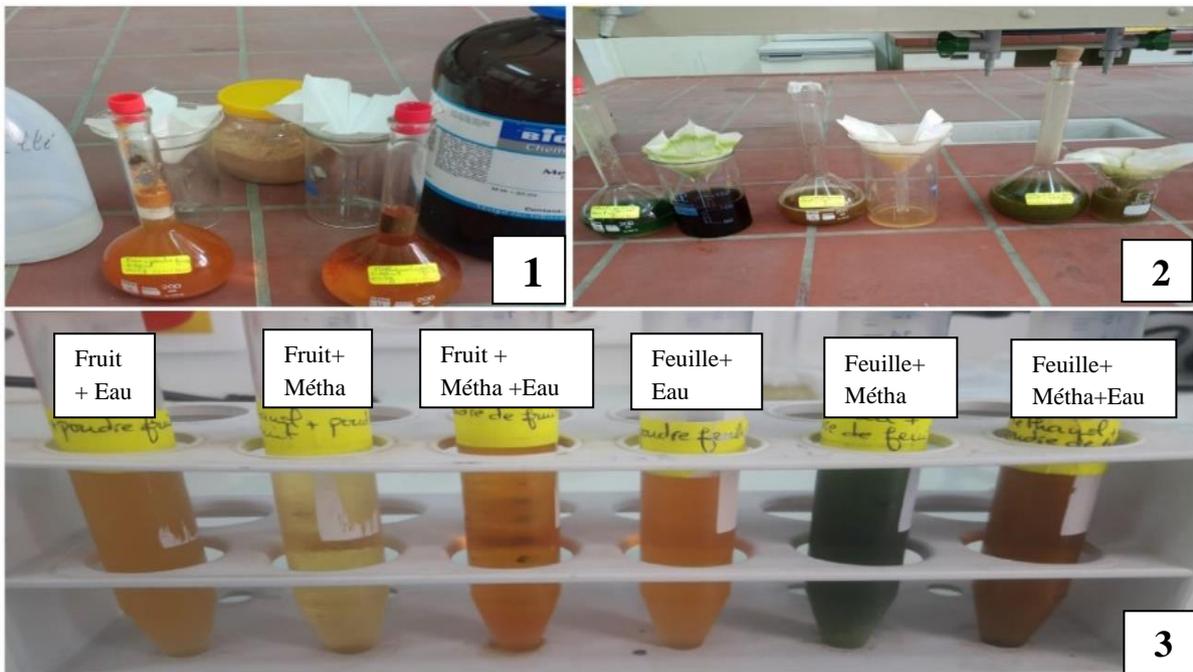
#### II.3.2. Extraction avec un Solvant Organique

200ml méthanol sont ajoutés à 5 g de poudre de fruit et les feuilles. Le mélange est agité pendant 48 heures à température ambiante ; le surnageant est récupéré par filtration [107]. (Figure 12)

### II.3.3. Extraction par Macération dans un milieu mixte (Eau-Solvant organique)

200ml méthanol et d'eau à 50 % (V/V) sont ajoutés à 5 g de poudre de fruit et de feuilles. Le mélange est agité pendant 48 heures à température ambiante ; le surnageant est récupéré par filtration.

Les différents extraits obtenus ont été conservés à froid pour des analyses ultérieures [107].(Figure 12)



**Figure n°12:** Présentation des extraits après extraction (1-Macération, 2-Filtration et 3-Extraits).

### II.4. Analyse chimique

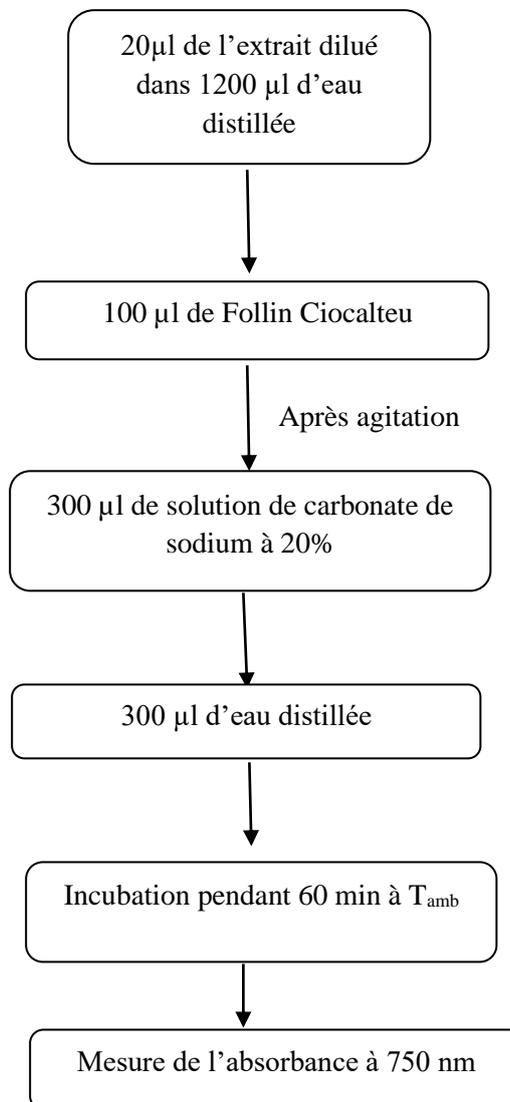
#### 1. Dosage des poly-phénols totaux

- **Principe :**

La teneur en composés phénoliques totaux a été déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu. La réaction est basée sur la réduction du mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3P W_{12} O_{40}$ ) et l'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ) du réactif de Folin-Ciocalteu, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange bleu d'oxyde de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de Molybdène ( $Mo_8 O_{23}$ ). La coloration bleue est proportionnelle aux taux de composés phénoliques présents dans les extraits [108].

- **Protocole**

Le protocole de dosage des polyphénols est le suivant : 20  $\mu\text{l}$  de la solution de l'extrait ont été dilués dans 1200  $\mu\text{l}$  d'eau distillée, 100  $\mu\text{l}$  du réactif de Folin-Ciocalteu ont été ajoutés. Après agitation, 300  $\mu\text{l}$  d'une solution saturée de carbonate de sodium (20%) ont été ajoutées, avec un volume de 300  $\mu\text{l}$  d'eau distillée. Ces mélanges ont été incubés à l'obscurité pendant une heure à la température ambiante. Ensuite l'absorbance a été mesurée au spectrophotomètre à 750 nm par rapport à un témoin préparé sans extrait [109].



**Figure n°13** :Schéma récapitulatif du dosage des poly-phénols totaux.

### 2. Activité Antioxydante

#### ➤ Test au DPPH :

##### • Principe

Pour déterminer l'activité antioxydant des extraits des fruits et feuilles de *Crataegus Monogyna Jacq* le test du Diphényle picryle-hydrazyle (DPPH) a été utilisé et ce selon le protocole décrit par Mansouri [109]

Le DPPH est un radical stable à température ambiante. Il est de couleur violette foncée en solution dans le méthanol. En présence d'un antioxydant, cette couleur typique du DPPH devient jaune pâle et son absorbance à 517 nm diminue lorsqu'il est réduit en son hydrazine [110 ,111]. La perte de la couleur bleue violette de la solution de DPPH-Indique un effet de piégeage de ce radical [112].

##### • Protocole

À l'emploi, nous mélangeons 50 µl de chaque concentration des différents extraits avec un volume de 1450 µl de DPPH préparé avec du méthanol à une concentration de  $6.10^{-5}$  mM (obtenue après dilution de 0.0118g de poudre de DPPH dans 50 ml de méthanol  $6.10^{-4}$ ). Le mélange est incubé pendant 30 minutes à l'abri de la lumière. Ensuite les absorbances des différents extraits sont déterminées à une longueur d'onde de 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Les résultats sont exprimés selon la formule suivante :

$$\text{inhibition du radical DPPH(\%)} = \frac{\text{Absorbance témoin} - \text{absorbance échantillon}}{\text{Absorbance témoin}} * 100$$

#### ➤ Mesure du pouvoir réducteur

##### • Principe

Le pouvoir réducteur des extraits de *Crataegus Monogyna* a été déterminé selon la méthode décrite par [113]. Le principe de cette dernière repose sur la réduction du complexe  $\text{Fe}^{3+}$  /Ferricyanure de potassium en fer ferreux / $\text{Fe}^{2+}$ . La forme réduite donne une couleur verte proportionnelle au pouvoir réducteur de l'extrait.

- **Protocole**

Dans un tube, 1250µl de ferricyanure de potassium  $K_3Fe(CN)_6$  à 1% ont été ajoutés au mélange de 1250µl de tampon phosphate à (pH 6,6 ; 0,2 M) avec 500µl de l'extrait. Le mélange a été mis dans un bain marie à 50°C pendant 20 min, auquel par la suite on a ajouté 1250µl d'acide trichloracétique TCA à 10%. On prélève 1250µl du mélange, auxquels on ajoute 1250µl d'eau distillée et 250µl de chlorure ferrique  $FeCl_3$  à 0,1%. L'absorbance a été mesurée à 700nm en utilisant un spectrophotomètre UV-Visible.

- **Test de phosphomolybdate d'ammonium**

- **Principe**

Le test de phosphomolybdate d'ammonium est une méthode quantitative pour évaluer la capacité antioxydante. Il est basé sur la réduction du  $Mo^{6+}$  en  $Mo^{5+}$  avec la formation d'un complexe phosphate  $Mo^{5+}$  de couleur verte avec une absorption maximale à 695nm.

- **Protocole**

Le dosage est effectué selon la méthode décrite par Prieto [114]. Où 100 µl de l'extrait ont été ajoutées à 1000 µl du mélange composé de (0,6 M d'acide sulfurique, 28 mM de phosphate de sodium et de 4 mM de molybdate d'ammonium). Après une incubation de 90 minutes dans un bain marie à 95°C, les solutions obtenues ont été refroidis, puis les absorbances ont été mesurées à 695nm. La capacité antioxydante totale est exprimée en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de la matière sèche (mg EAG/g MS).

### 3. Analyse par spectrophotométrie infrarouge (IR)

- **Principe**

L'infrarouge est une méthode très utilisée pour la caractérisation et l'identification des composés ou de leurs groupements fonctionnels (liaisons chimiques) dans un mélange d'extraits. L'identification des liaisons se fait par absorption d'une énergie à un nombre d'onde correspondant à la liaison caractéristique donné par l'IR un spectre d'un composé inconnu et sera identifié par comparaison à la bibliothèque des données IR [115].

- **Mode opératoire**

Nous avons utilisé un Spectromètre Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR) de type Agilent Cary 640, dont la gamme spectrale est dans l'intervalle infrarouge moyen [ $400^{-1}$ - $4000\text{cm}^{-1}$ ].

On prélève 60ml d'extrait pour chaque échantillon puis on les verse dans des boîtes à pétri pour les sécher dans une étuve à une température de  $50\text{C}^{\circ}$  pendant une semaine.

Les extraits secs de la plante ont été déposés entre deux plaques KBr et les spectres sont enregistrés dans l'intervalle de  $4000$  à  $400\text{ cm}^{-1}$ .



# *Chapitre III*

*Résultats et discussions*

Le taux d'extraction des composés phénoliques est influencé par le type de solvant, le rapport liquide/ solide, la granulométrie de la poudre végétale, la température et le pH du milieu.

Afin d'avoir une bonne extraction, nous avons utilisé une poudre très fine, pour augmenter la surface d'échange entre le solvant et la poudre. Les composés phénoliques sont généralement solubles dans les solvants organiques polaires et les solutions aqueuses et peu solubles dans les solvants organiques apolaires.

### III.1. Analyses chimiques

#### III.1.1. Dosage des polyphénols totaux

Après l'ajout des réactifs de Folin-Ciocalteu, une couleur bleue est apparue, dont l'intensité varie en fonction de la concentration phénolique de l'extrait. Les résultats du dosage des polyphénols totaux sont portés dans la figure 13.

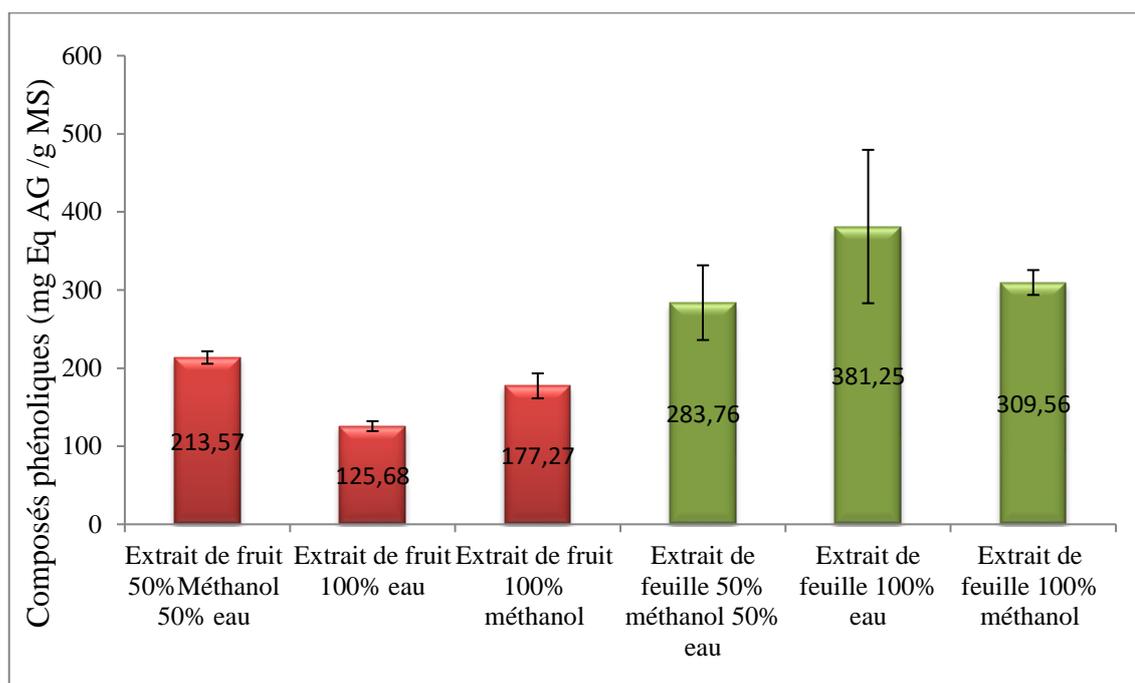
L'analyse statistique des résultats montre que les teneurs en composés phénoliques présentent une différence significative entre les deux parties étudiées Feuilles et Fruits ( $p < 0,05$ ).

La figure 13 révèle que l'extrait aqueux de feuille est le plus riche en polyphénols, avec un taux de  $381.25 \pm 98.201$  mg EqAG/g MS, suivi des extraits de : fruits mélange mixte (méthanol, eau (V/V)), fruit méthanolique, fruit mélange mixte (méthanol, eau (V/V)) et l'extrait méthanolique de feuilles, où nous enregistrons des teneurs de l'ordre  $213.57 \pm 47.824$  ;  $177.27 \pm 15.997$  ;  $283.76 \pm 8.066$  ;  $309.56 \pm 15.921$  mg EqAG/g MS respectivement. Tandis que le plus pauvre en ces métabolites se trouve dans l'extrait aqueux de fruit avec une valeur de  $125.68 \pm 6.384$  mg EqAG/g MS.

D'après ces résultats, on déduit que le contenu phénolique dans les extraits examinés, est plus retrouvé dans la partie feuille que la partie fruit de notre plante.

La comparaison de nos résultats avec ceux de la littérature, montre que les teneurs en polyphénols de nos extraits de feuilles sont plus supérieures à ceux obtenues par Kostić [117]. Ces résultats montrent que la teneur totale en composés phénoliques des échantillons d'aubépine se situe entre 2,12 et 30,63mg EAG/g MS.

Toutefois, il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la littérature car l'utilisation de méthodes d'extraction distinctes ou non similaires réduit la fiabilité d'une comparaison entre les études. Plusieurs facteurs peuvent influencer la teneur en composés phénoliques. Des études récentes ont montré que les facteurs extrinsèques (tels que les facteurs géographiques et climatiques), les facteurs génétiques, mais également le degré de maturation de la plante et la durée de stockage ont une forte influence sur le contenu en polyphénols. [119-121].



**Figure n°14** : Teneur en polyphénols totaux dans les extraits de fruits et de feuilles de *Crataegus Monogyna* .

### III.1.2. L'activité antiradicalaire

L'activité antiradicalaire des extraits de *Crataegus Monogyna* vis-à-vis du radical DPPH<sup>•</sup> a été évaluée par spectrophotométrie à 517nm, en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage, de la couleur violette à la couleur jaune.

Le DPPH<sup>•</sup> est caractérisé par son adaptation à plusieurs échantillons dans une courte durée, aussi il est assez sensible pour détecter des substances actives à de basses concentrations.

## Chapitre III : Résultats et discussions

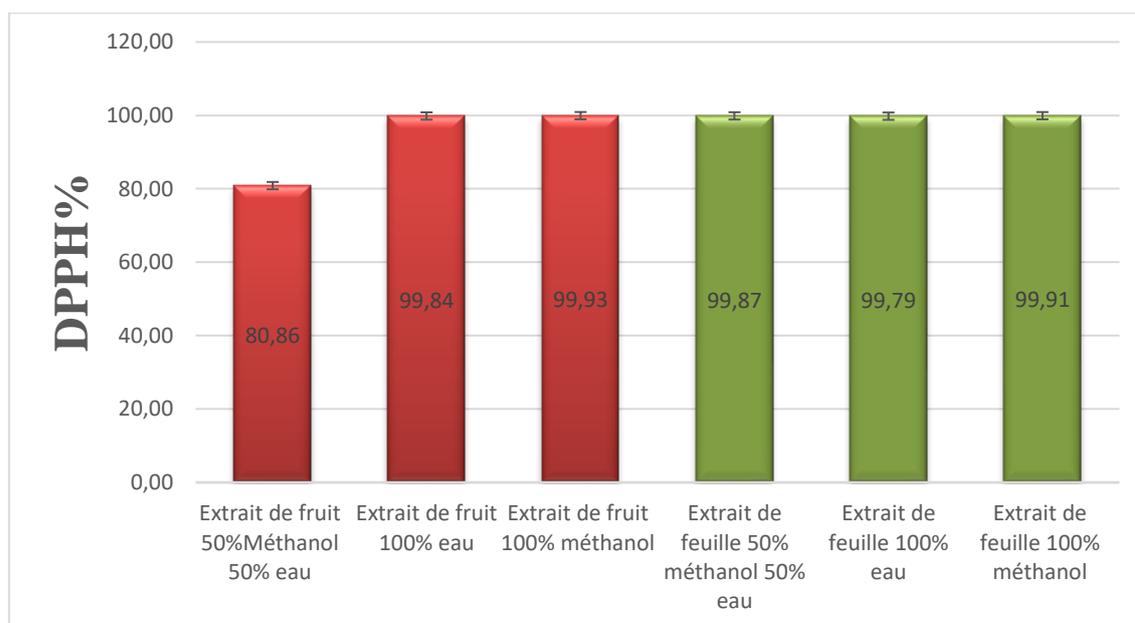
L'analyse statistique de nos résultats montre que les activités antiradicalaires ne présentent pas de différence significative entre les deux parties étudiées Feuilles et Fruits ( $p < 0.05$ ).

Selon les résultats illustrés dans la figure n°14 on constate que les extraits : méthanolique de fruit , méthanolique de feuille, aqueux de fruit, méthanolique aqueux de feuille, aqueux de feuille présentent une grande activité au DPPH avec les valeurs de  $99.93 \pm 0.000578\%$  ,  $99.91 \pm 0.001157\%$  ,  $99.87 \pm 0.027155\%$  ,  $99.84 \pm 0.002068\%$ ,  $99.79 \pm 0.006359\%$  et l'extrait méthanolique aqueux de fruit  $80.86 \pm 0.3236\%$ .

On remarque que tous les extraits de la plante étudiée possèdent une activité antioxydante et ils sont capables de piéger le radical DPPH'.

Barros et al ont rapporté des teneurs presque similaires à celles de la présente étude avec les extraits méthanoliques de fleurs et fruits de *Crataegus Monogyna* estimées à 10378 et 2170 mg/g respectivement. [121]

Les extraits méthanoliques ont une activité antiradicalaire très importante soit 92.34 % et 91.99 % obtenue chez les feuilles et fruits respectivement.



**Figure n°15:** activité antiradicalaire des extraits de fruits et de feuilles de *Crataegus Monogyna*.

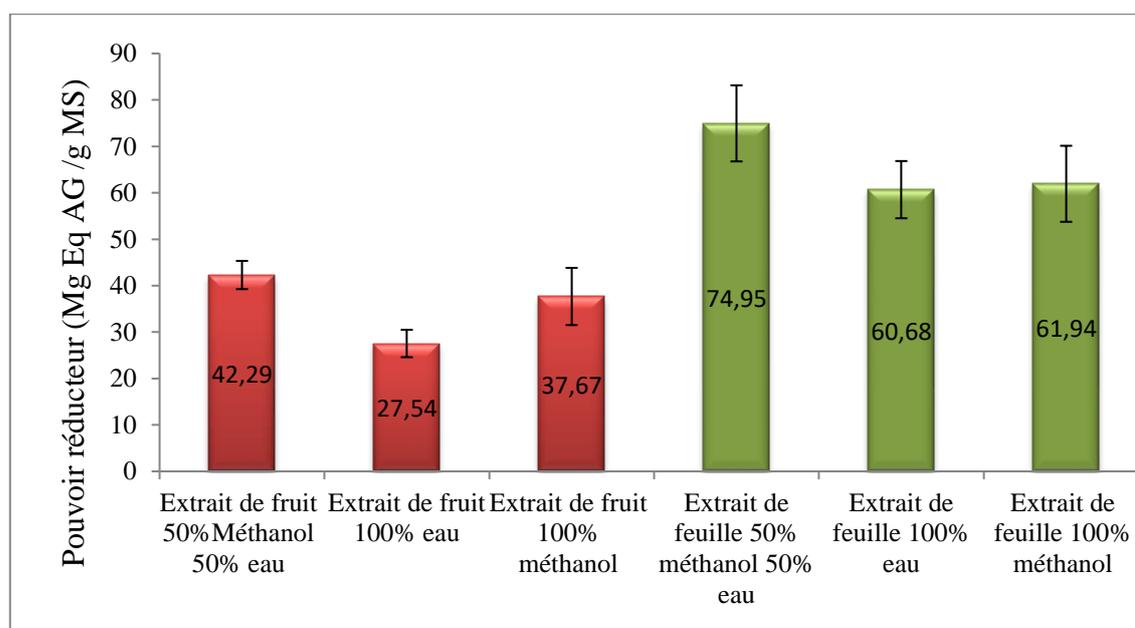
### III.1.3. Mesure du pouvoir réducteur

L'activité antioxydante des extraits de *Crataegus Monogyna* a été évaluée en utilisant la méthode de Oyaizu [113]. Elle est basée sur la capacité des extraits à réduire le fer ferrique  $Fe^{3+}$  en fer ferreux  $Fe^{2+}$ . Les résultats obtenus montrent que tous les extraits ont la capacité de réduire le fer.

Le pouvoir réducteur des extraits de différents organes de l'aubépine analysés présente une différence significative de ( $P < 0,05$ ).

Le meilleur pouvoir réducteur a été obtenu par le mélange méthanol-eau (V/V) de feuille  $74.95 \pm 8.193$  Mg EqAG/g MS, suivi de l'extrait méthanolique de feuille  $61.94 \pm 8.193$  Mg EqAG/g MS, l'extrait aqueux de feuille  $60.68 \pm 6.160$  Mg EqAG/g MS, l'extrait du mélange méthanol-eau (V/V) de fruit  $42.29 \pm 3.046$  Mg EqAG/g MS, l'extrait méthanolique de fruit  $37.67 \pm 6.160$  Mg EqAG/g MS et l'extrait aqueux de fruit avec une valeur de  $27.54 \pm 2.952$  Mg EqAG/g MS.

Barros et al, ont rapporté des pouvoirs réducteurs largement supérieurs à ceux de la présente étude avec les extraits de feuilles et fruits de *Crataegus Monogyna* (908.5 et 3777 mg/g respectivement). Cette différence pourrait être due à la méthode d'extraction utilisée.

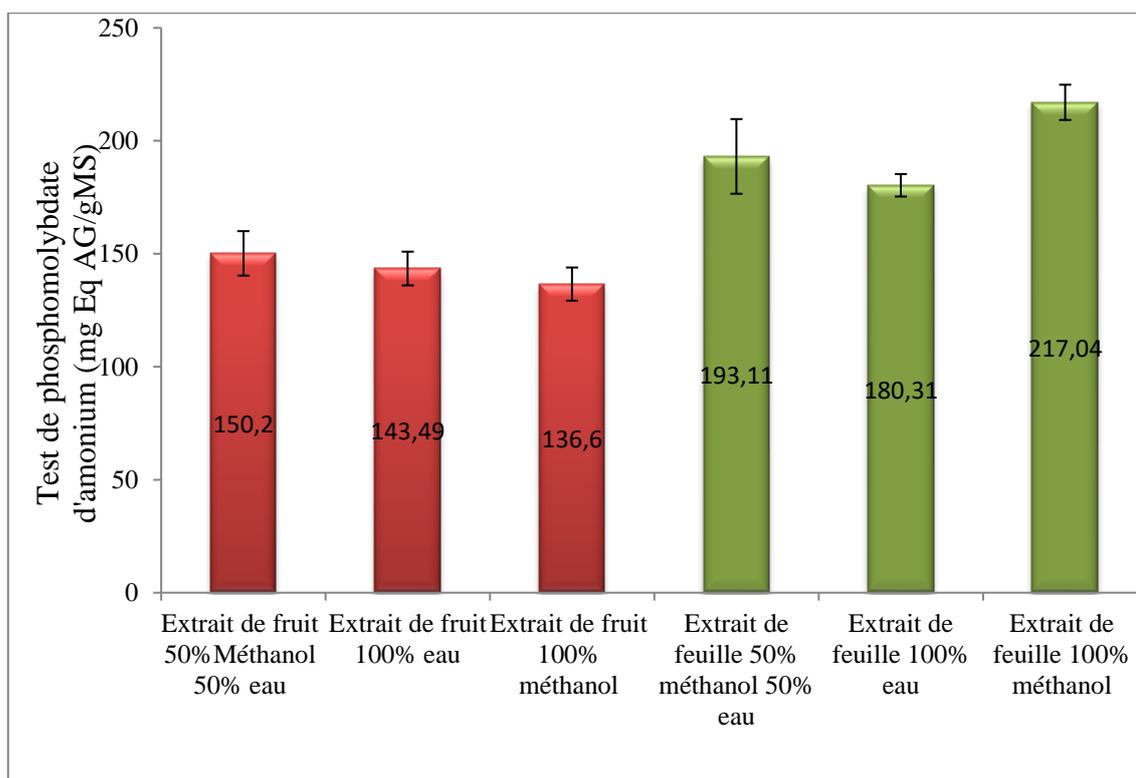


**Figure n°16:** activité antioxydante utilisant le fer ferrique des extraits de fruits et de feuilles de *Crataegus Monogyna*

### III.1.4. Test de phosphomolybdate d'ammonium

L'analyse statistique de nos résultats montre que les activités antioxydantes au phosphomolybdate présentent une différence significative entre les deux parties étudiées Feuilles et Fruits ( $p < 0,05$ ).

Les résultats illustrés ci-dessous montrent que l'extrait méthanolique de feuilles représente une meilleure activité antioxydante au phosphomolybdate  $217.04 \pm 9.84$  mg Eq AG/g MS, suivi par l'extrait du mélange méthanol-eau (V/V) de feuilles, extrait aqueux de feuilles, extrait du mélange méthanol-eau (V/V) de fruit, extrait aqueux de fruit et enfin l'extrait méthanolique aqueux de fruit respectivement  $193.11 \pm 7.47$ ,  $180.31 \pm 7.35$ ,  $150.2 \pm 16.53$ ,  $143.49 \pm 4.94$ ,  $136.6 \pm 7.81$  mg Eq AG/g MS.



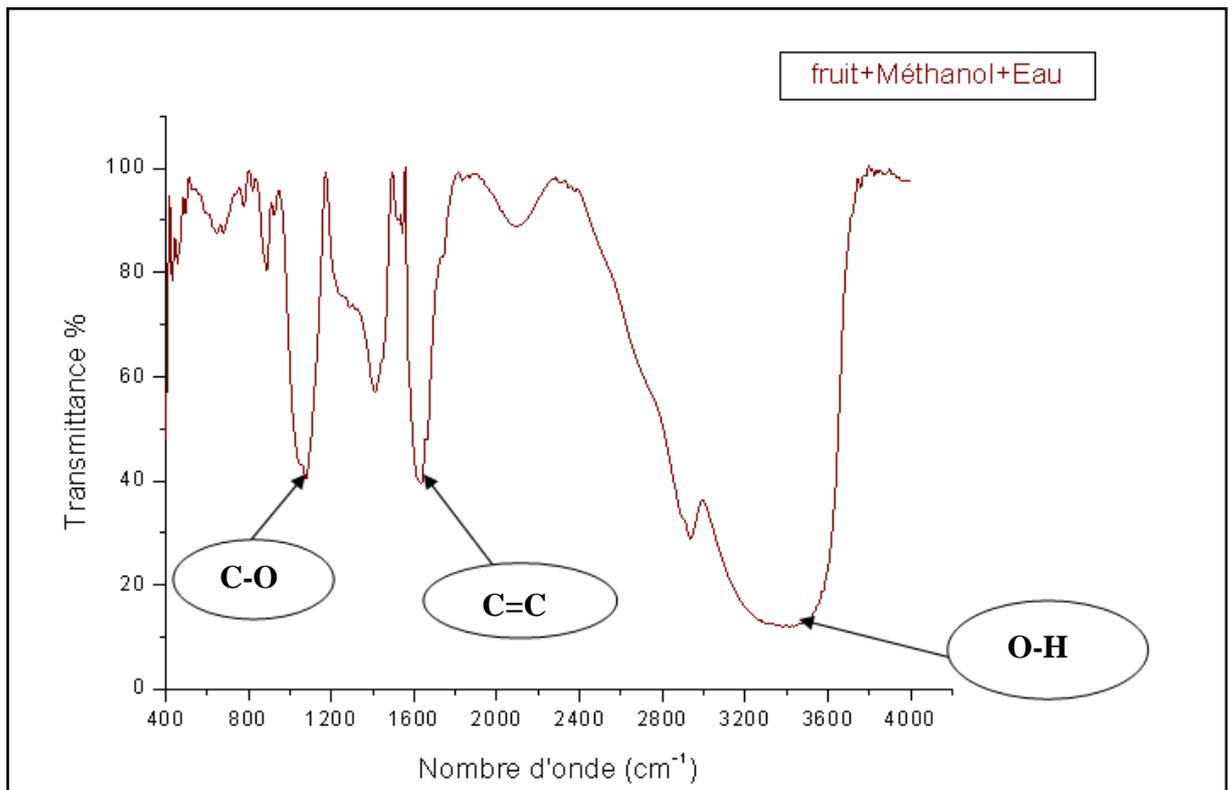
**Figure n°17:** activité antioxydante utilisant le phosphomolybdate d'ammonium des extraits de *Crataegus Monogyna*

### III.1.5. Spectrophotométrie à l'infrarouge

La spectrométrie infrarouge est une méthode d'analyse utilisée dans différents secteurs agroalimentaire et pharmaceutique. Cette technique repose sur l'adsorption sélective du rayonnement à l'infrarouge par les composés chimiques.

Le spectre infrarouge de l'extrait fruit obtenu avec le mélange (méthanol-eau)(V/V) représentés dans (Figure 17) met en évidence la liaison O-H liée (liaison hydrogène) attribué à une bande d'absorption entre 3200 et 3500 $\text{cm}^{-1}$  forte et large à 3402 $\text{cm}^{-1}$ .

- Les bandes des liaisons C=C ont une absorption entre 1450 et 1600  $\text{cm}^{-1}$ . Nous obtenons cette fonction aux environs de 1604  $\text{cm}^{-1}$  dans les spectres.
- Une bande d'absorption due aux groupements C-O (Alcool secondaire), se trouvant entre 1000 et 1100  $\text{cm}^{-1}$  sur le spectre.

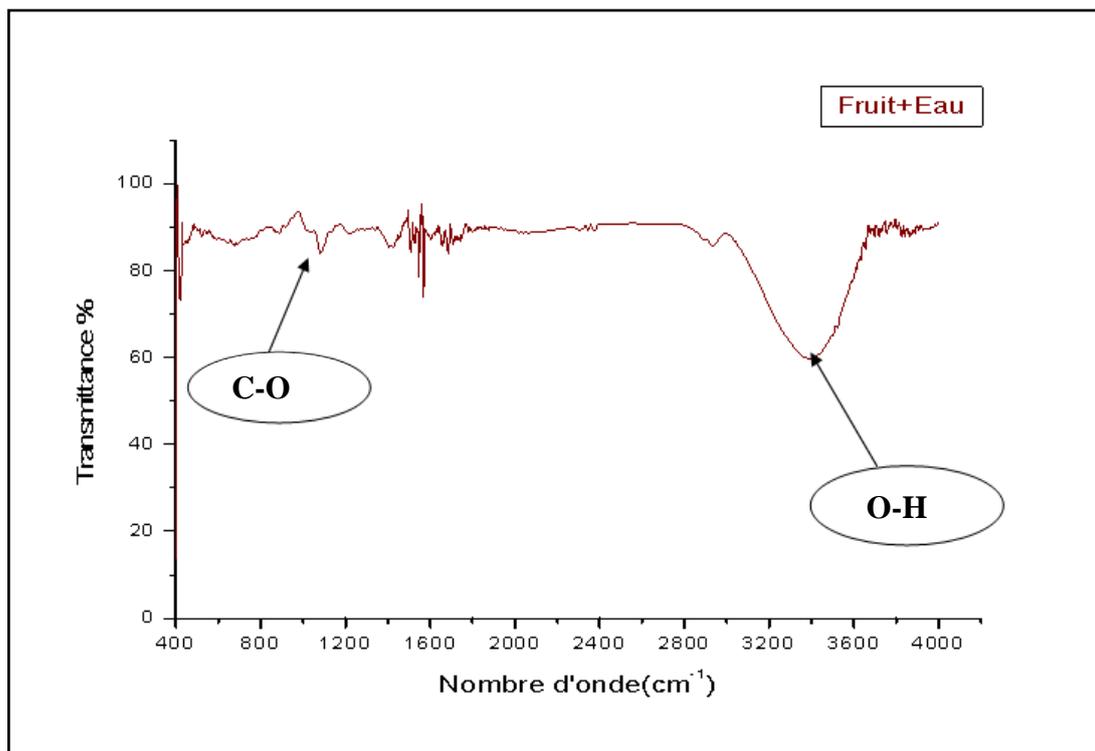


**Figure n°18:** la spectrophotométrie IR de l'extrait méthanolique aqueux de fruit.

## Chapitre III : Résultats et discussions

Le spectre infrarouge de l'extrait fruit obtenu avec l'eau est représenté dans la (Figure 18) qui montre une bande à  $3379\text{cm}^{-1}$  qui correspondant à l'étirement de la liaison hydroxyle O-H (qui représente une bande large et forte en intensité) ;

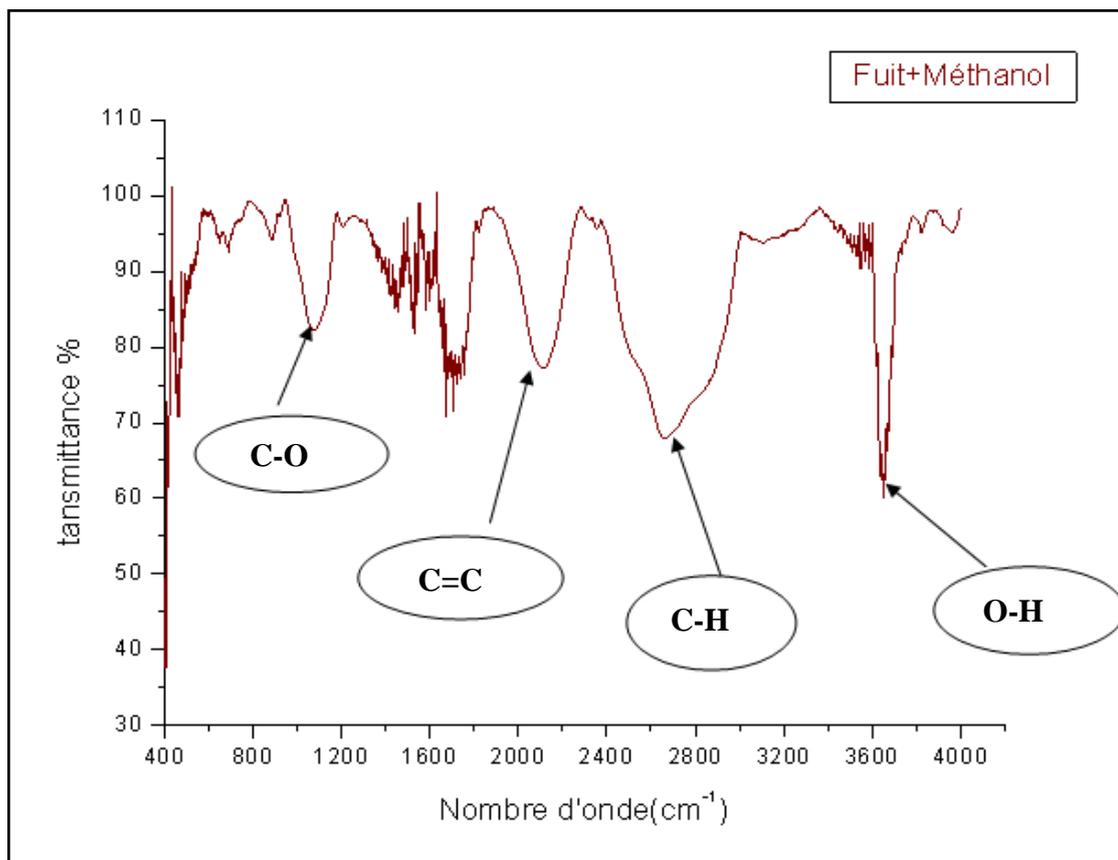
- Une bande à  $1050\text{cm}^{-1}$  correspondant à l'étirement de la liaison C-O (alcool primaire) qui est de forte intensité.



**Figure n°19:** spectrophotométrie IR de l'extrait aqueux de fruit.

Les bandes d'absorption de l'extrait méthanol ont été observé dans la figure 19:

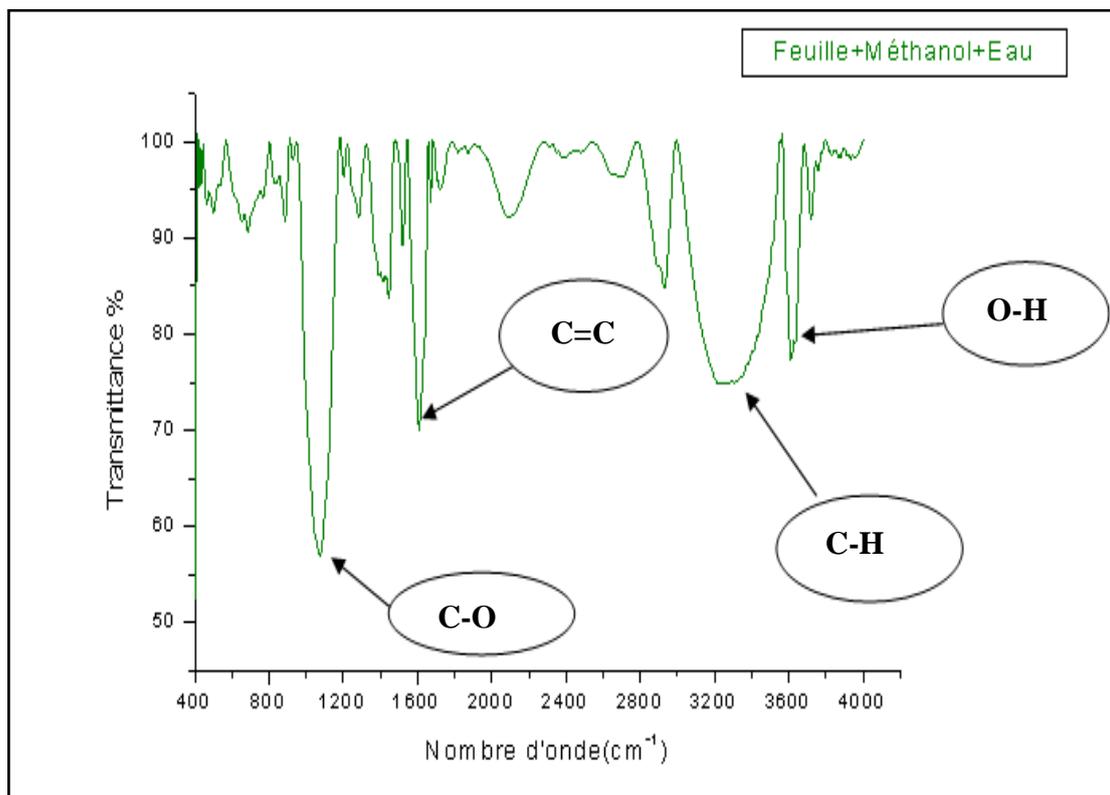
- Une bande à  $3550\text{cm}^{-1}$  correspondant à l'étirement de liaison hydroxyle O-H (qui représente une bande large et forte en intensité) ;
- Une bande à  $2661\text{cm}^{-1}$  attribuée à l'étirement de liaison C-H ;
- Une bande à  $2099\text{cm}^{-1}$  correspondant à l'étirement C=C ;
- Une bande à  $1077\text{cm}^{-1}$  correspondant à l'étirement de la liaison C-O (alcool secondaire).



**Figure n°20:** spectrophotométrie IR de l'extrait méthanolique de fruit.

Les bandes d'absorption les plus caractéristiques pour l'extrait de feuilles obtenu avec le mélange méthanol-eau (V/V) sont observées dans la figure 20 :

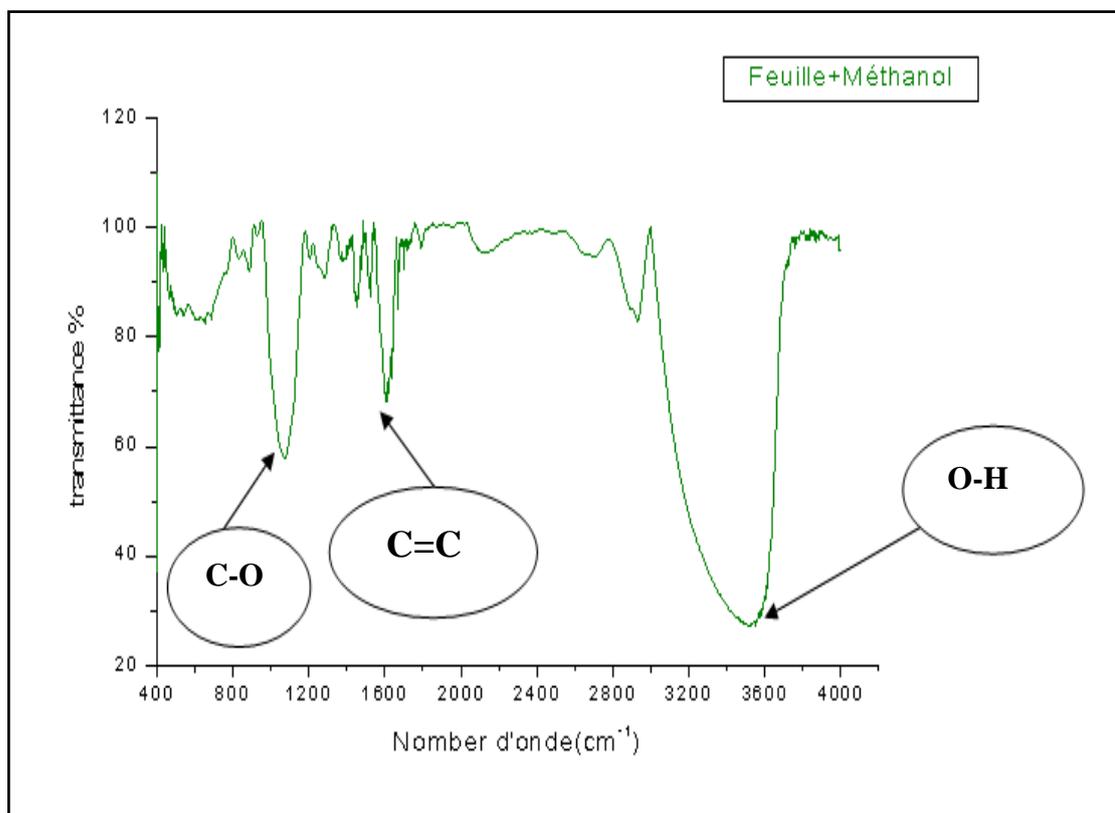
- Une bande à 3415cm<sup>-1</sup> correspondant à l'étirement de liaison hydroxyle O-H (qui est de forte en intensité) ;
- Une bande à 2925 cm<sup>-1</sup> attribuée à l'étirement de liaison C-H qui représente une bande large et forte en intensité ;
- Une bande à 1610 cm<sup>-1</sup> et une seconde à 1444 cm<sup>-1</sup> correspondant à l'étirement de la liaison C=C qui sont de faibles intensités.
- Une bande à 1078 cm<sup>-1</sup> correspondant à l'étirement de la liaison C-O (alcool secondaire).



**Figure n°21:** Spectrophotométrie IR de l'extrait de mélange (méthanol-eau(V/V)) de feuilles.

Les bandes d'absorption les plus caractéristiques pour l'extrait de feuilles obtenu avec le méthanol sont observées dans la figure 21 :

- Une liaison O-H liée (liaison hydroxyle) est responsable d'une bande d'absorption aux environs de 3200 à 3500 cm<sup>-1</sup>, cette bande est forte et large située à 3432 cm<sup>-1</sup> sur le spectre.
- Une bande liaison C=C qui absorbe entre 1450 à 1600 cm<sup>-1</sup>. Plus précisément à 1610cm<sup>-1</sup> sur les spectres.
- Une bande d'absorption due aux groupements C-O (secondaire), se trouvant aux environs de 1100 cm<sup>-1</sup> sur le spectre.



**Figure n°22** : spectrophotométrie IR de l'extrait méthanolique de feuilles.

Les bandes d'absorption les plus caractéristiques pour l'extrait de feuilles obtenu avec le méthanol sont observées dans la figure 22 :

- Une bande à 3376 cm<sup>-1</sup> attribuée à l'étirement de la liaison O-H, bande large et forte en intensité ;
- Une bande aux environs de 1610 cm<sup>-1</sup> correspondant à l'étirement de la liaison C=C, bande de forte intensité ;
- Une bande à 1450 cm<sup>-1</sup> qui correspond à l'étirement C=C, bande faible.
- Un à 1090 cm<sup>-1</sup> due à l'étirement de la liaison C-O (alcool primaire).

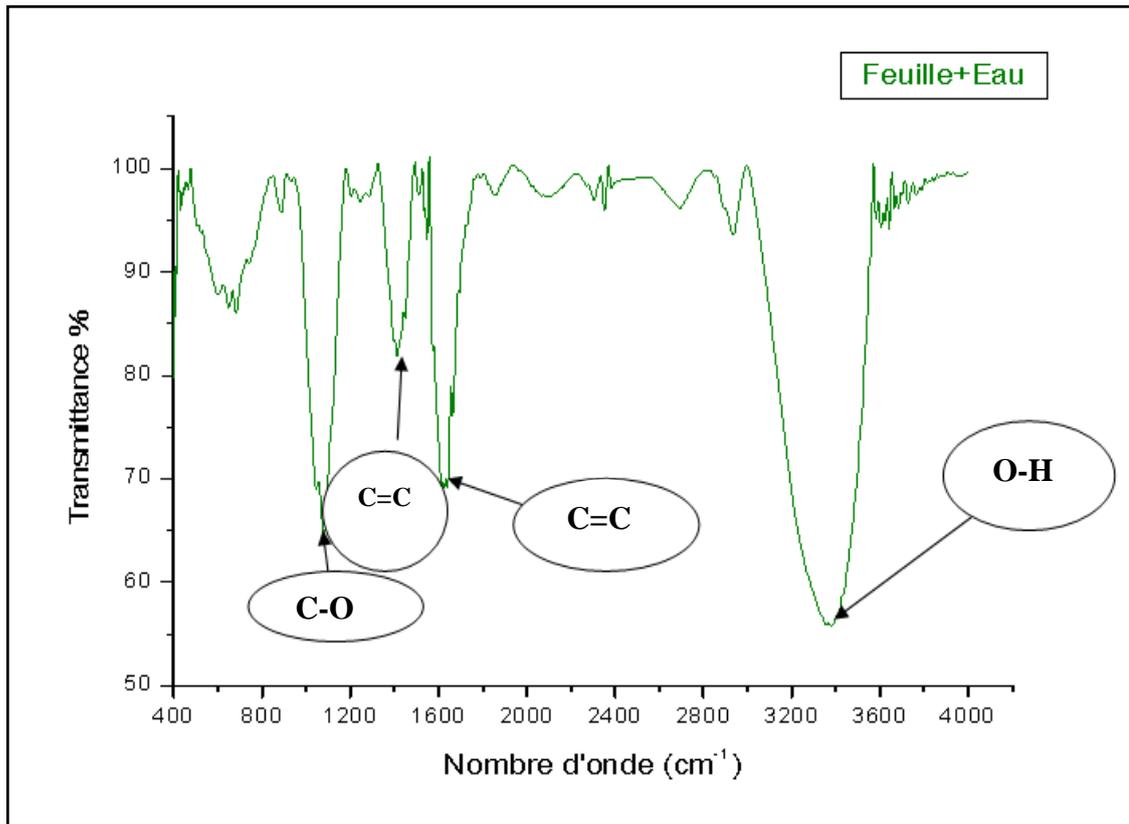


Figure n°23 : spectrophotométrie IR de l'extrait aqueux de feuilles.



*Conclusion  
générale*

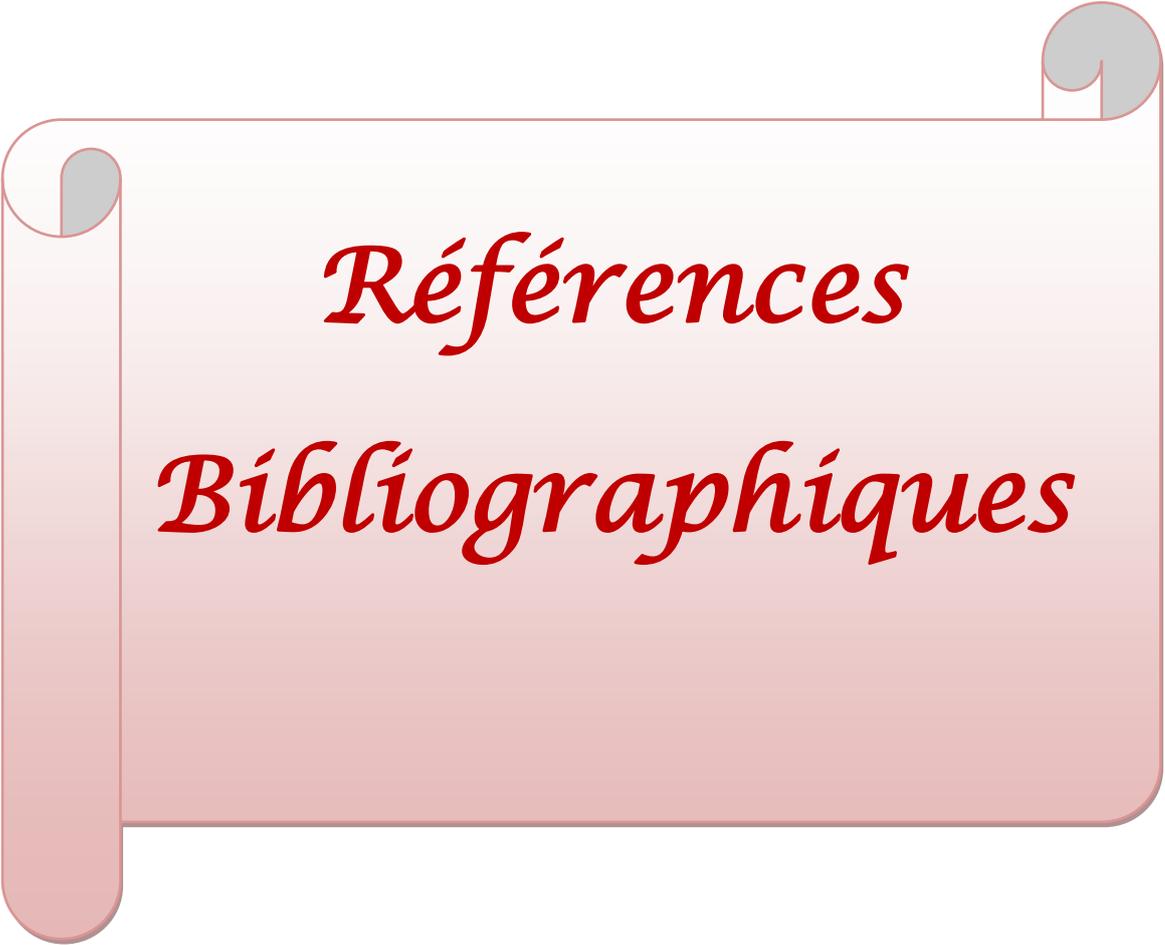
### Conclusion

Ce présent travail a pour objectif l'étude du pouvoir antioxydant les fruits et feuilles de *Crataegus Monogyna* et la détermination de leurs pouvoirs antiradicalaires, l'estimation du pouvoir réducteur ainsi que la caractérisation des composés phénoliques par la spectrophotométrie infrarouge.

Pour l'obtention de différents extraits, nous avons réalisé une extraction aqueuse par une macération à l'eau, une extraction organique par ajout de méthanol et une extraction par un mélange mixte méthanol-eau(V/V).

Plusieurs constatations ressortent de l'analyse des résultats obtenus :

- Après le dosage des polyphénols totaux, une différence significative est enregistrée entre les feuilles et les fruits de *Crataegus Monogyna*. L'extrait aqueux de feuilles est le plus riche que l'extrait aqueux de fruit.
- L'étude de l'effet piègeur du radical DPPH<sup>•</sup> révèle l'existence d'une différence significative, mais tous les extraits de la plante étudiée possèdent une forte activité anti-oxydante et ils sont capables de piéger le radical DPPH<sup>•</sup>.
- Les pouvoirs réducteurs de feuilles sont significativement plus élevés que ceux des fruits.
- Une différence significative a été constatée après le test au phosphomolybdate d'ammonium. L'extrait méthanolique de feuilles est le plus riche, comparé à l'extrait méthanolique de fruit possédant moins d'activité d'antioxydante au phosphomolybdate d'ammonium.
- L'analyse qualitative des extraits par spectrophotométrie infrarouge a révélé la présence de différentes liaisons chimiques (O-H, C-H, C=C, C-O, ...) dans les extraits étudiés, qui caractérisent les composés polyphénoliques.
- Les résultats de cette étude montrent que la plante étudiée constitue une bonne source d'antioxydants naturels car : elle est riche en composés phénoliques et possède un fort pouvoir antioxydant.



*Références*  
*Bibliographiques*

## Références bibliographiques

---

- [1]: **Keita, Y., Koné, O., Ly, K.A. et Häkkinen, V. (2004).** Étude chimique et de l'activité antibactérienne des distillats de quelques variétés de mangue de Guinée. *Comptes Rendus Chimie*, 7: 1095-1100.
- [2]: **Amroune Salaheddine . (2018).** PHYTOTHERAPIE ET PLANTES MEDICINALES. Mémoire de Master. Université des Frères Mentouri Constantine.
- [3]: **Bahorun, T. (1997).** Substances naturelles actives: la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. *Food and Agricultural Research*, P: 83-94.
- [4]: **Yanar, M., Ercisli, S., Yilmaz, K.U., Sahiner, H., Taskin, T., Zengin, Y., Akgul, I., and Celik, F. (2011).** Morphological and chemical diversity among hawthorn (*Crataegus* spp.) genotypes from Turkey. *Scientific research and essays*, 6(1): 35-38.
- [5]: **Ávila-Sosa, R., Ávila-Crisóstomo, E., Reyes-Arcos, E.A., Cid-Pérez, T.S., NavarroCruz, A.R. & Ochoa-Velasco, C.E. (2017).** Effect of blue and UV-C irradiation on antioxidant compounds during storage of Hawthorn (*Crataegus mexicana*). *Scientia horticulturae*. 217 : 102-106.
- [6]: **Bruneton, J., (1993).** Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales. 2eme edition Tec et Doc (Ed). Paris, 914p.
- [7]: **Kumar, D., Arya, V., Ali Bhat Zq, Ahmad Khan, N., Nandan Prasad, D. (2012).** The genus *Crataegus*: chemical and pharmacological perspectives. *Revista Brasileira de Farmacognosia* .22(5) :1187-1200.
- [8]: **Miller AL. (1998).** Botanical influences on cardiovascular disease. *Altern Med Rev*.3:422-431.
- [9]: **Ju, LY. (2005).** *Crataegus oxyacantha* (Aubepine) in the use as herb medicine in France. *China journal of Chinese materia medica* .30 :634-640.
- [10]: **Chevalier, L., Crouzet-Segara, C. (2004).** Médicaments à base des plantes. Masson (Ed). Paris, 354p.
- [11]: **Brosse J., (2000).** Larousse des arbres et des arbustes. Larousse (Ed). Canada, 576p.
- [12]: **Mohand, A.Y. (2006).** "Plantes médicinales de Kabylie (préface du docteur Jean-Philippe Brette)." Ibis Press (Éd). Paris. 99-102p.
- [13]: **Nemecz, G. (2001).** "Hawthorn". Communication January /February. 10-13p.
- [14]: **Messaili, B. (1995).** Botanique, systématique des spermatophytes. OPU (Ed). Alger, 91p.

## Références bibliographiques

---

- [15]: Verma, S.K., Jain, V., Verma, D., Khamesra, R. (2007). Crataegus oxyacantha- A cardioprotective herb. Journal herbalmedicaltoxicological1: 65-71.
- [16]: Fabre, M.C., Genin, A., Merigoux, J., Moget, É. (1992). Des recettes simples avec des plantes simples pour résoudre les problèmes simples. Herboristerie Familiale. P:1-103.
- [17]: Lucienne, A.D. (2013). Les plantes médicinales d'Algérie 3<sup>ème</sup> édition. Algérie. P:46.
- [18]: Djerroumi, A., Nacef, M. (2004). 100 plants médicinales d'Algérie. Ed. Palais du livre. 51-108.
- [19]: Zhang, X. (2002). WHO monographs on selected medicinal plants Volume 2. World Health Organisation, 69-329.
- [20]: Kashyap, C., P.Arya.V., and Thakur, N. (2012). Ethnomedicinal and phytopharmacological potential of crataegus oxyacantha. Pacific journal of tropical biomedicine. 2(2): 1194-1199.
- [21]: Aymonin, G.G., (1993). Guide des arbres et des arbustes. Sélection du reader's Digest (Ed). Paris, 351p.
- [22]: Koyuncu, T., Pinar, Y., Lule, F., (2007). Convective drying characteristics of Azerol (Crataegus monogyna Jacq.) and yellow (Crataegus aronina) fruit. Journal of Food Engineering, 78:1471- 1475.
- [23]: Farhat, R., (2007). Etude de la fraction lipidique et la composition en acides gras des huiles des fruits de : Celtis australis L., Crataegus azarolus L., Crataegus monogyna Jacq., Elaeagnus angustifolia L. et Ziziphus lotus L. Mémoire de magister. Département d'agronomie. Université el Hadj Lakhdar. Batna, 109p.
- [24]: Mességué, M. (1975). Mon herbier de santé. Ed. Robert Laffont. 52-232
- [25]: Bruneton, J. (2002). Phytothérapie : les données de l'évaluation. Ed. Tec et Doc. 135- 137.
- [26]: Bruneton, J. (1999). Pharmacognosy : phytochemistry, medicinal plants. Ed. Tec et Doc. 100- 757.
- [27]: Wichtl, M., Anton, R. (2003). Plantes thérapeutiques : Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Ed. Tec et Doc. 42-1378; 152- 624.
- [28]: Zhongguo, Y., et al. (1984). "Zhong Yao Zhi". Vol (3), 2<sup>ème</sup> édition.. Beijing: Ren min wei sheng chu ban she.

## Références bibliographiques

---

- [29]: **Tyler, V.E. (1993).** "The Honest Herbal: A Sensible Guide to the Use of Herbs and Related Remedies". 3ème édition. Pharmaceutical Products Press (ÉD).. New York.
- [30]: **McCaleb, R.S., Leigh, E., Morien, K. (2000).** "The Encyclopedia of Popular Herbs: Your Complete Guide to the Leading Medicinal Plants". Roseville, CA: Prima Health.
- [31]: **Zhonghua, R.G. (1997).** The Pharmacopoeia Commission of PRC. " Pharmacopoeia of the People's Republic of China ". Beijing: English (ÉD).Chemical Industry Press, Vol (1).
- [32]: **Leung, A.Y., Foster, S. (1996).** "Encyclopedia of Common Natural Ingredients:
- [33]: **Herrara, C.M., (1984).** Seed dispersal and fitness determinants in Wild rose : combined effects of Hawthorn , birds , mice and browsing ungulates .Spain , 63:386-393.
- [34]: **Saadoudi, M., (2007).** Etude de la fraction glucidique des fruits de : *Celtis australis* L., *Crataegus azarolus*L., *Crataegus monogyna* Jacq.,*Elaeagnusangustifolia* L. et *Ziziphus lotus* L. Mémoire de magister. Départementd'agronomie. Université el hadj Lakhdar. Batna, 80p
- [35]: **Boudraa, S. (2007).** Etude de la fraction minérale et vitaminique des fruits de *Celtis australis* L., *Crataegus azarolus* L., *Crataegus monogyna* Jacq., *Elaeagnusangustifolia* L. et *Ziziphus lotus* L. Mémoire de magister. Départementd'agronomie. Université el Hadj Lakhdar. Batna, 151p.
- [36]: **Ozcan, M., Hacisefrogullari, H., Marakoglu, T., Arslan, D. (2005).** Hawthorn (*Crataegus* spp) fruit: some physical and chemical properties. *Journal of Food Engineering*, 69:409-413.
- [37]: **Fong, H.H.S., et Bouman, J.L. (2002).** "Hawthorn". *J. Cardiovascular Nursing*, 16 (4): 1-8. Ford, R.A., Hawkins, D.R., Mayo, B.C., Api, A.M., 2001."The in vitro dermal absorption and metabolism of coumarin by rats and by human volunteers under simulated conditions of use in fragrances". *Food and Chemical Toxicology*, 39: 153-162.
- [38]: **Cui T., Nakamura, K., Tian, S., Kayahara, H.(2006).** Tian YL. Teneur en polyphénols et activités physiologiques des extraits d'aubépine de Chine. *BiosciBiotechnolBiochem* ; 70 (12) : 2948- 56.

## Références bibliographiques

---

- [39]: Bahorun, T., Aumjaud, E., Ramphul, H., Rycha, M., Luximon-Ramma, A., Trotin, F., et al. (2003). Constituants phénoliques et capacités antioxydantes de *Crataegus monogyna* (Aubépine) extraits de callosités. *Nahrung*; 47 (3) : 191-8.
- [40]: Zapfe, G. (2001). "Clinical efficacy of *Crataegus* extracts ws 1442 in congestive heart failure NYHA class II". *Phytomedicine*, 8(4): 262-6.
- [41]: Pittler, M.H., Schmidt, K., et Ernst, E. (2003). "Hawthorn extract for treating chronic heart failure: Meta-analysis of randomized trials". *American Journal of Medicine*, 114(8): 665-674.
- [42]: Schroder, D., Weiser, M., et Klein, P. (2003). "Efficacy of a homeopathic *Crataegus* preparation compared with usual therapy for mild (NYHA II) cardiac insufficiency: results of an observational cohort study". *Eur. J. Heart. Fail.*, 5: 319-26.
- [43]: Popping, S., et al. (1995). "Effect of a hawthorn extract on contraction and energy turnover of isolated rat cardiomyocytes". *Arzneim.-Forsch./Drug Res*, 45(11): 1157-61.
- [44]: Muller, A., et al. (1999). "*Crataegus* extract blocks potassium currents in guinea pig ventricular cardiac myocytes". *Planta Med.*, 65(4): 9-335.
- [45]: Nasa, Y., et al. (1993). "Protective effect of *Crataegus* extract on the cardiac mechanical dysfunction in isolated perfused working rat heart". *Arzneim.-Forsch./Drug Res*, 43(9): 9-945.
- [46]: Veveris, M., et al. (2004). "*Crataegus* special extract WS®1442 improves cardiac function and reduces infarct size in a rat model of prolonged coronary ischemia and reperfusion". *Life Science*, 74: 55-1945.
- [47]: Paris, M.(1983). "L'Aubépine *Crataegus oxyacantha* L.". *Phytotherapy*.
- [48]: Walker, A.F., et al. (2002). "Promising hypotensive effect of hawthorn, extract: a randomized double blind pilot study of mild, essential hypertension". *Phytotherapy Research*, 16: 48-54.
- [49]: Chang, Q., Zuo, Z., Harrisson, F., chow, M.S. (2002). "Hawthorn". *J. Clin. Pharmacol.*, 42: 604-612.
- [50]: Svedström, U., Vuorela, H., Kostianen, R., Laakso, I., et Hiltunen, R. (2006). "Fractionation of polyphenols in hawthorn into polymeric procyanidins, phenolic acids and flavonoïds prior to highperformance liquid chromatographic analysis". *J. of Chromatography A*, 1112(1-2): 103-111.

## Références bibliographiques

---

- [51]: **Zhang, Z., Hoa, K.K., Huang, Y., Cena Z.Y. (2006).** "Hypocholesterolemic activity of hawthorn fruit in mediated by regulation of cholesterol-7- hydroxylase and acyl coa: cholesterol acyl transferase". J. Food Research, (35): 885-891.
- [52]: **Rajendran, S., Deepalakshmi, P.D., Parasakthy, k., Devaraj, H., Niranjali, D.S. (1996).** "Effect of tincture of Crataegus on the LDL-receptor activity of hepatic plasma membrane of rats fed an atherogenic diet". J. Atherosclerosis. 123 (1-2): 235-241
- [53]: **Chevallier A. (1996),** "Encyclopedia of Medicinal plants". Dorling Kindersley pty Limited (Éd). St Leonards, NSW.
- [54]: **Rose, J., et Treadway, S. (1999).** "Herbal Support for a healthy cardiovascular system". Adv. Nutrition Pub. Inc., 6 (16): 6.
- [55]: **Daniele, C., Mazzanti, G., Pittler, M.H., Ernst, E.(2006).** Profil des événements indésirables de Crataegus spp. : Une revue systématique. Drogue Saf. 29, 523-535.
- [56]: **Rigelsky, J.M., Doux, BV Hawthorn. (2002).** Pharmacologie et usages thérapeutiques. Un m. J. Système de santé. Pharmacie. 59, 417-422.
- [57]: **Huang, M.T., Ferraw, T. (1991).** "Phenolic coumpoud in food and cancer prevention. Phenolic inischemia, reperfusion of kidney in the laboratory". J. Drug and Chemical Toxicology, 72: 87-94.
- [58]: **Ali, N.A.A., Julish, W.D., Kusunick, C., Lindesquist, U. (2001).** "Screening of yamani medicinal plant for antibacterial and cytotoxic activities". J. Ethnopharmacology, 74: 173-179.
- [59]: **Li, H.B., Cheng, K.W., Wong, C.C., Fan, K.W., Chen, F., Tian, Y. (2007).** "Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fraction of selected microalgae". J. Food Chimestry, 102: 771-776
- [60]: **Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie phytochimie. Plantes médicinales, fourthed. Tec and Doc, Paris, 1269 p.
- [61]: **Sarni-Manchado, P., Chenyier, V. (2006).** Composés phénoliques de la plante structure, biosynthèse, repartition et rôle. In « les polyphénols en agroalimentaire ». Ediction Tec et Doc Lavoisier : 1-14.
- [62]: **Karray-Bourraoui, N., Ksouri, R., Falleh, H., Rabhi, M., Abdul Jaleel, C., Grignon, C., Lachaâl, M. (2010).** Effects of environnement and development stage of phenolic content and antioxidant activities of Mentha pulegiumL. Journal of Food Biochemestry 34:79-89.

## *Références bibliographiques*

---

- [63]: **Brahmi, F., Boulekbache-Makhlouf, L., Yalaoui-Guellal, D., Chibane, M., Madani, K. (2014).** Comparative study on the antioxidant effect of aqueous and ethanolic extracts of *Mentha pulgium*, L. grown et two different locations. *Phytochem&BioSub Journal* 8(3): 138-149.
- [64]: **Chira, K., Such, J.H., Saucier, C, Teissède, P.L. (2008).** Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie* 6 : 75-82.
- [65]: **Lopez, J.J., Jardin, L., Salido, G.M., Rosado, J.A., (2008).** Cinnamantannin B-1 as an antioxidant anda platelet aggregation inhibitor. *Life Sciences* 82, 977-982.
- [66]: **Ribereau-Gayon, P. (1968).** Les composés phénoliques de végétaux. Edition. Dunod, Paris. 153 p.
- [67]: **Hennebelle, T., Sahpaz, S., Bailleul, F. (2004).** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiels dans la lutte contre le stress oxydatif. *Journal of Phytothérapie* 2 (1), 3-6.
- [68]: **Fine, A.M. (2000).** Oligomeric proanthocynidin complexes: history, structure, and phytopharmaceutical applications 5 (2), 144-151
- [69]: **D'archivio, M., Filesi, C., Di Benedetto, R., Gargiulo, R., Giovannini, C., Masella, R. (2007).** Polyphenols, dietary sources and bioavaibility. *Instituto Superiore sib Sanita, Rome.4*, 348-361.
- [70]: **Liu, R.H. (2004).** Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention : mechanism of action. *Journal of Nutrition* 134, 3479-3485.
- [71]: **Arita, M., Suwa, K. (2008).** Search extention transforms Wiki into a relational system: A case for flavonoid metabolite database. *Bio Data Mining* 1, 1-7.
- [72]: **Yang, J., Wang, A.Q., Li, X.J., Fan, X., Yin, S.S., Lan, K. (2016).** A chemical profiling of strategy of semi-quantatives analysis of flavonoids in Ginkgo extracts. *Journal of pharmaceutical and Biomedical Analysis* 123, 147-154.
- [73]: **Richter, G. (1993).** Composés phénoliques. *Metabolisms des végétaux: physiologie et biochimie.* Edition. Press polytechnique et Universitaire, Rommand. 321 p.
- [74]: **Ghedira, K. (2005).** Les Flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie* 4, 162-169.
- [75]: **Yang, C.S., Landau, J.M., Huang, M.T., Newmark, H.L. (2001).** Inhibition of carcinogenesis by diatary polyphenolics compounds. *Department of Chemical Biology, Annual Review and Nutrition* 21, 381-406.

## Références bibliographiques

---

- [76]: **Balasundram, N., Sundram, K., Sammam, S. (2006)**. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by products: Antioxydant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry* 99, 191-203.
- [77]: **Binet, P., Brunel, J.P. (1968)**. *Physiologie végétale*. Edition. Doin, Paris. 769 p.
- [78]: **Corrales, M., B. Butz, P., Tauscher, B. (2008)**. Anthocyanin condensation reactions under high hydrostatic pressure. *Food Chemistry* 110 (3), 627-635.
- [79]: **Wichtl, M., Anton, R. (2003)**. *Plantes thérapeutiques. Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique*. 2<sup>ème</sup> édition. Paris. 692 p.
- [80]: **Castañeda-Ovando, A., Pacheco-Hernandez, M.L., Paez-Hernandez, M.E., Rodriguez, J.A., Galan-Vidal, C.A. (2009)**. Chemical studies of anthocyanines. *Food chemistry* 113, 859-871.
- [81]: **Lee, J., Koo, N., Min, D.B. (2004)**. Reactive oxygen species, aging, and antioxidant nutraceuticals. *Comprehensive reviews in Food science and food safety* 3, 21-33.
- [82]: **Marouf, A., Reynaud, J. (2007)**. *La botanique de A à Z: 1662 définitions*. Edition. Francis Lefebvre, Paris. 342 p.
- [83]: **Guignard, J.L., Potier, P. (2000)**. *Biochimie végétale*. 2<sup>ème</sup> édition. Dunod, Paris. 274 p.
- [84]: **Meyer, S., Reeb, C., Bosdeveix, R. (2004)**. *Botanique. Biologie et Physiologie Végétale*. Edition. Maloine, Paris. 231 p.
- [85]: **Zhang, L., Lin, Y. (2008)**. Tannins from canarium album with potent antioxidant activity. *Journal of Zhejiang University Science B* 9, 407-415.
- [86]: **Min, B.R., Hart, S.P. (2003)**. Tannins for suppression of internal parasites. *Journal of Animal Science* 81, 102-109.
- [87]: **Léger, C.I. (2006)**. Antioxydants d'origine alimentaire: diversité, modes d'action antioxydante, interactions. *Oil seeds and fats, Crops and Lipids* 13, 45-69.
- [88]: **Bruneton, J. (2001)**. *Plantes toxiques, végétaux dangereux pour l'homme et les animaux*. 3<sup>ème</sup> édition. Technique de documentation, Paris. 632 p.
- [89]: **Rios-Evans, C., Miller, N.J., Paganga, G.C. (1997)**. Antioxydant properties of phenolic compound. *Trend in Plant Sciences* 2 (4), 152-159.
- [90]: **Favier, A. (2003)**. Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, 108-115.

## Références bibliographiques

---

- [91]: **Berger, M.M. (2006)**. Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. *Nutrition Clinique et Métabolisme* 20(1), 48-53.
- [92]: **Tachakittirungrod, S., Okonogie, S., Chowwanapoonpohn, S. (2007)**. Study on antioxidant activity of certain plants in Thailand: Mechanism of antioxidant action of guava leaf extract. *Food Chemistry* 103, 381-388.
- [93]: **Fu, R., Zhang, Y., Guo, Y., Chen, F. (2014)**. Antioxidant and tyrosinase inhibition activities of the ethanol-insoluble fraction of water extract of *Sapiumsebiferum* (L.) Roxb. Leaves. *South African Journal of Botany* 93, 98-104.
- [94]: **Léophonte, P. (2006)**. Stresse oxydatif et BPCO .Rôle des infections. Prévention. *Médecine et maladies infectieuses* 36(5) ,245-252.
- [95]: **Amarawicz, R., Pegg, R, B., Rahim-moghaddam, Bari, B., Weil, J.A. (2004)**. Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadien prairie. *Food chemistry* 84, 551-562.
- [96]: **Cadenas, E., Packer, L. (2002)**. Handbook of Antioxydants. 2<sup>ème</sup> édition, Taylor et Francis group, LLC, New York, p 1-4.
- [97]: **Poortsmann, J.R., Boisseau, N. (2003)**. Biochimie des activités physiques. 2<sup>ème</sup> édition. De Boeck Supérieur. Bruxelles. 638 p.
- [98]: **Rolland, Y. (2004)**. Antioxydants naturels végétaux. Oléagineux Corps gras Lipides Journal 11 (6), 419-424.
- [99]: **Curtay, J.P., Robin, J.M. (2000)**. Intérêt des complexes antioxydants. *Nutrithérapie info*. Centre d'étude et de développement de la nutrithérapie. 4 p.
- [100]: **Mata, A.T., Proença, C., Ferreira, A.R., Serralheiro, M.L.M., Nogueira, J.M.F., araújo, M.E.M. (2007)**. Antioxydant and antiacetyltransferase activities of five plants used as Portuguese food spices. *Food Chemistry* 103 (3): 778-786.
- [101]: **Giao, M.S., Gonzalez-Sanjose, M.L., Muniz, P., Rivero-Perez, M.D., Kosinka, M., Pintado, M.E., Malcata. F.X., (2008)**. Protection of deoxyribose and DNA from degradation by using aqueous extracts of several wild plants. *Journal of science Food and Agriculture* 88: 633-640.
- [102]: **Mathew, S., Abraham, T.E. (2006)**. Studies on the antioxidant activities of cinnamon (*Cinnamomum verum*) bark extracts, through various in vitro models. *Food Chemistry* 94, 520-528.
- [103]: **Leger, C.L. (2006)**. Antioxydants d'origine alimentaire: diversité, modes d'action antioxydante, interactions. *Oilseeds and fats Crops and Lipids* 13 (1): 59-69.

## Références bibliographiques

---

- [104]: **Laguerre, X., Lopez-Girland, J.L., Locomte, J., Pina, M., Villeneuve, P. (2007).** Outils d'évaluation in vitro de la capacité antioxydante. *Fondamental* 14 : 278-292.
- [105]: **Bahri, M. (2010).** Analyse génétique du métabolisme de l'acide caftarique, chlorogénique et chicorique chez *chicoriumintybus* L. : cartographie des QTL et gènes candidats Thèse de Doctorat en Sciences de Université de Lille 1. 230 p.
- [106]: **Dorman, H.J.D., Kosar, M., Kahlos, K., Holm, Y., Hiltunen, T. (2003).** Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from *Mentha* species, hybrids, varieties, and cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 4563-4569.
- [107]: **Diallo D., Sanogo R., Yasambou H., Traoré A., Coulibaly K., Maiza A., (2004).** Etude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam (Rhamnaceae) utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali. *C.R.Chimie*, 7:1073-1080.
- [108]: **Lapornik, B., Prošek, M., & Wondra, A.G. (2005).** Comparaison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. *Journal of food engineering*. 71(2): 214-222.
- [109]: **Mansouri, A., Guendez, E., Kokkalou, E., et kefalas, P. (2005).** "Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date fruit (*phonix dactylifera*) ". *Food Chemistry*, (89): 411-420.
- [110]: **Sundrarajan, R., Haja, N.A., Venkatesan, K., Mukherjee, K., Saha, B.P., Bandyopadhyay, A., Mukherjee, P.K., (2006).** *Cytisusscoparius* link-A natural antioxidant. *BMC Complementary and Alternative Medecine* 6, 1-8.
- [111]: **Coelho, M.T., Gonçalves, J.C., Alves V., Moldão-Martins, M. (2011).** Antioxydant activity and phenolic content of extracts from different *Pterospartumtridentatum* populations growing in Portugal. *Procedia food science* 1, 1454-1458.
- [112]: **Adjila, C.M., Naidu, K.A., Bhat, S.G., Prasada, Rao, U.J.S. (2007).** Bioactive compounds and antioxidant potential of Mango peel potential of Mango peel extract. *Food Chemistry* 105, 982-988.
- [113]: **Oyaizu, M. (1986).** Studies on products of browning reactions: antioxi-dative activities of products of browning reactions prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*, 44, 307-315p.

- [114]: **Prieto, P., Pineda, M., Aguilar, M. (1999).** Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a Phosphomolybdenum Complex: Specific
- [115]: **Mollick, M.M.R., Rana ,D., Dash ,S.K., Chattopadhyay, S., Bhowmick. B., Maity, D., Mondal, D., Pattanayak, S., Roy, S., Chakraborty, M. (2015).**Studies on green synthesized silver nanoparticles using *Abelmoschus esculentus* (L.) pulp extract having anticancer (in vitro) and antimicrobial applications. *Arabian journal of chemistry*.
- [116]: **Prieto, P., Pineda, M., Aguilar, M. (1999).** Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a Phosphomolybdenum Complex: Specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, pp 337-341. Doi: 10. 1006/ abio. 1999.4019.
- [117]: **Kostić, D., Velicković, J.M., Mitić S.S., Mitić, M.N., Randelović, S.S. (2012).** Teneur en phenols et activités antioxydante et antimicrobienne de l'extrait de fruit de *Crataegus Oxyacantha* L (Rosaceae) du sud-est Serbie. *Trop J PharmRes* 11(1) : 117-124.
- [118]: **Aganga, A.A., Mosasa, K.W. (2001).**Tannins content, nutritive value and dry matter digestibility of *Lonchocarouscapusa*, *Ziziphus mucropata*, *Sclerocaryabirrea*, *Kirkia acuminata* and *Rhus lancea* seeds. *Animal feed Science and Technology*, 91:107-113.
- [119]: **Pedneault, K., Leonharts. Angenol. Gosselin, A., Ramputh, A., Arnason, J.T. (2001).**Influence de la culture hydroponique de quelques plantes médicinales sur la croissance et la concentration en composés secondaires des organes végétaux. Texte de conférence. Canada, 1-5.
- [120]: **Fiorucci, S. (2006).** Activités biologiques de composés de la famille de flavonoïdes : approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire. Thèse de doctorat. Nice, 211p.
- [121]: **Barros, L., Carvalho, A.M., and Ferreira, I.C.F.R. (2010).** Comparing the composition and bioactivity of *Crataegus monogyna* flowers and fruits used in folk medicine. CIMO/Escola Superior Agrária, Instituto politécnico de Bragança, Campus de Santa, Apartado 1172, 5301-855 Bragança. Portugal.



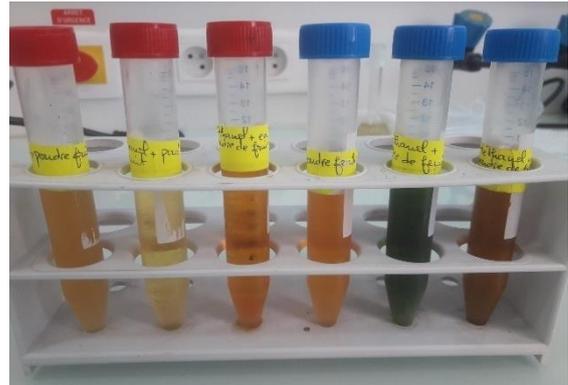
# *Annexes*

# Liste des Annexes

## Annexe I: Différentes étapes de manipulations et matériels utilisés dans cette étude



1- Filtration des extraits



2- Les extraits finaux de feuilles et de fruits



3- Analyses des extraits



4- Résultat obtenu

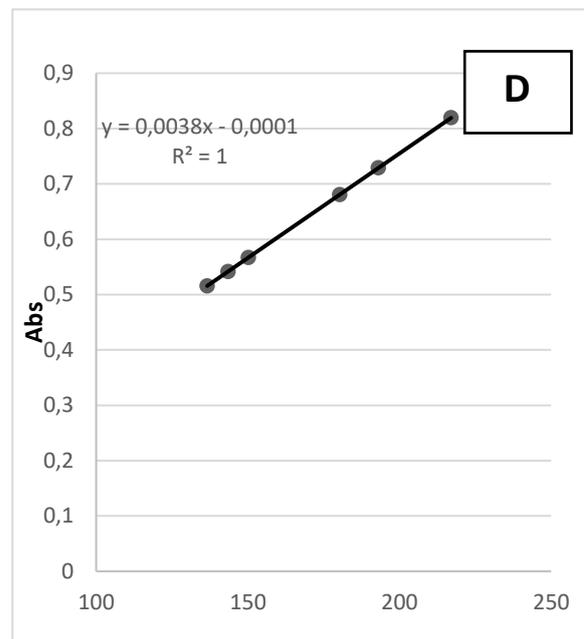
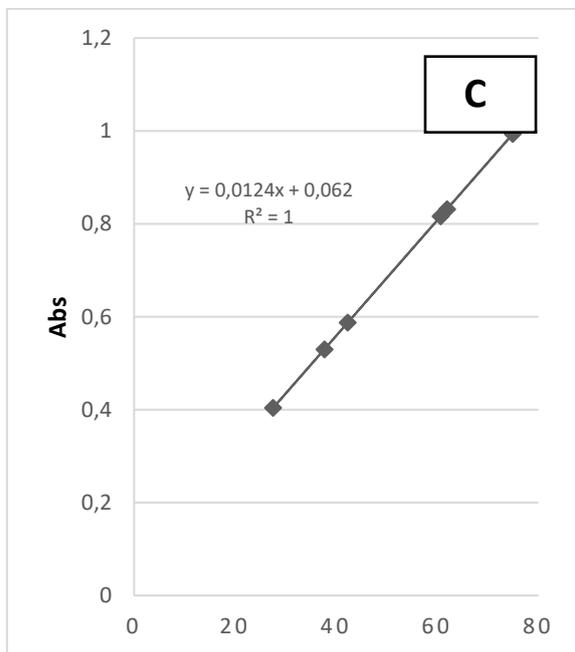
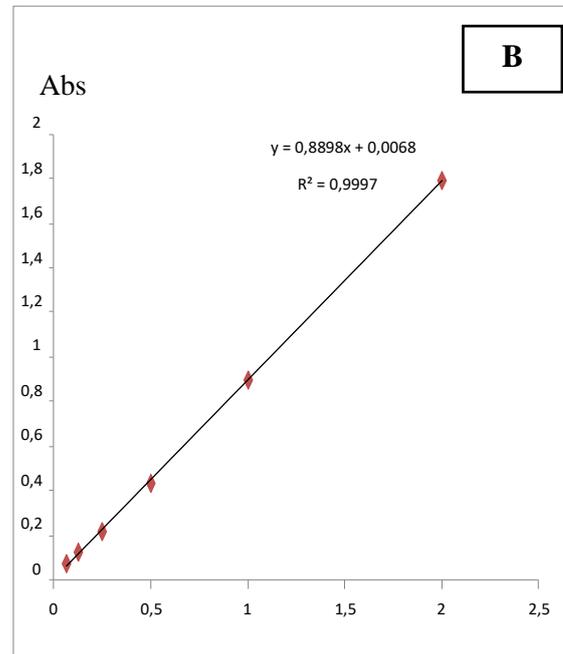
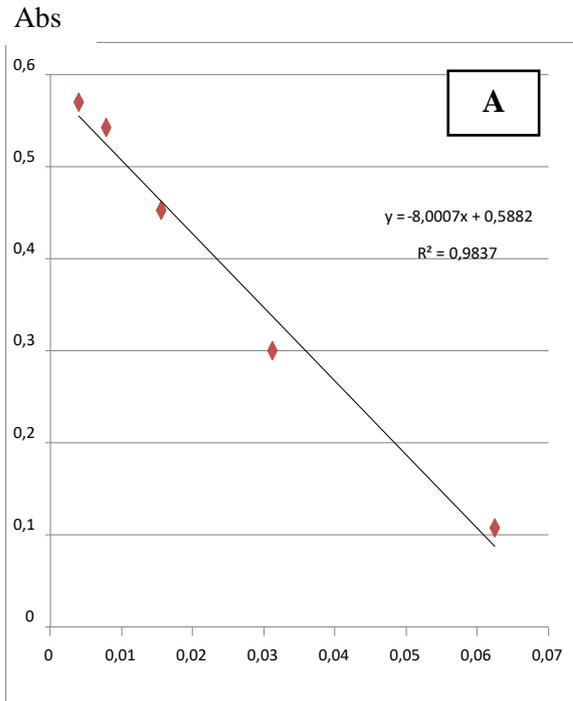


5- Spectrophotomètre à UV



6- séchage des échantillons pour l'IR

## Annexe II : Courbes d'étalonnages de DPPH(A) , Composés phénoliques(B), du pouvoir réducteur(C), du test de Phosphomolybdate d'ammonium (D),



## Résumé

La présente étude nous a permis de déterminer la teneur en polyphénols ainsi que l'activité antioxydante (activité antiradicalaire de DPPH, pouvoir réducteur, test au phosphomolybdate d'ammonium) et la spectrophotométrie à l'infrarouge de fruits et de feuilles de l'aubépine. Le résultat du dosage des polyphénols montre une différence significative entre les fruits et les feuilles d'aubépine. Le contenu phénolique dans les extraits examinés est plus retrouvé dans la partie feuilles que dans celle de fruits. L'activité antiradicalaire de DPPH des extraits d'aubépine ne présente pas une différence significative entre les feuilles et fruits d'aubépine, la même chose est notée pour le pouvoir réducteur. Le test au phosphomolybdate nous a montré que les extraits de feuilles présentent une meilleure activité par rapport aux extraits de fruits. La spectrophotométrie à l'infrarouge a révélé que les extraits de feuilles et de fruits renferment des groupements fonctionnels (liaisons chimiques : O-H, C-O, C-H, C=C). le fruit et les feuilles peuvent être considérés comme des sources importantes d'antioxydants.

**Mots clés :** Aubépine, *Crataegus Monogyna*, Activité antioxydante, Polyphénols, spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier .

## Abstract

In the present study we determined the polyphenol content as well as the antioxidant activity (DPPH antiradical activity, reducing power, ammonium phosphomolybdate test) and infrared spectrophotometry of hawthorn fruits and leaves. The result of the polyphenol assay shows a significant difference between hawthorn fruits and leaves. The phenolic content in the examined extracts is more found in the leaf part than in the fruit part. The DPPH antiradical activity of hawthorn extracts does not show a significant difference between hawthorn leaves and fruits, the same is noted for the reducing power. The phosphomolybdate test showed us that the leaf extracts had a better activity compared to leaf extracts. Infrared spectrophotometry revealed that leaf and fruit extracts contain functional groups (chemical bonds: O-H, C-O, C-H, C=C).

**Key words:** Hawthorn, *Crataegus Monogyna*, Antioxidant activity, Polyphenols, Fourier transform infrared spectroscopy.

## المخلص

سمحت لنا الدراسة الحالية بتحديد محتوى البوليفينول وكذلك النشاط المضاد للأكسدة (النشاط المضاد للجذور الحرة لـ ، تقليل الطاقة ، اختبار فوسفوموليبيدات الأمونيوم) وقياس الأشعة تحت الحمراء لثمار الزعرور وأوراقه. أظهرت DPPH نتائج فحص البوليفينول فرقاً معنوياً بين الثمار وأوراق الزعرور. تم العثور على المحتوى الفينولي في المستخلصات التي لمستخلصات الزعرور DPPH تم فحصها في جزء الورقة أكثر منه في الفاكهة. لا يُظهر النشاط المضاد للجذور الحرة فرقاً كبيراً بين أوراق الزعرور والفواكه ، ويلاحظ نفس الشيء لتقليل الطاقة. أظهر اختبار الفوسفوموليبيدات أن مستخلصات الأوراق تظهر نشاطاً أفضل مقارنة بمستخلصات الأوراق. كشف القياس الطيفي بالأشعة تحت الحمراء أن مستخلصات (يمكن اعتبار الفاكهة C = C ، C-H ، C-O ، O-H الأوراق والفاكهة تحتوي على مجموعات وظيفية (روابط كيميائية والأوراق مصادر مهمة لمضادات الأكسدة.

**الكلمات المفتاحية:** الزعرور ، النشاط المضاد للأكسدة ، البوليفينول ، التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء لتحويل فورييه.

