

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique Université A.

Mira Bejaia

*Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-chimique
Filière : Sciences Biologiques
Option : Biochimie Fondamentale*



جامعة بجاية
Tasdawit n Bgayet
Université de Béjaïa

Réf.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Dosage et évaluation de l'activité antioxydante des
extraits de *crataegus laciniata***

Réalisé par :

THILLELI Ouhaddad & YASMINA Brouk

Soutenu le : 14 septembre 2022

Devant un jury composé de :

Mr GHIDOUCHE A.	MCA	Président
Mme CHAHER-BAZIZI N.	MCA	Promotrice
Mme SEBAIHI-HARZOUN S.	MCB	Examinatrice

Année universitaire : 2021/2022

Remerciement

*Avant tout, nous remercions **Dieu** le tout puissant de nous avoir donné la santé, le courage, la volonté et la patience d'achever ce modeste travail.*

*On voudrait tout d'abord remercier notre promotrice **Mme CHAHER-BAZIZI N.** pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils tout au long de ce parcours.*

*Toutes nos gratitude s'adressent aussi aux membres de jury : **Mr GHIDOUCH** qui nous a fait l'honneur d'évaluer ce travail et de présider le jury, **Mme SEBAIHI-HARZOUN S.** pour avoir accepté d'examiner ce mémoire*

*Comme on tient à remercier tout le personnel du laboratoire de génétique pour leurs soutiens constants et consistants, **Mme SAIDENE** en particulier pour sa disponibilité et ses Précieux conseils.*

Enfin, nous tenons aussi à remercier toutes les personnes ayant contribué de prêt ou de loin dans l'élaboration de ce travail.

Dédicaces

Prière et bénédiction d'Allah sur le prophète Mohamed paix et salut sur lui les ceau des prophètes ainsi que ses compagnons pour nous avoir apporté une religion comme l'Islam.

*Je dédie ce modeste travail A **mes chères parentes** ;*

Quoique je fasse, je ne pourrais vous remercier pour tous les sacrifices que vous avez faits pour moi et pour vous encouragement.

*A mon frères **ANIS***

*A ma sœur **Leticia***

*A tout **ma famille** de côté père et mère A mes chers **oncles***

*A mes chères **tantes** en particulier **Latifa** et **hjila***

*A lame de **mon grand-père Arezki** et ma cher tante **Bouba** A mes chères **cousins** et **cousines** en particulier **djidji, Souad, maha, Zakia.***

*A ma meilleure amie **Thanina** qui a été toujours là pour Moi.*

A tous mes amies, mes collègues et tous les étudiants de notre

Promotion 2021/2022



Ou.Thileli

Dédicaces

*Avec l'aide et la grâce de Dieu j'ai pu réaliser ce modeste travail
que je dédie particulièrement :*

*A ma très chère **MAMAN**, symbole de la bonté et de la
générosité. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour
exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé
de me donner depuis Ma naissance.*

*A Mon très cher **père** pour ces sacrifices et son soutien tout au
long de ma vie.*

*Mes frères et sœurs : **adel, nassim, dihya, kenza et farjellah** à qui
je souhaite une vie pleine de bonheur, de santé et de réussite*

*A mes chères cousins et cousines en particulièrement **sabrina,
firouze, sylvia, kamilya, lahna et siham.***

*A toutes la famille **Brouket** toute la famille **Sami.***

*A mes chères copines **sarah et ghenima.***

*A mes chères amies, mes fidèles compagnons, qui étaient toujours
à mes côtés : **fatiha, zahoua, massilia, kamilya.** Je vous remercie
pour tous les moments que nous avons passés ensemble et les
souvenirs qui resteront gravé dans ma mémoire.*

*A tous mes **amies, mes collègues** et tous **les étudiants** de notre
Promotion 2021/2022 de biochimie fondamentale.*



B.yasmina

SOMMAIRE

- Liste des tableaux
- Liste des figures
- Liste des abréviations

Introduction	1
---------------------------	---

Synthèse bibliographique

1. Généralité sur crataegus laciniata	3
1.1. Description botanique de crataegus laciniata	3
1.2. Distribution géographique.....	3
1.3. Etymologie et origine	3
1.4. Classification botanique	4
1.5. Dénomination vernaculaire	4
1.6. Utilisation traditionnelle de la plante	4
2. Radicaux libres et stress oxydant.....	5
2.1. Les radicaux libres	5
2.2. Le stress oxydant.....	6
3. Antioxydants	6
3.1. Définition	6
3.2. Mécanisme d'action des antioxydants.....	6
3.3. Classification des anti-oxydants.....	6
3.3.1. Les antioxydants enzymatiques	6
3.3.2. Les antioxydants non enzymatiques	7
3.3.3. Métabolites secondaires.....	7
4. Méthodes d'extraction	11
4.1. Méthodes conventionnelles	11
4.1.1. Macération	11
4.1.2. Décoction.....	12
4.1.3. Extraction à chaud en continu (Soxhlet).....	12
4.2. Nouvelles méthodes	13
4.2.1. L'extraction assistée par ultrasons (EAU).....	14
4.2.2. L'extraction assistée par micro-ondes (MAE)	14

Materiel et méthodes

1. Matériel végétal	17
2. Méthodes	17
2.1. Préparation de la matière végétale	17
2.2. Méthodes d'extractions	18
3. Analyse chimique.....	19
3.1. Dosage des polyphénols totaux	19
3.2. Dosage des flavonoïdes.....	19

4. Activité antioxydant.....	20
4.1. Mesure du pouvoir réducteur	20
4.2. Test de blanchiment du β carotène.....	20
4.3. Test capacité antioxydant total (TCA)	21
5. Analyse	22
5.1. La chromatographie liquide à haute performance (HPLC).....	22
5.2. Spectroscopie infrarouge.....	22
5.3. La Spectroscopie d'absorption atomique (SAA)	23
6. Analyse statistique	24
Résultats et discussion	
1. Analyse chimique.....	26
1.1. Teneur en polyphénols totaux, flavonoïdes.....	26
2. Evaluation de l'activité antioxydant	27
2.1. Mesure du pouvoir réducteur	27
2.2. Blanchissement de la β -carotène couplé à l'auto-oxydation de l'acide linoléique	28
2.3. Capacité Antioxydant Totale (TAC)	29
Conclusion et perspectives	37
Références bibliographiques	38
Annexes	45

Listed figures

N°	Titre	Page
1	Photographie de la plante <i>Crataegus laciniata</i>	3
2	Structure chimique du groupement phénolique	8
3	Classe des composées phénoliques	8
4	Structure de base des flavonoïdes	9
5	Structure des flavonoïdes (aglycones) et position des principaux substituants	9
6	Structure des tanins hydrolysables (1-O-galloyl-4,6-hexahydroxydiphényl β -D-glucose(OG β DG))	10
7	Structure de tanins condensés	11
8	Décoction	12
9	Appareil expérimental d'extraction Soxhlet	13
10	Schéma montrant la conception technologique de l'extraction assistée par ultrasons (EAU)	14
11	Schéma d'un système micro-onde extraction (MAE)	15
12	Figures représentent les fruits et feuilles de la plantes <i>Crataegus laciniata</i> .	17
13	Figures de poudres obtenues sa près broyage.	18
14	Figure représente Un spectromètre FTIR avec ses deux accessoires.	23
15	Les deux figures représentent l'appareil spectrométrie d'absorption atomique (SAA) avec les étalons des métaux préparés.	24
16	Mesure du pouvoir réducteur des extraits de plante de <i>crataegus laciniata</i> .	28
17	Mesure de pourcentage d'inhibition de blanchiment de la bêta-carotène pour les extraits de feuille et fruit du <i>Crataegus laciniata</i> .	29
18	Mesure de l'activité antioxydante totale de l'extrait de feuille et fruit de <i>Crataegus laciniata</i>	30
19	Chromatogramme de l'extrait fruit macération de <i>Crataegus laciniata</i> .	31
20	Chromatogramme de l'extrait fruit Soxhlet de <i>Crataegus laciniata</i> .	31

21	Chromatogramme de l'extrait feuille Soxhlet de <i>crataegus laciniata</i> .	32
22	Chromatogramme de l'extrait feuille macération de <i>crataegus laciniata</i> .	32
23	Spectre de l'analyse par FTIR d'extrait HF _s dans la région 4000-500cm ⁻¹ .	34
25	Spectre de l'analyse par FTIR d'extrait HL _m dans la région 4000-500cm ⁻¹ .	34
26	Spectre de l'analyse par FTIR d'extrait HF _m dans la région 4000-500cm ⁻¹ .	34

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
I	Dénominations vernaculaires.	4
II	Espèces réactives de l'oxygène.	5
III	Avantages et inconvénients de la méthode Soxhlet.	13
IV	Dosages des polyphénols, des flavonoïdes dans les extraits des feuilles et fruit du <i>crataegus laciniata</i> .	26
V	Temps de rétention des standards.	32
VI	Temps de rétention des pics issus des extraits.	33
VI	Résultats des analyses Mg et Zn par SAA.	35

Liste des abréviations

AAE : Equivalents d'acide ascorbique

EAG : Equivalent de l'acide gallique

EAU : Extraction assistée par ultrasons

ERO : Espèce réactive de l'oxygène

IRTF : infrarouge à transformée de fourier

GPX : glutathion peroxydase

HLm: Hawthorn leaf macération

HLs: Hawthorn leaf Soxhlet

HFm: hawthorn fruit maceration

HFs: hawthorn fruit Soxhlet

CLHP : chromatographie liquide à haute performance

MAE : Extraction assistée par micro-ondes

OPC : Oligomères procyanidines

PH : potentiel hydrogène

PR : pouvoir réducteur

SAA : spectroscopie d'absorption atomique

SOD: superoxyde dismutase

TCA: Acide trichloracétique

TR : temps de rétention

Introduction générale

Les dernières décennies sont marquées par l'intérêt particulier porté à la mise en valeur des plantes à intérêt thérapeutique comme sources de substances bioactives naturelles produites sous forme de métabolites secondaires (**El-Haci et al.,2012**).

Des recherches ont montré que les métabolites issus des plantes représentent une source importante d'antioxydants naturels tels que les polyphénols, avec des effets potentiellement bénéfiques pour la santé humaine (**Thaipong et al.,2006**).

L'aubépine est l'une des plantes médicinales qui ont été utilisées comme médecine naturelle depuis de nombreux siècles comme remède pour diverses pathologies tel que la grippe, les hémorroïdes, l'asthme, Etc... (**Rocchetti et al.,2019 ; Caliskan,2015**).

Différents constituants chimiques ont été identifiés dans la feuille d'aubépine, notamment des flavonoïdes, des triterpénoids, des stéroïdes, des lignanes, des acides organiques et des composés azotés, dont les flavonoïdes sont la classe la plus abondante (**Chunmei et al.,2019**).

De nombreuses études réalisées sur l'aubépine notamment sur l'activité antioxydante pour évaluer la richesse de cette plante en composés phénoliques (**Bahorun et al.,1994 ; Wen et al.,2015**).

Ceci nous a incités à étudier la capacité antioxydante de l'espèce *Crataegus laciniata* afin d'enrichir les connaissances de ses activités biologiques, dans le cadre des travaux du Laboratoire de Biochimie Appliquée de l'Université de Béjaïa.

L'objectif fondamental de ce travail est d'évaluer l'activité antioxydante des polyphénols des extraits de feuilles et fruits de cette plante, en utilisant deux méthodes d'extraction conventionnelle, et des techniques telles que la SAA, IRTR, CLPH pour connaître le profil des extraits des deux parties de la plante.

*Chapitre I : Synthèse
Bibliographique*

1. Généralité sur *crataegus laciniata*

1.1. Description botanique de *crataegus laciniata*

La plante *crataegus laciniata* (aubépine) appartenant à la famille des Rosacées c'est un arbuste buissonnant, épineux. Ses feuilles sont sous forme caduque de couleur vert, possèdent 5 à 9 lobes insérées isolément sur un axe à différents niveaux, ses fleurs sont de couleur blanche et sont porté généralement sur un seul plan par des pédoncules de longueurs inégales, le fruit est charnu et de couleur rougeâtre (**Bachiri et al.,2015 ; Ngoc et al.,2019**). La figure 1 représente une photographie de la plante.



Figure 1 : photographie de la plante *crataegus laciniata* (**Bachiri et al.,2015**).

1.2. Distribution géographique

Cette espèce de *crataegus* se trouve principalement dans des zones tempérées, y compris des pays comme l'Afrique du Nord, l'Asie de l'Ouest, l'Inde, la Chine et l'Amérique du Nord (**Kumar et al., 2012**).

Crataegus laciniata se rencontre dans les forêts rocailleuses au-dessus de 1 300 m d'altitude, dans les pelouses, des montagnes calcaires, siliceuses et dans les sols riches en éléments fins (**Emberger.,1938**).

1.3. Etymologie et origine

Le genre *crataegus* comprend plusieurs espèces, L'aubépine est le nom commun de toutes les espèces végétales de ce dernier. Le nom botanique *crataegus* est dérivé de mots grecs : *karatos* qui signifie la « dureté » ou « force » du bois (**Kumar et al., 2012**).

1.4. Classification botanique

La classification de la plante *crataegus laciniata* Selon Bellakhdar, (1997), est donnée comme suite :

- **Règne** : Planta (Plantes)
- **Sous-règne** : Tracheobionta (plantes vasculaires)
- **Embranchement** : Spermatophyta (spermaphytes)
- **Sous embranchement** : Angiospermae (angiospermes)
- **Classe** : Magnoliophytes (dicotylédones)
- **Famille** : Rosaceae
- **Genre** : Crataegus
- **Espèce** : *Crataegus laciniata*.

1.5. Dénomination vernaculaire

Plusieurs noms vernaculaires de *crataegus laciniata* selon (bellakhdar,1997 ; Bachiri et al.,2015).

Tableau I : dénominations vernaculaires.

Langues	Noms vernaculaires
Français	Aubépine lacinié, bois de mai, épine de mai, poire d'oiseau, cenelle, Valériane du cœur
Anglais	Hawthorn
Arab	Tabgha
Kabyle	Admam
Latin	<i>Crataegus laciniata</i>

1.6. Utilisation traditionnelle de la plante

En plus d'être un usage alimentaire, *crataegus* est également plantes médicinales populaire utilisée pour diverses fins thérapeutiques pendant de nombreux siècles. En médecine populaire arabe, une décoction de feuilles et de fruits non mûrs de *Crataegus* est utilisée pour traiter les maladies cardiovasculaires, le cancer, le diabète et la faiblesse sexuelle (Rocchetti et al.,2019).

Les fruits et feuilles d'aubépine ont une valeur médicale avec des effets thérapeutiques favorables (Qin et al.,2019).

Les fruits de quelques espèces de crataegus étaient employés dans l'alimentation humaine malgré sa faible saveur et le manque de suc. Ces fruits étaient récoltés et consommés crus, surtout en année de disette, En médecine chinoise traditionnelle, le fruit est isolé pour ses propriétés stimulantes de la digestion, et de la fonction gastrique et l'amélioration de la circulation sanguine (Mohand.,2006 ; Ngoc et al.,2019).

En Turquie, la feuille, la fleur, le germe et la racine de l'espèce Crataegus ont été utilisés en médecine traditionnelle pour traiter diverses maladies telles que la toux, la grippe, l'asthme, les maux d'estomac, les douleurs rhumatismales, la néphrite, les hémorroïdes, etc... (Caliskan.,2015).

2. Radicaux libres et stress oxydant

2.1. Les radicaux libres

Un radical libre est une molécule, ou simple atome, capable d'avoir une existence indépendante en contenant un ou plusieurs électrons non appariés, Cela lui confère une grande réactivité (Goudable, 1997).

Les espèces oxygénées réactives (EOR) sont des intermédiaires chimiques à base d'oxygène très réactifs (Shankar, et Mehendale,2014) dont les radicaux libres primaires de l'oxygène (radical superoxyde, radical hydroxyle, radical alkoxyde, etc....) mais aussi Certains dérivés réactives non radicalaires (radicaux secondaires) dont la toxicité est plus Importante tels que le peroxyde d'hydrogène et le peroxyde d'azote(Halliwell et Whitman, 2004).Le tableau II, résume les divers EOR.

Tableau II : Espèces réactives de l'oxygène (Kohen et Nyska, 2002).

Espèces radicalaires	Espèces non radicalaires
<ul style="list-style-type: none">Anion superoxyde $O_2^{\bullet -}$Radical hydroxyle OH^{\bullet}Radical peroxyde ROO^{\bullet}Radical alkoxyde RO^{\bullet}Monoxyde d'azote NO^{\bullet}	<ul style="list-style-type: none">Peroxyde d'hydrogène H_2O_2Peroxyde organique $ROOH$Acide hypochlorique $HOCl$Oxygène singulet 1O_2Peroxyde d'azote $ONOO^-$

2.2. Le stress oxydant

Le stress oxydant résulte d'un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les capacités de défense antioxydant de l'organisme (**Baudin, 2020**).

L'augmentation des EOR peut jouer un rôle important dans le processus normal de vieillissement et dans la pathogenèse de nombreuses maladies chroniques, notamment le cancer, l'athérosclérose, les maladies cardiovasculaires, le diabète, les maladies de Parkinson et d'Alzheimer, les lésions hépatiques et le dysfonctionnement immunitaire (**Shankar et Mehendale, 2014**).

3. Antioxydants

3.1. Définition

Les antioxydants sont des molécules ayant la capacité de neutraliser des radicaux libres qui sont responsables de nombreuses maladies et sont des composés qui inhibent ou retardent le processus d'oxydation en bloquant l'initiation ou la propagation des chaînes de réactions oxydatives (**Behera et al., 2006**).

3.2. Mécanisme d'action des antioxydants

Les substances antioxydantes sont capables en s'oxydant de récupérer l'électron libre et de la conduire vers une réaction chaîne spécifique. Il s'agit en quelque sorte de substances à effet tampon : lorsqu'elles sont présentes dans des zones à risque comme les membranes des cellules, certaines protéines ou l'ADN, elles les protègent en canalisant l'électron dangereux vers une voie métabolique précise (**Leverve, 2009**).

3.3. Classification des anti-oxydants

L'organisme possède des systèmes de défense très efficaces de deux types :

3.3.1. Les antioxydants enzymatiques

Représentés principalement par trois enzymes ; la superoxyde dismutase (SOD), la catalase et la glutathion peroxydase (GPx) (**Goudable et Favier., 1997**).

- **La superoxyde dismutase (SOD)**

Accélère la dismutation de l'anion superoxyde en Peroxyde d'hydrogène en diminuant sa durée de vie (**Sorg, 2004**).

- **La catalase**

Agit en synergie avec les SOD, son rôle est de transformer le peroxyde D'hydrogène en simples molécules d'eau et oxygène moléculaire (**Sorg, 2004**).

- **Les glutathion peroxydases (GSHPX)**

Les GSHPX réduisent le peroxyde d'hydrogène H₂O₂ et les hydro peroxydes lipidiques.

Pour leur fonctionnement, elles utilisent le glutathion réduit (GSH) comme cofacteur sur lequel ils transfèrent l'oxygène, le transformant en glutathion oxydé (GSSG) (**Goudable et Favier.,1997**).

3.3.2. Les antioxydants non enzymatiques

Cette classe regroupe des composés endogènes de faible poids moléculaire qui peuvent être soit des produits de synthèse (glutathion) ou issus du métabolisme cellulaire (acide urique), capables de réagir directement ou indirectement avec les EOR. Le mécanisme indirect implique la chélation des métaux de transition ce qui empêche la production du radical hydroxyle, hautement toxique. Les antioxydants à action directe sont capables de donner des électrons à l'oxygène radicalaire afin qu'ils puissent le piéger, l'empêchant ainsi d'attaquer les structures biologiques. Ils peuvent agir comme agents réducteurs capables de passer leurs électrons aux EOR et les éliminer (**Kohen etNyska, 2002**).

3.3.3. Métabolites secondaires

Ce sont des substances exogènes apportées par l'alimentation, telles que les vitamines E(tocophérols), C (acide ascorbique), Q (ubiquinone), β -carotène, les oligo-éléments (sélénium, cuivre, zinc, manganèse), les caroténoïdes, les alcaloïdes, polyphénols (**Favier, 2003**).

Les polyphénols constituent une famille de composés qui sont omniprésents dans le règne végétal, Les nombreuses propriétés de ces composés relatives à la santé, largement décrites dans des études épidémiologiques, sont principalement fondées sur leurs activités antioxydantes (**El-Haci et al.,2012**).

• Activité antioxydante

Dans certaines études in vivo, différents extraits d'aubépine des fruits, des feuilles possèdent une activité antioxydante, cette activité est susceptible d'être liées aux oligomères procyanidines (OPC) et les flavonoïdes (**Bahorun et al.,1994**).

3.3.3.1. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques font partie des métabolites secondaires que l'on trouve principalement dans les espèces végétales : les fruits, les légumes, le thé, le vin, le café, et sont responsables des caractéristiques organoleptiques des aliments végétaux. Leur interaction avec la glycoprotéine salivaire induit l'amertume des fruits et peuvent également contribuer à la couleur de nombreux fruits et légumes (**Alara et al., 2021**).

Parmi plusieurs types des composés phénoliques qui existent chez les plantes, les flavonoïdes, les tanins et les phénols sont les plus dominants.

A. Principales structures phénoliques

Comme leur nom l'indique, les polyphénols se caractérisent par la présence d'au moins Un noyau benzénique portant au moins un groupement hydroxyle comme représenté sur la figure 2.

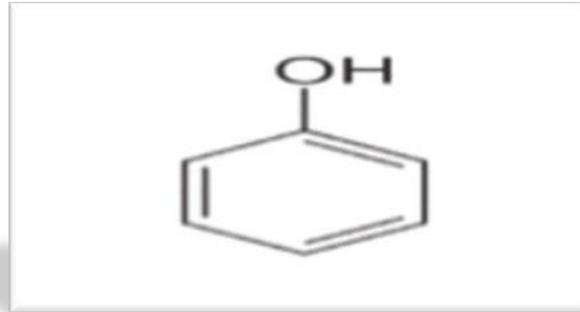


Figure 2 : Structure chimique du groupement phénolique (Alara et al., 2021).

B. Principales classes structurales de composés phénoliques

Les composés phénoliques peuvent être divisés en quatre grandes classes (acides phénoliques, flavonoïdes, stilbènes et tannins), en fonction du nombre de cycles phénoliques et des substituants qui leur sont attachés (Gil-Martín et al., 2022), Comme indiqué sur la figure 3.

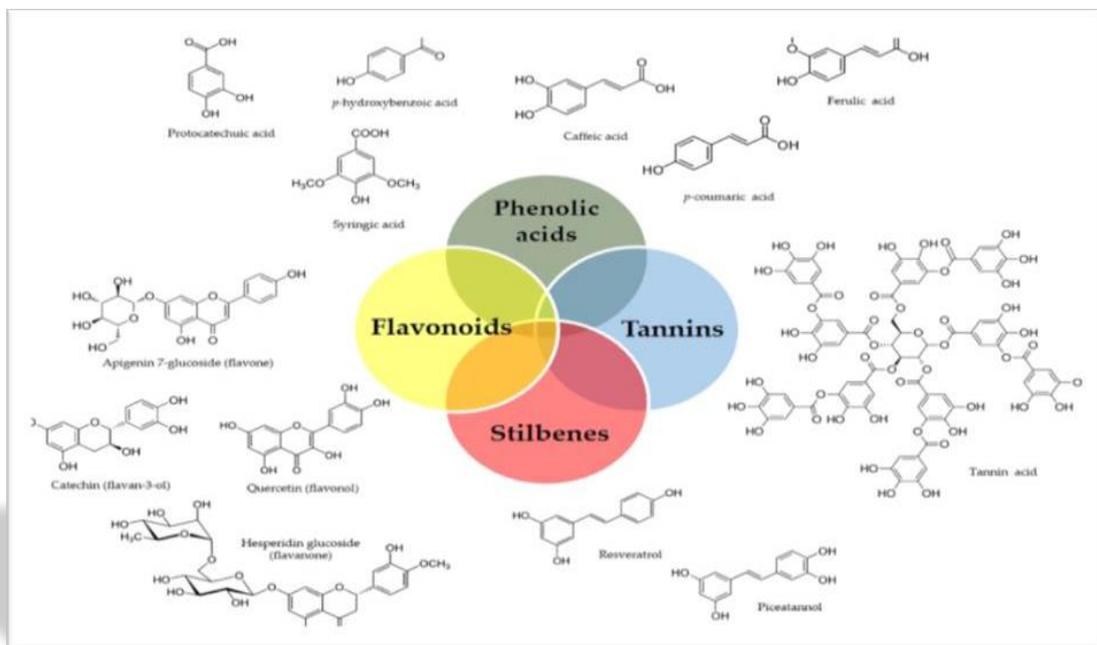


Figure 3 : classe des composées phénoliques (Gil-Martín et al., 2022).

B.1. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont les principaux polyphénols présents dans l'alimentation humaine et sont composés d'un noyau de flavane avec 15 atomes de carbone disposés en 3 cycles tels que C6-C3-C6 étiquetés A, B et C, La bio activité des flavonoïdes dépend des schémas de substitution Structurale dans leurs cycles C6-C3-C6 (Alara et al., 2021 ; Nan et al.,2022). La structure de base est schématisée dans la figure 4.

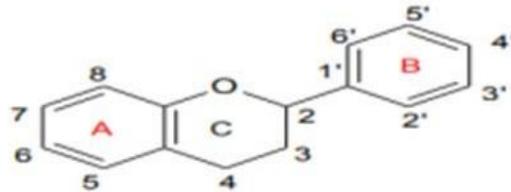


Figure 4 : Structure de base des flavonoïdes (Orsat et al.,2017).

Il existe six sous-groupes de flavonoïdes, sont les flavones, les flavanones, les flavanols, les flavanols, les anthocyanines, et les isoflavones.

Les différences dans la structure de chaque sous-groupe sont en partie attribuées au modèle et au degré d'hydroxylation, prénylation, glycosylation ou méthylation. Les flavonoïdes les plus courants sont la quercétine, la catéchine, la naringénine, le cyanidin glycoside et la daidzéine (Stoclet et al., 2011). La figure 5 résume la structure des flavonoïdes (aglycones) et position des principaux substituants.

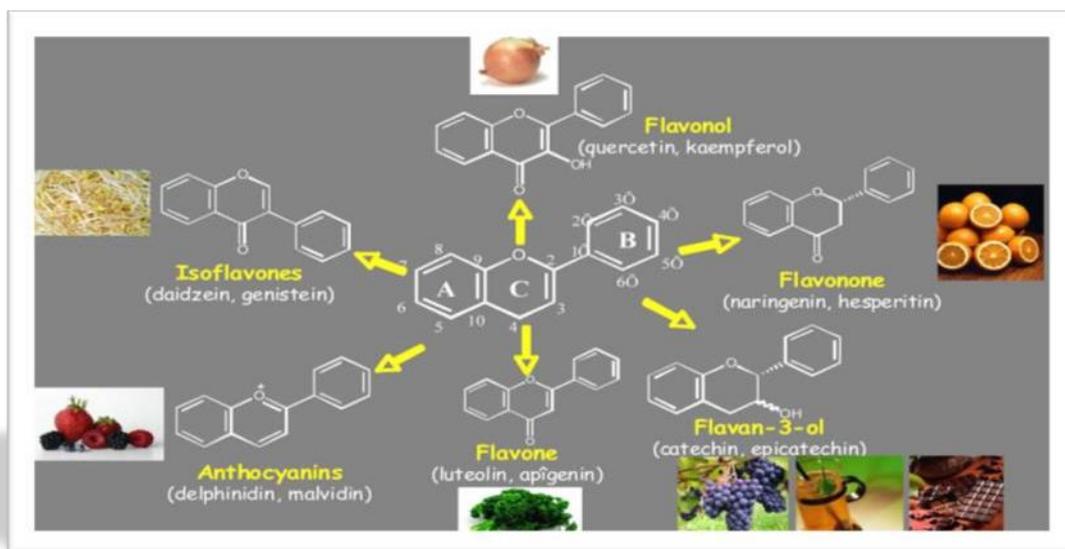


Figure 5 : Structure des flavonoïdes (aglycones) et position des principaux substituants (Stoclet et al., 2011).

B.2. Les tanins

Les tanins sont, après les lignines, la source la plus abondante de biomolécules aromatiques naturelles. Les tanins sont présents dans toutes les plantes vasculaires et certaines plantes non vasculaires.

Au cours des dernières décennies, les tanins ont été développés et modifiés chimiquement pour le développement de nouveaux polymères biosourcés, grâce à leurs fonctionnalités apportées par des groupements hydroxyles phénoliques et aliphatiques.

Leur rôle dans les plantes vasculaires est de se défendre contre les attaques de champignons ou d'insectes (Arbens et Avérous., 2015).

Les tanins sont généralement subdivisés en deux groupes : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Alara et al.,2021).

• Les tanins hydrolysables

Cette sous-classe résulte des esters du D-glucose, de l'acide gallique ou de ses dérivés en particulier l'acide ellagique (Arbens et al., 2015), comme représentée sur la figure 6.

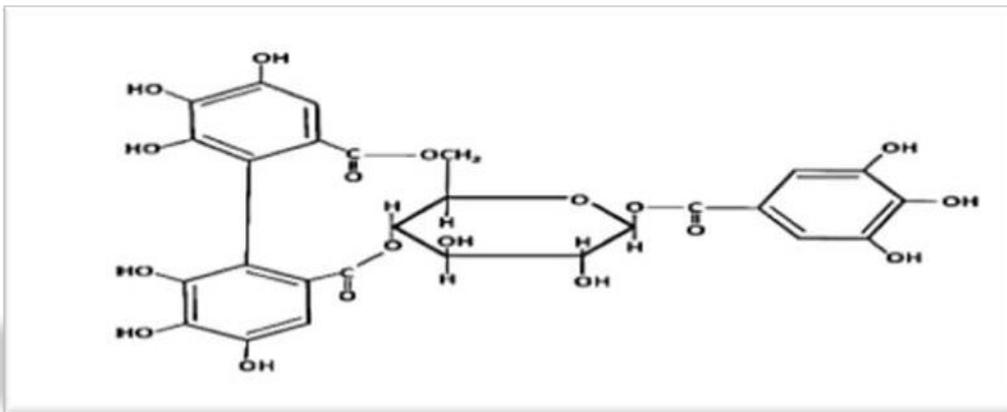


Figure 6 : Structure des tanins hydrolysables (1-O-galloyl-4,6-hexahydroxydiphenoyl β - D-glucose (OG β DG) (Arbens et al., 2015).

• Tanins condensés

Appelés aussi pro anthocyanidines, ce sont des polymères de flavonoïdes (Lepoldini et al., 2011), comme représentée sur la figure 7.

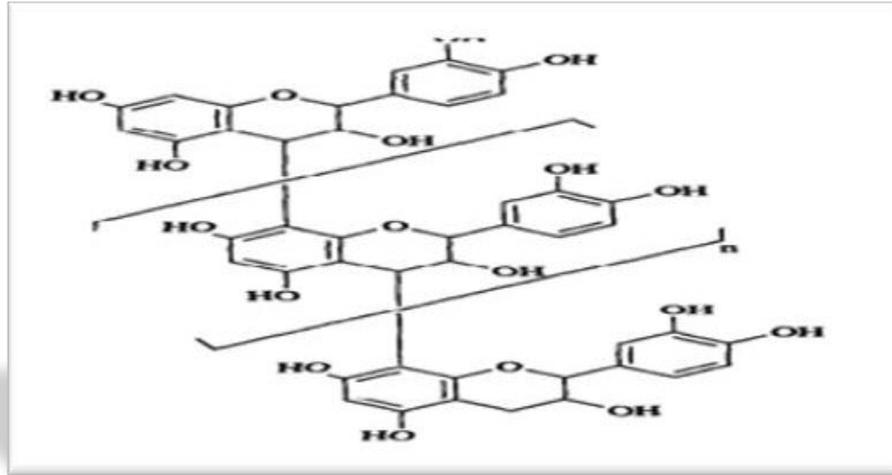


Figure 7 : Structure de tanins condensés (Grayer et al.,1992).

4. Méthodes d'extraction

L'extraction est une opération qui consiste à isoler certains composés de certains organismes comme les végétaux à l'aide de diverses méthodes (Mahmoudi et al.,2013).

Le choix de la méthode d'extraction est basé sur des données préliminaires sur les caractéristiques physico-chimiques des métabolites à extraire. Il existe de nombreuses méthodes d'extraction (solide-liquide) des composés phytochimiques : conventionnelles et nouvelles (Luque de Castro et Garcia-Ayuso, 1998).

4.1. Méthodes conventionnelles

Les technologies conventionnelles sont les processus qui sont bien établis dans l'industrie depuis des décennies et considérés comme sûrs et fiables (Nirmal et al.,2021). Comprennent la macération, la décoction, la percolation, l'extraction thermique continue (Soxhlet) et le chauffage à reflux (Luque de Castro & Garcia-Ayuso, 1998).

4.1.1. Macération

La macération est aujourd'hui largement utilisée par les phétochimistes, groupes de recherche, tant dans le secteur public que privé (Gori et al.,2021).

Dans ce processus, la poudre végétale est placée dans un récipient avec le solvant et on laisse reposer à la température ambiante pendant une période d'au moins 3 jours en agitant fréquemment jusqu'à ce que la matière soluble soit dissoute. Le mélange est alors tendu, le marc (la matière solide humide) est pressé, et les liquides combinés sont clarifiées par filtration ou décantation après repos (Handa.S,2008).

L'avantage de cette technique est le faible coût d'investissement, et la sélectivité peut être réglée par le choix du solvant, Et l'inconvénient de cette dernière est la Destruction thermique de certains composés (**Kumar et Sit.,2022**).

4.1.2. Décoction

Dans ce procédé, la poudre végétale est bouillie dans un volume donné d'eau pour un temps défini, il est ensuite refroidi et filtré ou tendues. Ce procédé est adapté à l'extraction de composants hydrosolubles et thermiquement stables (**Handa.S,2008**) comme représenté sur la figure 8.



Figure 8 : décoction (**Alara et al., 2021**).

4.1.3. Extraction à chaud en continu (Soxhlet)

L'extraction Soxhlet est une technique polyvalente et bien établie qui surpasse les autres techniques d'extraction conventionnelles (**Lijunet Curtis.,2006**).

Un extracteur Soxhlet est une pièce de verrerie utilisée pour extraire les molécules aromatiques de la plante. Quand le ballon est chauffé, les vapeurs de solvants passent par le tube adducteur, se condensent dans le réfrigérant et retombent dans le corps de l'adducteur, faisant ainsi macérer les résidus dans le solvant. Le solvant condensé s'accumule dans l'extracteur jusqu'à atteindre le sommet du tube siphon, qui provoque alors le retour du liquide dans le ballon, accompagné des substances extraites. Le solvant contenu dans le ballon s'enrichit progressivement en composés soluble. La taille du corps en verre étant limitée, il peut être nécessaire de réaliser plusieurs extractions successives pour récupérer une quantité suffisante d'extrait (**Mahmoudi et al.,2013**) comme représenté sur la figure 9. Dans le ballon, accompagné des substances extraites. Le solvant contenu dans le ballon s'enrichit progressivement en composés soluble. La taille du corps en verre étant limitée, il peut être nécessaire de réaliser plusieurs extractions successives pour récupérer Une quantité suffisante d'extrait (**Mahmoudi et al.,2013**) comme représenté sur la figure 9.

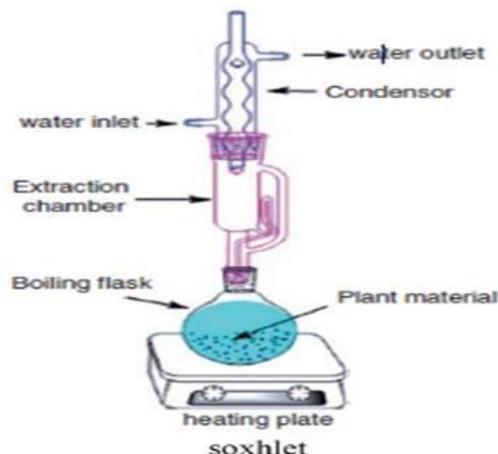


Figure 9 : Appareil expérimental d'extraction Soxhlet (Alara et al.,2021).

Le **Tableau III** représente avantages et inconvénients de la méthode Soxhlet.

Tableau III : avantages et inconvénients de la méthode Soxhlet (Luque de Castro et Garcia-Ayuso, 1998 ; Lijun et Curtis,2006).

Avantages	Inconvénients
<ul style="list-style-type: none"> *Le déplacement de l'équilibre de transfert en mettant de façon répétée du solvant frais en contact avec la matrice solide. *Le maintien d'une température d'extraction relativement élevée grâce à la chaleur du ballon de distillation. *L'absence de filtration après la lixiviation *laméthodeSoxhletesttrèssimpleetpermettelarépétitionducycled'extraction Jusqu'à l'épuisement. 	<ul style="list-style-type: none"> *le temps d'extraction est long. *l'agitation ne peut pas être assurée. *l'agitation ne peut pas être fournie dans le dispositif Soxhlet pour accélérer le processus *la grande quantité de solvant utilisée nécessite une procédure d'évaporation/concentration.

4.2. Nouvelles méthodes

Sont des techniques basées sur un concept non thermique, la réduction de la durée du processus, l'amélioration de la qualité et du rendement, la stabilité fonctionnelle et la réduction de l'énergie (Nirmal et al.,2021). Dans cette catégorie des méthodes nouvelles on peut citer l'extraction à ultrasons, Extraction assistée par micro-ondes (MAE).

4.2.1. L'extraction assistée par ultrasons (EAU)

L'extraction assistée par ultrasons est une nouvelle méthode d'extraction qui s'est révélée capable de réduire les temps d'extraction et d'augmenter les rendements (**Dassoff et Li., 2019**).

Consiste à utiliser des ultrasons à des fréquences allant de 20 kHz à 2000 kHz, engendrant de très hautes températures (augmentation solubilité et diffusivité) et des pressions (amélioration de la pénétration et du transfert de matière) entre la matrice végétale et le solvant (**Lijun & Curtis., 2006**), La figure 11 représente la conception technologique de l'extraction assistée par ultrasons (EAU).

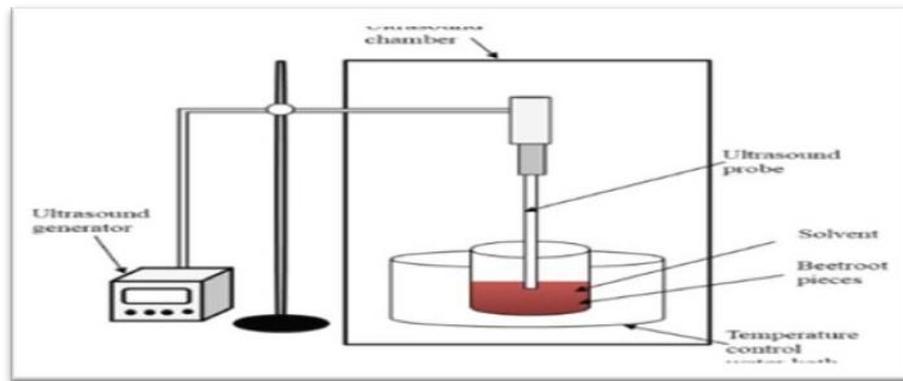


Figure 10 : Schéma montrant la conception technologique de l'extraction assistée par ultrasons (EAU) (**Nirmal et al., 2021**).

4.2.2. L'extraction assistée par micro-ondes (MAE)

Les micro-ondes sont utilisées depuis la Seconde Guerre mondiale, suite au développement de la technologie radar, L'extraction assistée par micro-ondes (MAE) utilise le rayonnement micro-ondes comme source de chauffage du mélange solvant-échantillon. (**Kaufmann & Christen., 2002 ; Camel., 2001**).

Cette technique d'extraction a fait l'objet d'une attention croissante en tant qu'alternative potentielle aux extractions solide-liquide (SLE) pour l'extraction de métabolites secondaires des plantes (**Brachet et al., 2002**).

Un effet spécifique des micro-ondes sur le matériel végétal a été constaté. Elles interagissent sélectivement avec les molécules d'eau libre présentes dans les glandes et les systèmes vasculaires. Entraînant un chauffage rapide et une augmentation de la température, suivis par la Rupture des parois et libération des huiles essentielles dans le solvant (**Camel., 2001**) le système micro-onde d'extraction (MAE) est schématisée dans la figure 11.

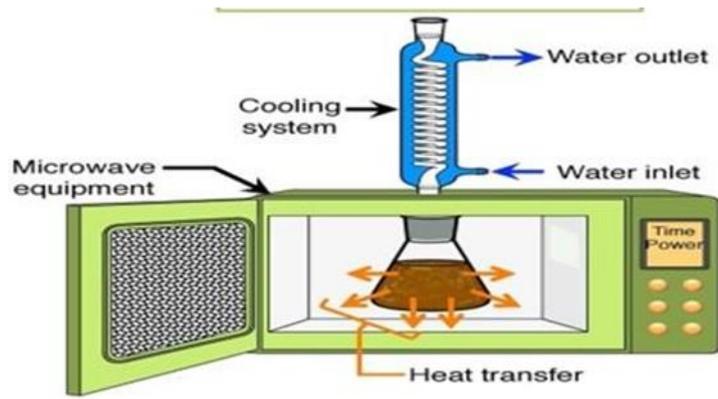


Figure11 : schéma d'un système micro-onde extraction (MAE) (Koubaa et al.,2022)

Chapitre II : Matériels et Méthodes

1. Matériel végétal

Cette étude a été réalisée sur les feuilles et fruit d'une espèce de la famille des rosacées appelée *Crataegus laciniata*.

Les feuilles et fruits du *Crataegus laciniata*, préalablement identifiées, ont été récoltées au mois d'Octobre 2021 dans la région de Djurdjura.



Figure 12 : photos des fruits (a) et feuilles (b) de la plante *Crataegus laciniata* (photos originales).

2. Méthodes

2.1. Préparation de la matière végétale

- **Identification de la plante**

La plante a été identifiée au niveau du laboratoire de Botanique de la faculté des sciences de la nature et de la vie, de l'université de Bejaia.

- **Lavage**

Après l'identification de *Crataegus laciniata* la plante a été bien nettoyée, puis lavée avec de l'eau afin de se débarrasser de toutes poussières.

- **Séchage**

Les échantillons ont été séchés à l'étuve à 37° pendant 15 jours afin d'éliminer toute trace d'humidité.

- **Broyage**

Les produits obtenus par le séchage sont réduits en poudres à l'aide d'un broyeur électrique.

- **Tamissage**

Les particules obtenues après le broyage, sont tamisées à travers un tamis afin d'obtenir des poudres fines et homogènes.



Figure 13. Photo représente les poudres obtenues après tamisage (photo originale).

2.2. Méthodes d'extractions

On a utilisé deux méthodes d'extraction conventionnelle différents, macération et Soxhlet pour extraire les polyphénols de *crataegus laciniata*.

- **Macération**

Le protocole de macération utilisée est celui élaborée par Chiang et al., (1994).

Les poudres de *crataegus laciniata* dont la partie feuille (10 g) a été macérée dans l'éthanol (51%) et la partie fruit (10 g) a été macérée dans l'éthanol (77%) pendant 24 heures d'agitation dans deux fioles à l'abri de la lumière, à un rapport de 1 gramme de poudre pour 20 ml d'éthanol.

Après les 24 h, deux filtrations ont été réalisées avec du papier filtre Whatman (mouiller le papier filtre dans un entonnoir avec de l'eau et verser le contenu chaud de La fiole conique sur le filtre).

Après avoir récupéré les deux solutions, ces derniers ont subi une élimination totale de toute trace d'éthanol à l'aide d'un rota vapeur à 40°C puis ont été mis au congélateur à -20°.

A la fin, les extraits ont été mis dans le lyophilisateur afin de subir un séchage et élimination de toute trace d'eau contenu dans ces derniers.

- **Soxhlet**

Dans cette extraction 5g de poudre des feuilles et fruit de *cratægus laciniata* ont été mis dans deux cartouches, ces cartouches sont fixés sur deux ballon contenant 100 ml de l'éthanol 51% pour les feuilles et 77% pour le fruit qui sont surmonté d'un réfrigérant.

La solution collectée dans le ballon s'enrichit de plus en plus en soluté à chaque cycle d'extraction et la poudre est toujours en contact avec l'éthanol fraîchement distillé.

L'extraction est terminée lorsque l'éthanol devient de plus en plus clair c'est-à-dire sans proportion importante de soluté. Le mélange a été filtré et évaporé à 40°C dans un rota vapeur, puis placé dans un congélateur à -20°.

A la fin, l'extrait est placé dans le lyophilisateur afin de subir un séchage et élimination de toute trace d'eau contenu dans ce dernier.

3. Analyse chimique

3.1. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en phénols totaux dans les différents extraits de *Crataegus laciniata* a été effectuée selon la méthode de Folin-Ciocalteu (**Kahkonen et Singleton.,1999**).

Le principe repose sur le fait que les ions phénolates formés par addition de carbonate de sodium à la solution d'extrait sont oxydés par le réactif de folin, donnant ainsi à la solution une couleur bleuâtre, dont l'intensité reflète la concentration des phénols totaux dans les extraits.

Le protocole de dosage des polyphénols est le suivant : 200 µl d'extrait a été mélangé avec 1ml de solution de Folin-Ciocalteu dilué 1/10 fois, Attendre 2-3 minutes puis Ajouter 800 µl de carbonate de sodium (75 g/l). Après 30 minutes d'incubation à 37° d'obscurité, l'absorbance a été mesurée à 760 nm.

Le taux de phénols totaux a été exprimé en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait à partir de la courbe d'étalonnage (Annexe N°1).

3.2. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été effectué suivant la méthode développée par (**Maksimovič et al.,2004**).

Le principe repose sur la capacité des flavonoïdes à former des complexes chromogènes avec le chlorure d'aluminium (AlCl₃) qui donne à la solution une coloration, jaunâtre qui absorbe à 430 nm.

Le mélange réactionnel contient 2 ml de la solution d'extrait et 1 ml du réactif de chlorure d'aluminium (133 mg de chlorure d'aluminium et 400mg d'acétate de sodium cristalline dans 100 ml d'eau distillée).

Après incubation pendant 10 mn, l'absorbance a été mesurée à 430 nm. L'intensité de la coloration du complexe produit est proportionnelle à la quantité des flavonoïdes contenus dans l'extrait végétal.

Le taux des flavonoïdes a été exprimé en milligramme équivalent de quercétine par gramme d'extraits partir du la courbe d'étalonnage (Annexes N°2).

4. Activité antioxydant

4.1. Mesure du pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur des extraits de *crataegus laciniata* a été déterminé selon la méthode décrite par (Oyaizu et al.,1986), avec quelques modifications.

Le principe de cette dernière repose sur la réduction du complexe Fe³⁺/ ferricyanure de Potassium en forme ferreuse et ce en présence d'un réducteur dans les extraits celle-ci est traduite par le virage de la couleur jaune de ferricyanure de potassium vers une couleur bleue verte dont l'intensité dépend du pouvoir réducteur de chaque extrait à différentes concentrations.

Le mélange réactionnel est le suivant : 1ml d'extrait de la plante a différentes concentration a été mélangé avec 1 ml de tampon phosphate (0,2M, pH6,6) et 2,5 ml de ferricyanure de potassium [K₃Fe (CN)₆] 1%. Le mélange a été incubé dans étuve à 50°C pendant 20 minutes, après incubation 1,5 ml d'acide trichloracétique (TCA) 10% puis les tubes sont centrifugés à 3000 t/mn Pendant 10 minutes. 2 ml du surnageant a été récupéré, puis mélangé avec 2ml d'eau distillé et 0.5 ml d'une solution de FeCl₃ a 0.1%. Puis mesurer l'absorbance à 700 nm.

L'activité antioxydante lié au pouvoir réducteur des extraits est exprimée en pouvoir réducteur (PR) a l'aide de la formule suivante :

$$PR=100(Aa-Ab) /Aa$$

Aa : Absorbance de l'extrait.

Ab : Absorbance du blanc.

4.2. Test de blanchiment du β carotène

L'évaluation de l'activité antioxydant par le test de blanchissement du β-carotène repose sur la mesure d'inhibition des composés organiques volatils et des hydro peroxydes conjugués diène résultant de l'oxydation d'acide linoléique (Abdelaziz et al.,2014). La présence des antioxydants réduise l'ampleur de la destruction du β carotène en neutralisant les hydro peroxydes et d'autres espèces radicalaires formées à intérieur de ce système.

Le test du β-carotène/acide linoléique a été réalisé suivant la méthode décrite par (Duan et al.,2006).

Une solution du β carotène (4 mg/10ml de chloroforme) est introduite dans un ballon contenant 40 mg d'acide linoléique et 400 mg de Tween 40, La solution est évaporée sous le rota vapeur jusqu'à la disparition du chloroforme ; puis un volume de 100 ml d'eau distillée a été ajouté au mélange précédant, l'émulsion précédente est rigoureusement agitée.

Une plaque de micro titration à 96 puits (polystyrène) a été chargée avec 50 μ l de l'échantillon à tester et 200 μ l de l'émulsion, après une agitation l'absorbance est mesurée immédiatement à 450 nm ce qui correspond à $t=0$ min contre le blanc contenant l'émulsion sans β carotène et le contrôle négatif constitué 200 μ l de méthanol au lieu de l'extrait, La plaque a été placée dans l'étuve à 50°C pendant 120 minute.

L'activité antioxydant des extraits est évaluée en termes de blanchiment de β carotène en employant la formule suivante :

$$AA = [1 - (A_0 - A_t) / (A'_0 - A'_t)] * 100$$

A_0 et A_t : sont les absorbances des valeurs mesurées au temps zéro de l'échantillon et du contrôle, respectivement

A'_0 et A'_t : sont les absorbances des valeurs mesurées de l'échantillon et le contrôle, respectivement, après 120 min.

4.3. Test capacité antioxydant total (TCA)

Cette méthode est basée sur le principe d'augmentation de l'absorbance des mélanges réactionnels. L'augmentation de l'absorbance indique une augmentation de l'activité antioxydante. Dans ce procédé, l'antioxydant forme un complexe coloré avec ferricyanure de potassium, l'acide acétique et le chlorure ferrique trichloro, l'absorbance du complexe est mesurée à 700 nm. L'augmentation de l'absorbance de mélange réactionnel indique le pouvoir réducteur des échantillons (**Jaya Prakash et al., 2001**).

La capacité antioxydant totale a été évaluée en utilisant la méthode du phosphomolybdène de (**Prieto et al.,1999**) avec quelques modifications. La solution réactive a été préparée en mélangeant de l'acide sulfurique 0,6 M, du phosphate de sodium 28 mM et du molybdate d'ammonium 4 mM avec la même quantité de chacun. Ensuite, 0,3 ml d'extrait avec une concentration de 1,0 mg/ml a été mélangé à 3 ml de solution réactive. Le test a été effectué dans un environnement sombre car il s'agit d'un test sensible à la lumière.

Le mélange a été agité et incubé dans un bain-marie à 95 °C pendant 90 minutes, Après leur refroidissement à température ambiante, l'absorbance de chaque mélange a été mesurée à 695 nm. Des blancs ont été réalisés en utilisant l'éthanol 50% sans extrait.

Une courbe standard d'acide ascorbique a différentes concentrations a été tracée, et la capacité antioxydant totale a été exprimée en milligrammes d'équivalent acide ascorbique (mg AAE/gramme d'extrait en utilisant l'équation suivante :

$$C = \frac{m}{c \cdot V}$$

C : capacité antioxydant totale (mg AAE/ml).

c: concentration équivalente à l'acide ascorbique (mg AAE/ML).

V : volume de l'extrait (ml). **m** : poids de l'extrait.

5. Analyse

5.1. La chromatographie liquide à haute performance (CLHP)

- **Principe**

La chromatographie liquide à haute performance (CLHP) est une technique d'analyse Chromatographique dont le principe est basé sur la répartition du composé à analyser, entre Une phase mobile liquide et une phase stationnaire très finement divisée (**Zhou et al., 2010**).

- **Mode opératoire**

Pour la préparation des échantillons 10mg de la poudre a été dissout dans 1ml de méthanol, Puis ont été filtré avec un filtre a seringue dans les vials.

Pour les deux phases mobiles deux solvants ont été préparé : solvant A qui est l'acide formique 0.1% et solvant B le méthanol.

5.2. Spectroscopie infrarouge

- **Principe L'infrarouge**

C'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 à l'aide du nombre d'onde correspondant et la Détermination de groupe caractéristique par un spectre d'un composé inconnu qui sera Identifié par comparaison à la bibliothèque des composés connus (**Mollick et al., 2015**).

- **Mode opératoire**

Les extraits solides ont été préparés par la méthode des pastilles de KBr,

Dans un mortier en agate, on mélange 2 mg d'extrait avec 80 mg de dispersif (KBr), Broyer très finement le mélange, puis Mettre le mélange dans une pastilleuse pour exercer une pression de 8 tonnes pendant 2 min. Les pastilles obtenues sont Placé dans le support pour le mettre dans le banc optique pour l'analyse IRTF.

Pour les extraits liquides une quantité entre 1et 2 mg a été déposée sur la plaque de KBr Leurs spectres IR sont tracés entre 4000 et 400 cm^{-1} et enregistrés.

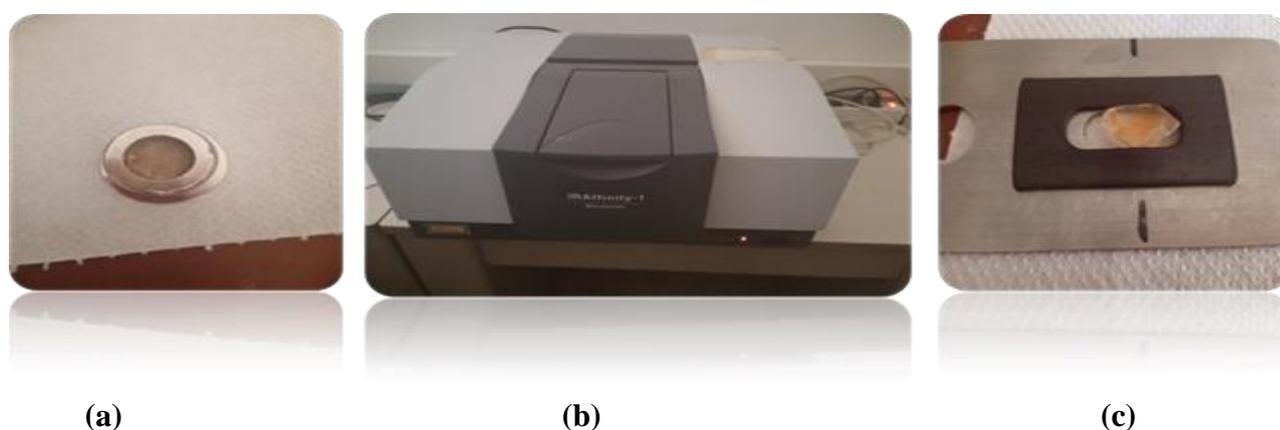


Figure 14 : photos représentent Un spectromètre FTIR (b) avec ses deux accessoires (a), (c) (photos originales).

5.3. La Spectroscopie d'absorption atomique (SAA)

- **Principe**

La spectrophotométrie d'absorption atomique est une méthode d'analyse quantitative s'adressant essentiellement aux métaux.

La solution de l'élément à analyser est nébulisée dans une flamme, ce qui provoque Successivement l'évaporation du solvant, la vaporisation de l'élément sous forme de Combinaisons chimiques, la dissociation de ces combinaisons avec production d'atomes Libres à l'état fondamental.

La vapeur est alors exposée à une radiation produite par un élément identique à celui à Analyser. Proposée par WALSH en 1995.

- **Mode opératoire**

Pour la préparation des échantillons : 100 mg de la poudre incinéré a été dissous dans un 10 ml d'eau distillé, puis chauffer la solution jusqu'à ce que le contenu commence à bouillir et ajouter 1 ml de HNO₃ et la compléter avec l'eau distillée jusqu'à ce que on obtienne un volume final de 25 ml.

- **Etalonnage**

Pour chaque élément à doser, une gamme d'étalons a été préparée à différentes Concentrations (en fonction du type de métal), à partir d'une solution mère.



Figure 15 : les deux photos représentent l'appareil spectrométrie d'absorption atomique (SAA) avec les étalons des métaux préparé (photos originales).

6. Analyse statistique

Tous les résultats expérimentaux ont été exprimés moyenne \pm écart type pour les tests in vitro. Les différences entre les groupes ont été déterminées en utilisant le logiciel Graph Pad en utilisant l'analyse de la variance (ANOVA) suivie par le test Student Newman-Keuls pour une analyse post hoc. Les différences sont significatives à $p < 0,001$.

Chapitre III : Résultats et Discussion

1. Analyse chimique

1.1. Teneur en polyphénols totaux, flavonoïdes

De nombreuses méthodes analytiques ont été proposées pour quantifier les composés phénoliques et les flavonoïdes dans les extraits des plantes (Ornelas-lim et al.,2021). La méthode du dosage des polyphénols totaux suivie est celle de Folin Ciocalteu (Kahkonen et Singleton.,1999) Ou l'acide gallique a été utilisé comme standard, cette méthode est largement appliquée pour la détermination du contenu phénolique total dans les produits naturels.

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode développée par Maksimovič et al., (2004) ou la quercétine a été utilisée comme standard, les tests ont été répétés 3 fois.

Les résultats sont représentés dans le tableau IV.

Tableau IV : dosages des polyphénols, des flavonoïdes dans les extraits des feuilles et fruit du *crataegus laciniata*

Dosages Extraits	Polyphénols Mg EAG/g d'extrait	Flavonoïdes Mg EQ /g extrait
Feuilles macération	230,59 ± 4,68	26.66 ± 0.48
Feuilles Soxhlet	272,58 ± 8,33	29.58 ± 0,56
Fruit macération	44.38 ± 2,72	2.85 ± 0.06
Fruit Soxhlet	47,78 ± 0,8	2.56 ± 0,11

D'après le **tableau IV** : les résultats du dosage des polyphénols totaux montrent que l'extrait feuille Soxhlet est le plus riche en polyphénols ($272,58 \pm 8,33$ mg EAG/g d'extrait) suivi de l'extrait feuilles macération avec une valeur élevée et voisine de ($230,59 \pm 4,68$ mg EAG/g d'extrait). Tandis que les extraits fruits macération et Soxhlet sont pauvres en ces métabolites et se trouvent avec des valeurs de ($44.38 \pm 2,72$ et $47,78 \pm 0,8$ mg EAG/g d'extrait) respectivement.

Les teneurs en flavonoïdes totaux (tableau) montrent que l'extrait feuilles Soxhlet est en premier lieu avec une teneur de ($29.58 \pm 0,56$ mg EQ/g d'extrait) suivi par l'extrait feuilles macération avec une valeur de (26.66 ± 0.48 mg EQ/g d'extrait), Ensuite viennent les extraits fruits macération et Soxhlet avec les teneurs suivantes (2.85 ± 0.06 et $2.56 \pm 0,11$ mg EQ/g d'extrait) respectivement.

Ces résultats montrent que les extraits feuilles de cette plante sont plus riche en polyphénols et flavonoïdes par rapport aux extraits fruits, et que La teneur en polyphénols elle varie Entre les organes d'une même plante.

Les résultats des teneurs en composés phénoliques obtenus avec la méthode de Soxhlet sont un peu plus élevés que les teneurs obtenus avec la macération, alors on constate que le choix de la méthode d'extraction utilisée influence sur la quantité des polyphénols.

2. Evaluation de l'activité antioxydant

L'aubépine possède une capacité antioxydant marquée, qui est étroitement liée à ses activités de réduction des lipides sanguins, de lutte contre le vieillissement et de lutte contre le cancer. Des études antérieures ont montré que la détermination de l'activité antioxydant dépend du mécanisme de réaction et que plusieurs tests doivent être combinés pour évaluer avec précision les capacités antioxydants des échantillons (Li et al., 2020).

Dans cette étude trois méthodes ont été employées pour fournir une évaluation fiable des profils d'activités antioxydante des échantillons de *Crataegus laciniata*, les tests ont été répétés 3 fois.

2.1. Mesure du pouvoir réducteur

La capacité antioxydante totale des extraits de *Crataegus laciniata* a été évaluée par la méthode décrite par (Oyaizu et al.,1986).

Pour cette analyse l'acide ascorbique a été utilisé comme standard, et Les résultats sont significativement différents entre eux à $p \leq 0,01$.

Les résultats obtenus montrent que tous les extraits possèdent la capacité de réduire le fer (figure 16).

Le meilleure pouvoir réducteur a été obtenus par l'extrait feuille Soxhlet par une valeur (335.319 UA), suivi de l'extrait feuille macération avec une valeur (183,262 UA), tandis que les extraits fruit macération et Soxhlet ont un faible pouvoir réducteur avec une valeur de (46.5248 UA et 50.5674 UA) respectivement. Nos résultats sont proches à ceux obtenus par Barros et al. 2010, qui Ont constaté que les fruits de *Crataegus monogyna* présent un fort pouvoir réducteur.

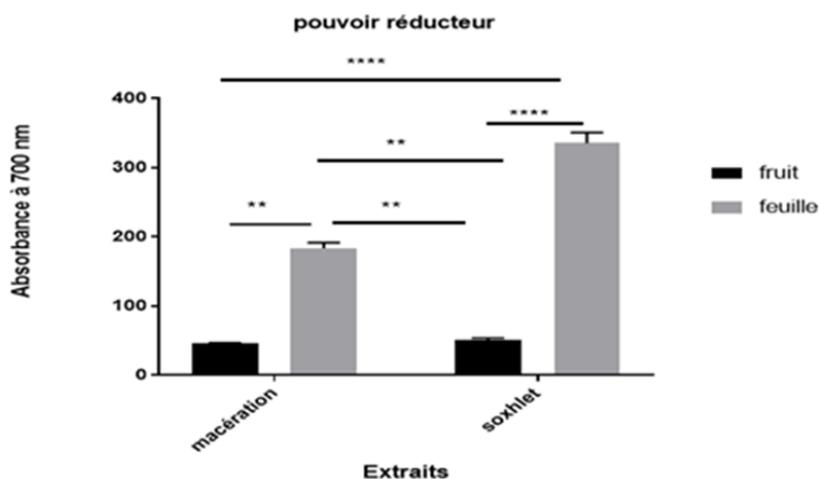


Figure 16 : Mesure du pouvoir réducteur des extraits de plante de *crataegus laciniata*.

L'analyse chimique des extraits de feuille et fruit de *crataegus laciniata* ont montré une teneur moyenne en flavonoïdes, Ce qui explique le bon pouvoir réducteur de cette plante.

2.2. Blanchissement de la β -carotène couplé à l'auto-oxydation de l'acide linoléique

Le test du β -carotène/acide linoléique a été réalisé suivant la méthode décrite par (Duan et al., 2006), Elle se repose sur la mesure d'inhibition des composés organiques volatils et des hydro peroxydes conjugués diène résultant de l'oxydation d'acide linoléique.

La présence de différents antioxydants peut entraver l'étendue du blanchiment du β -carotène en neutralisant les radicaux libres de l'acide linoléique et d'autres radicaux libres formés dans le système.

Les résultats du test de la beta carotène pour les extraits de feuille et fruit du *Crataegus laciniata* sont présentés dans la figure 17.

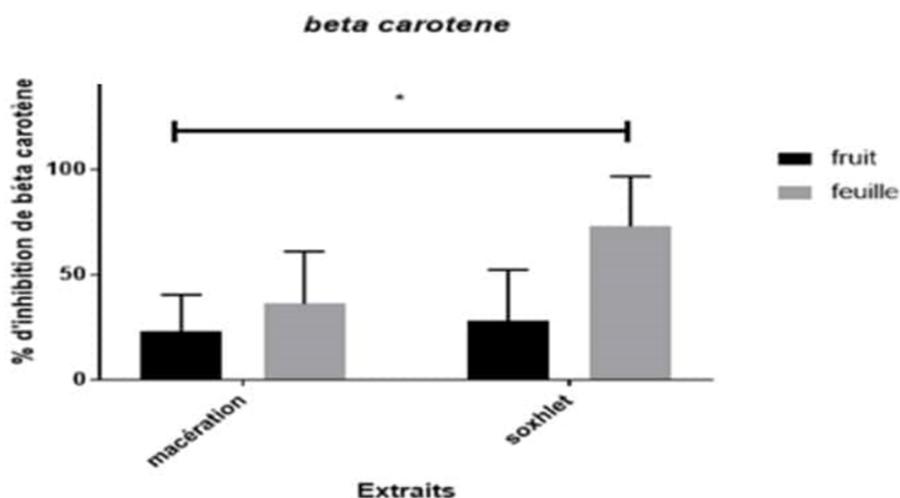


Figure 17 : mesure de pourcentage d'inhibition de blanchiment de la beta carotène pour les extraits de feuille et fruit du *Crataegus laciniata*.

Les résultats de test β -carotène sont significativement différents entre eux à $p \leq 0,01$.

Les résultats obtenus dans cette étude (figure), ont montré que les extraits de feuille de *crataegus laciniata* présentent un pourcentage d'inhibitions plus élevés par rapport aux extraits fruit de cette plante, on remarque que les résultats obtenus dans cette étude sont peu inférieurs à ceux obtenus par (Ljubunic et al., 2005), qui ont constaté que l'extrait de *Crataegus aronia* était efficace pour inhiber ce processus d'oxydation. Cet écart peut être expliqué par la différence de concentration utilisé et par le choix de la méthode d'extraction. Un extrait qui retarde ou inhibe le blanchissement du β -carotène peut être décrit comme un piègeur de radicaux libres et comme un antioxydant primaire (Liyanna-Pathirana et al., 2006).

2.3. Capacité Antioxydant Totale (TAC)

La capacité antioxydant totale a été évaluée en utilisant la méthode du phosphomolybdène de (Prieto et al., 1999).

Les résultats du test de la capacité antioxydant totale pour les extraits de feuille et fruit du *Crataegus laciniata* sont présentés dans la figure 18.

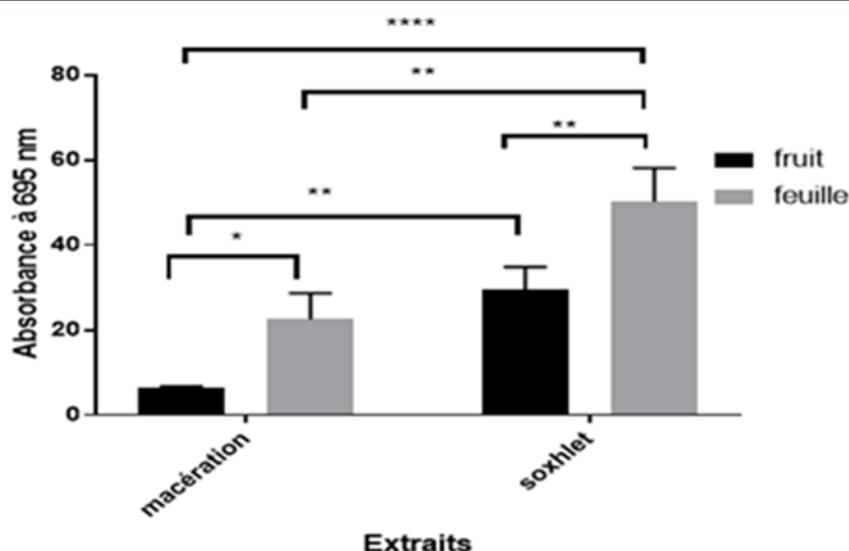


Figure 18 : Mesure de l'activité antioxydante totale de l'extrait de feuille et fruit de *Crataegus laciniata*.

Les résultats de l'activité antioxydant totale sont significativement différents entre eux à $p \leq 0,001$.

Les résultats montrent que les extraits de feuilles issu des méthodes macération et Soxhlet présentent une capacité antioxydant totale élevée avec une valeur de 22.5418 ± 2.1347477 et 50.224113 ± 7.8617909 respectivement, Tandis que les extraits fruit issu des méthodes macération et Soxhlet sont pauvres et se trouvent avec une valeur de 6.49418 ± 0.2051988 et 29.4489362 ± 5.3598584 respectivement.

En comparant les deux méthodes d'extraction utilisées, on trouve que les résultats obtenus avec la méthode Soxhlet sont élevés par rapport aux résultats de la macération, ce qui nous laisse suggérer que l'activité antioxydante est influencée par l'augmentation de la température, ce qui est en accord avec **Li et al. (2020)** qui ont montré que la capacité antioxydante totale diminuait avec l'augmentation de la température de chauffage et que les changements dans la capacité antioxydante étaient cohérents avec les changements dans les contenus phénoliques déterminés, ainsi que ces derniers sont les principaux contributeurs à la capacité antioxydante de l'aubépine.

Ceci explique les bons résultats obtenus par la méthode Soxhlet, qui n'utilise pas de chaleur et est plus pratique et économique que la méthode de macération qui prend beaucoup de temps, ainsi que la température élevée qui peut influencer sur la stabilité des composés phénoliques libres dans l'aubépine.

3. Analyse chromatographique (CLHP)

La Chromatographie à haute performance permet d'identifier la présence de quelques substances dans chacun des quatre extraits de la plante *crataegus laciniata*, par comparaison entre le temps de rétention (TR) des standards et les chromatogrammes des extraits.

Les temps de rétention des pics obtenus pour les standards et ceux des extraits sont reportés dans les tableaux V et VI respectivement.

Les profils chromatographiques des extraits HLs, HLm, HFs et HFm sont représentés dans les Figures 19,20,21 et 22 respectivement.

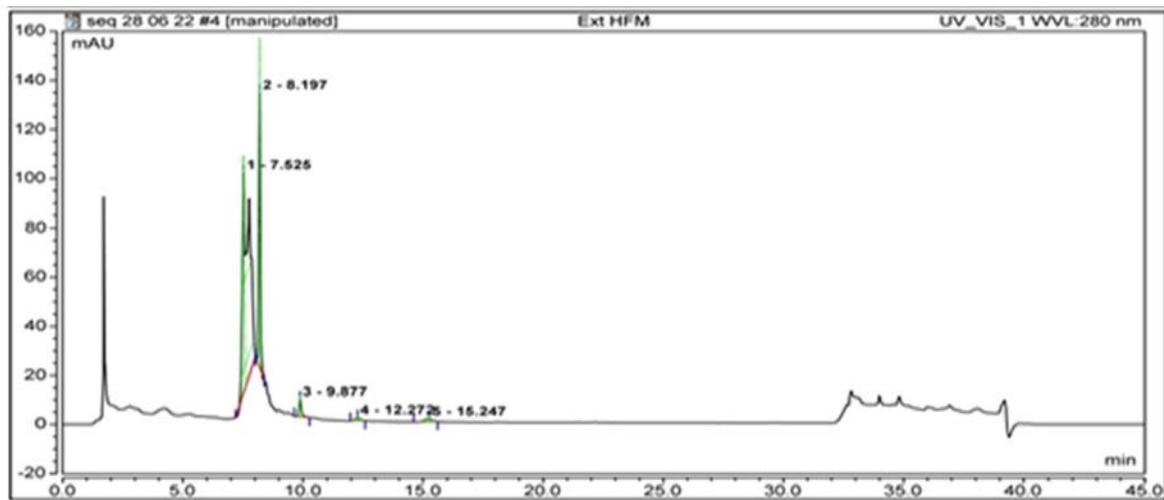


Figure 19 : chromatogramme de l'extrait fruit macération de *crataegus laciniata*.

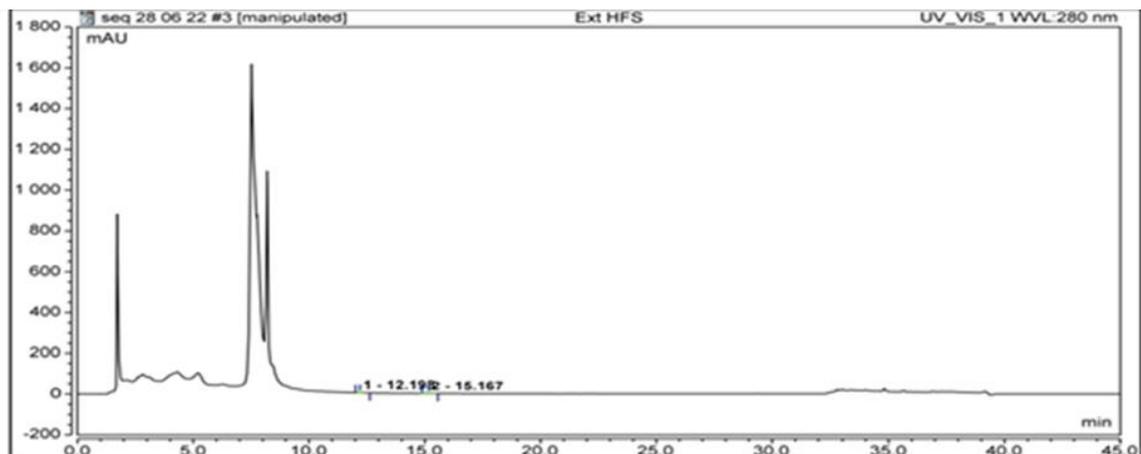


Figure 20 : chromatogramme de l'extrait fruit Soxhlet de *crataegus laciniata*.

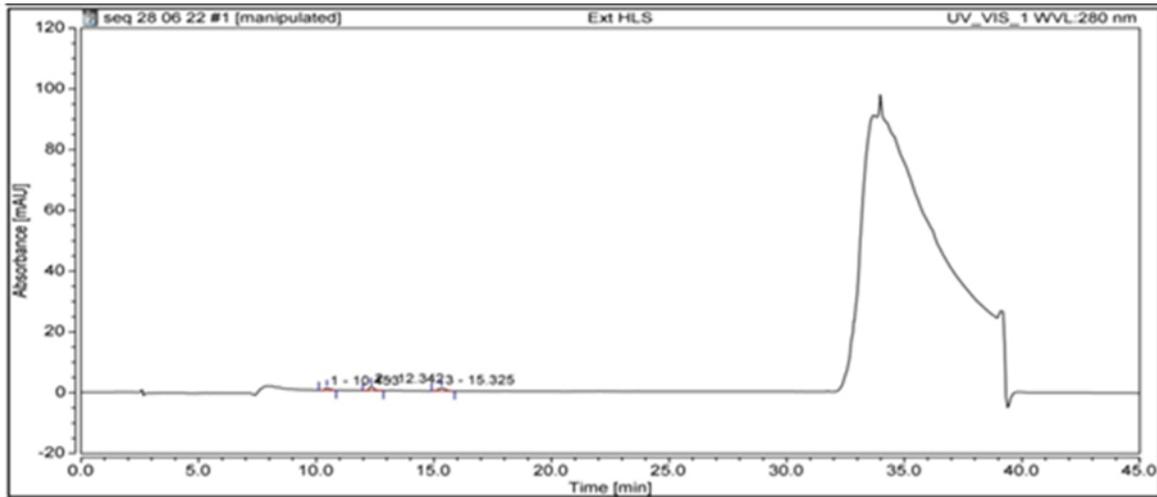


Figure 21 : chromatogramme de l'extrait feuille Soxhlet de *crataegus laciniata*.

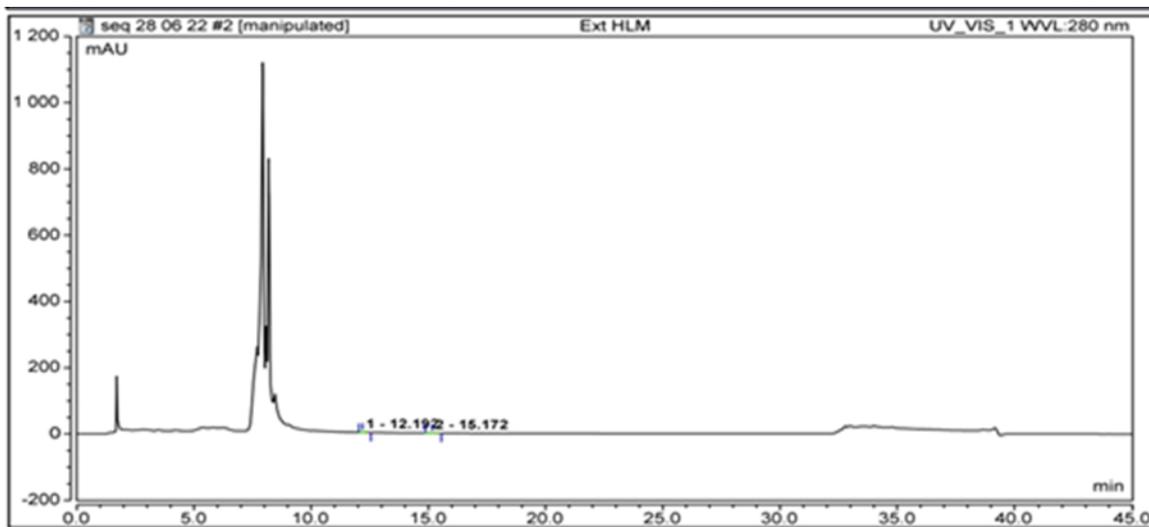


Figure 22 : chromatogramme de l'extrait feuille macération de *crataegus laciniata*.

Tableau V : Temps de rétention des standards.

Les standards	Le temps de rétention
Epicatechine	7.583
Rutine	8.203
BHA	12.882
Catéchol	9.688

Tableau VI : Temps de rétention des extraits.

Extraits	N° pic	Temps de rétention
HLs	1	10.453
	2	12.342
	3	15.325
HLm	1	12.192
	2	15.172
	3	
HFs	1	12.198
	2	15.167
HFm	1	7.525
	2	8.197
	3	9.877
	4	12.272
	5	15.247

L'identification a été réalisée par comparaison des temps de rétention des standards avec ceux des extraits, également par comparaison avec des données de la littérature, on constate que HFm semble contenir l'épicatéchine ou un dérivé de ce dernier, avec un temps de rétention de 7.583. Ce qui est en accord avec (Liu et al.,2010) qui ont montré que ce composé existe dans l'extrait de *crataegus pinnatifida* qui appartient à la famille des rosacées, Par contre la rutine, BAH, catéchol et épicatechine ils n'existent pas dans tous les extraits analysés.

4. Résultats d'analyse spectromètre infrarouge

Le spectre infrarouge à transformée de fourrier (IRTF) représente les pics moléculaires d'absorption et de transmission qui correspondent à la fréquence des vibrations entre les atomes du matériel.

Les caractéristiques de la plante *crataegus laciniata* ont été identifiées par le spectre IRTF, qui pourrait être utilisé pour acquérir l'information structurale et les groupes fonctionnels de différents extraits de cette plante.

Les figures 23, 24, 25 ci-dessous représentes les spectres infrarouges des extraits de la plante *Crataegus laciniata*.

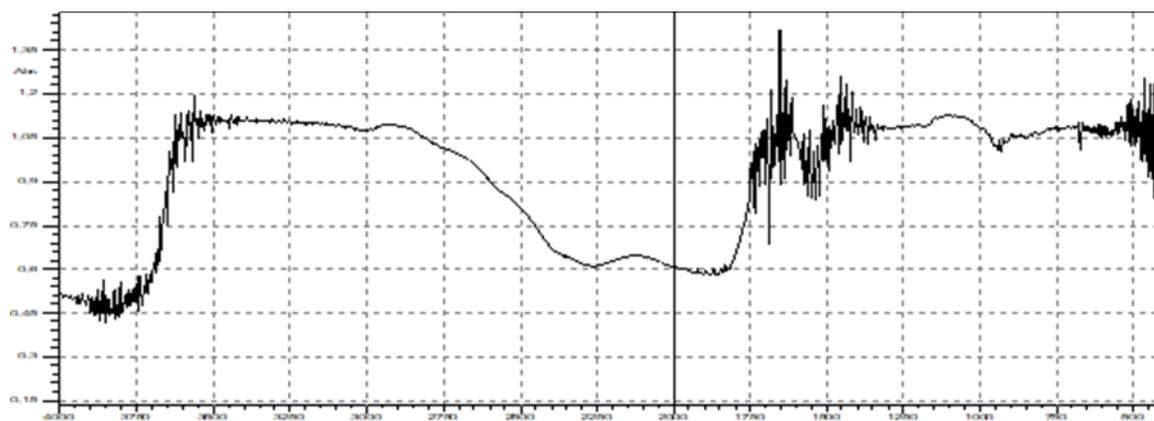


Figure 23 : Spectre de l'analyse par IRTF d'extrait HF's dans la région 4000-500cm-1

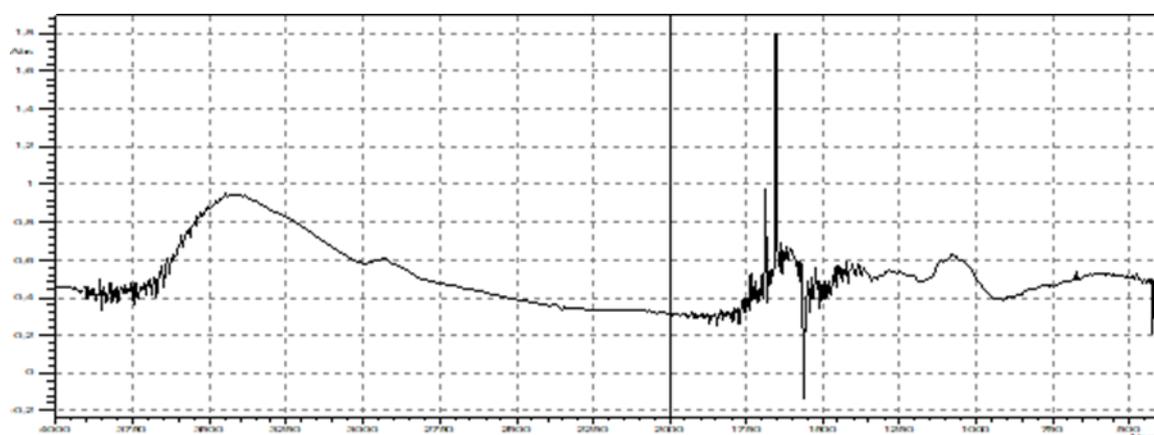


Figure 24 : Spectre de l'analyse par IRTF d'extrait HLm dans la région 4000-500cm-1

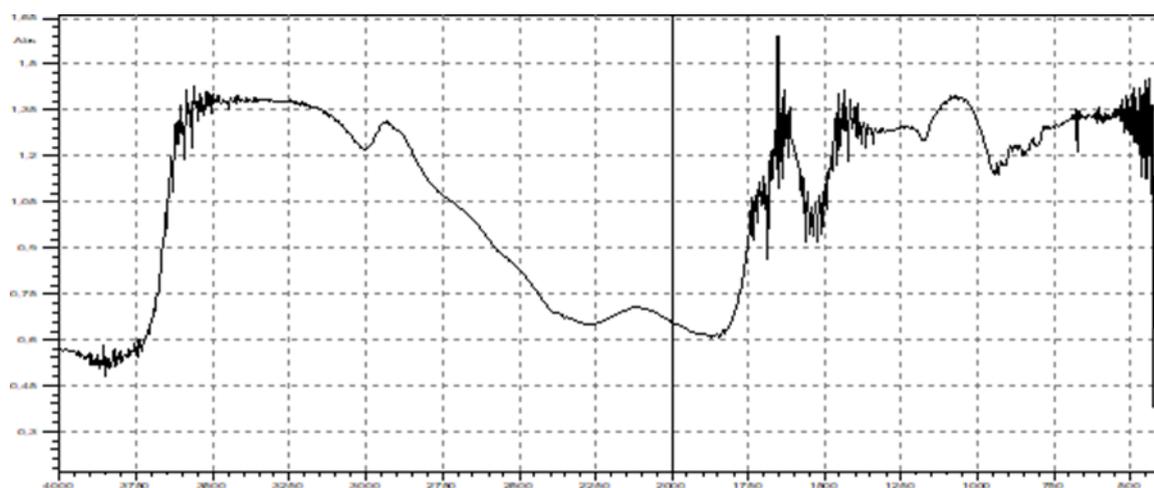


Figure 25 : Spectre de l'analyse par IRTF d'extrait HFm dans la région 4000-500cm-1.

Les résultats

- Les bandes vibrationnelles des échantillons dans la région (1595 – 1600 cm-1) et (1700 – 1735 cm-1) représentant la vibration d'étirement C_O du groupe carboxyle estérifié (-COOR) et la vibration d'étirement asymétrique C_O du groupe carboxyle Libre, Ces résultats sont en accord avec (Sun et al., 2020).
- 3650 cm-1 à 3590 cm-1 des très faibles bandes marque la vibration de O-H libre.
- Une vibration de groupe (Cl) est observée à 450 cm-1 par la présence d'une forte bande.

Ces analyses suggère la présence de groupement OH dans les extraits, ce qui confirme la présence des composés phénolique dans cette plante.

5. Résultats du dosage des métaux lourds par SAA à flammes

Les métaux lourds ont été mesurés par spectrométrie d'absorption atomique à flammes. Les résultats obtenus à l'issue de cette analyse sont présentés dans le tableau VII.

Tableau VII : résultats des analyses Mg et Zn par SAA

Elément	Zn	Mg
Extrait		
HF	0,056963265	0,49526736
HL	0,2337653	0,26170832

Les résultats obtenus dans le tableau montrent que les poudres végétales des feuilles et fruits de *Crataegus laciniata* présent des métaux lourds (Zn et Mg) à une quantité presque inférieure ou égale à la valeur normal de ces métaux étudié.

Ces résultats confirment que les poudres de la plante *Crataegus laciniata* ne présent aucune toxicité sur l'organisme vivant car certains éléments sont nécessaires à la vie en très faible quantité mais ils deviennent toxiques à haute dose (Pinta et al., 1971).

Conclusion et perspectives

Dans ce travail, nous avons étudié le pouvoir antioxydant des extraits éthanoliques des feuilles et fruits de *Crataegus laciniata* obtenus par deux méthodes d'extraction différents macération et Soxhlet et également la caractérisation cette plante.

L'extraction représente l'étape initiale de l'analyse des composés phénoliques, qui consiste à l'isolement des composés phénoliques actifs à partir du matériel pédologique.

Dans un premier temps, l'analyse des quatre extraits obtenus de feuille et fruit de *Crataegus laciniata* indique que les quatre extraits sont riches en composés phénoliques mais avec des valeurs variables en fonction du type de l'extrait.

Les résultats montrent que l'extrait feuille Soxhlet et macération sont plus riche en ces composés que les extraits fruits Soxhlet et macération.

L'analyse chromatographique a montré la présence de l'épicatéchine dans l'extrait HFm et la SAA confirme la non toxicité des extraits de cette plante.

En conclusion, les résultats obtenus dans cette étude sont intéressants mais encore préliminaires. Cependant, on espère que ce travail pourra être complété et encore enrichi par

- ✓ Tester l'activité antioxydante des extraits de fruits et de feuilles de cette plante *in vivo* pour confirmer ou infirmer leur possibilité d'utilisation dans différentes industries (cosmétique, pharmaceutique, agro-alimentaire, etc.).
- ✓ Effectuant le dosage d'autres familles de composés phénoliques tel que les tanins, les anthocyanes etc...
- ✓ Identification de nouvelles substances bioactives naturelles pouvant répondre à différents problèmes de santé et devenir une alternative aux drogues synthétiques.

Références bibliographiques

A

Aguilar Urbano, M., Pineda Priego, M., & Prieto, P. (2013). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E1.

Alara, O. R., Abdurahman, N. H., & Ukaegbu, C. I. (2021). Extraction of phenolic compounds: A review. *Current Research in Food Science*, 4, 200-214.

Arbenz, A., & Averous, L. (2015). Chemical modification of tannins to elaborate aromatiques biobased macromolecular architectures. *Green Chemistry*, 17, 2626-2646.

B

Bachiri, L., Daoudi, A., Labazi, N., & Laila Nassiri, J. I. (2015). Étude floristique du val d'Ifrane « Bassin versant de l'Oued Tizguit ». *Journal of Animal & Plant Sciences*, 26, 3977-4006.

Bahorun, T., Trotin, F., Pommery, J., Vasseur, J., & Pinkas, M. (1994). Antioxidant activities of *Crataegus monogyna* extracts. *Planta medica*, 60, 323-328.

Barros, L., Carvalho, A. M., & Ferreira, I. C. (2011). Comparing the composition and bioactivity of *Crataegus monogyna* flowers and fruits used in folk medicine. *Phytochemical analysis*, 22, 181-188.

Baudin, B. (2020). Stress oxydant et protections antioxydantes. *Revue Francophone des Laboratoires*, 22-30.

Behera, B. C., Verma, N., Sonone, A., & Makhija, U. (2006). Determination of antioxidative potential of lichen *Usnea ghattensis* in vitro. *LWT-Food Science and Technology*, 39, 80-85.

Brachet, A., Christen, P., & Veuthey, J. L. (2002). Focused microwave-assisted extraction of cocaine and benzoylecgonine from coca leaves. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, 13, 162-169.

C

Caliskan, O. (2015). Mediterranean hawthorn fruit (*Crataegus*) species and potential usage. *In The Mediterranean Diet*. Academic Press, 621-628.

Camel, V. (2001). Recent extraction techniques for solid matrices—supercritical fluid extraction, pressurized fluid extraction and microwave-assisted extraction: their potential and pitfalls. *Analyst*, 126, 1182-1193.

Chiang, H. C., Lo, Y. J., & Lu, F. J. (1994). Xanthine oxidase inhibitors from the leaves of *Alsophila spinulosa* (Hook) Tryon. *Journal of Enzyme inhibition*, 8, 61-71.

Cheng, F., Jiang, W., Xiong, X., Chen, J., Xiong, Y., & Li, Y. (2020). Ethanol extract of Chinese hawthorn (*Crataegus pinnatifida*) fruit reduces inflammation and oxidative stress in rats with doxorubicin-induced chronic heart failure. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, 26, e926654-1.

D

Dassoff, E. S., & Li, Y. O. (2019). Mechanisms and effects of ultrasound-assisted supercritical CO₂ extraction. *Trends in food science & technology*, 86, 492-501.

De Castro, M. L., & Garcia-Ayuso, L. E. (1998). Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future. *Analytica chimica acta*, 369, 1-10.

Duan, X. J., Zhang, W. W., Li, X. M., & Wang, B. G. (2006). Evaluation of antioxidant property of extract and fractions obtained from a red alga, *Polysiphonia urceolata*. *Food chemistry*, 95, 37-43.

E

El-Haci, I. A., Atik-Bekkara, F., Didi, A., Gherib, M., & Didi, M. A. (2012). Teneurs en polyphénols et pouvoir antioxydant d'une plante médicinale endémique du Sahara algérien. *Phytothérapie*, 10, 280-285.

Emberger, L. (1938). Contribution à la connaissance des Cèdres et en particulier du Deodar et du Cèdre de l'Atlas. *Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée*, 18, 77-92.

F

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

J

Jayaprakasha, G. K., Singh, R. P., & Sakariah, K. K. (2001). Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro. *Food chemistry*, 73, 285-290.

Jha, A. K., & Sit, N. (2021). Extraction of bioactive compounds from plant materials using combination of various novel methods: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 119, 579-591

H

Halliwell, B., & Whiteman, M. (2004). Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *British journal of pharmacology*, 142, 231-255

Handa, S. S. (2008). An overview of extraction techniques for medicinal and aromatic plants. *Extraction technologies for medicinal and aromatic plants*, 1, 21-40.

G

- Gil-Martín, E., Forbes-Hernández, T., Alejandro, R., Cianciosi, D., Giampieri, F., & Battino, M.** (2021). Influence of the extraction method on the recovery of bioactive phenolic compounds from food industry by-products. *Food Chemistry*, 131918.
- Gori, A., Boucherle, B., Rey, A., Rome, M., Fuzzati, N., & Peuchmaur, M.** (2021). Development of an innovative maceration technique to optimize extraction and phase partition of natural products. *Fitoterapia*, 148, 104798.
- Goudable, J., & Favier, A.** (1997). Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition clinique et métabolisme*, 11, 115-120.
- Grayer, R. J., Kimmins, F. M., Padgham, D. E., Harborne, J. B., & Rao, D. R.** (1992). Condensed tannin levels and resistance of groundnuts (*Arachis hypogaea*) against *Aphis craccivora*. *Phytochemistry*, 31, 3795-3800.

K

- Kähkönen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S., & Heinonen, M.** (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 47, 3954-3962.
- Kaufmann, B., Christen, P., & Veuthey, J. L.** (2001). Parameters affecting microwave-assisted extraction of withanolides. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, 12, 327-331.
- Kohen, R., & Nyska, A.** (2002). Invited review: Oxidation of biological system : oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicologic pathology*, 30, 620-650.
- Koubaa, M., Imatoukene, N., Drévilion, L., & Vorobiev, E.** (2020). Current insights in yeast cell disruption technologies for oil recovery : A review. *Chemical Engineering and Processing-Process Intensification*, 150, 107868.
- K. Shankar, H.M Mehendale.** (2014). Acetaminophen. *Encyclopedia of Toxicology (Third Edition)*, 26-29.
- Kumar, D., Arya, V., Bhat, Z. A., Khan, N. A., & Prasad, D. N.** (2012). The genus *Crataegus*: chemical and pharmacological perspectives. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 22, 1187-1200.

L

- Leopoldini, M., Russo, N., & Toscano, M.** (2011). The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. *Food chemistry*, 125, 288-306.
- Leverve, X.** (2009). Oxidative, stress and antioxidants? *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 44(5), 219-224.

Ljubuncic, P., Portnaya, I., Cogan, U., Azaizeh, H., & Bomzon, A. (2005). Antioxidant activity of *Crataegus aronia* aqueous extract used in traditional Arab medicine in Israel. *Journal of ethnopharmacology*, 101, 153-161.

Li, M., Chen, X., Deng, J., Ouyang, D., Wang, D., Liang, Y., ... & Sun, Y. (2020). Effect of thermal processing on free and bound phenolic compounds and antioxidant activities of hawthorn. *Food chemistry*, 332, 127429.

Liyana-Pathirana, C. M., & Shahidi, F. (2006). Antioxidant properties of commercial soft and hard winter wheats (*Triticum aestivum* L.) and their milling fractions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86, 477-485.

M

Mahmoudi, S., Khali, M., & Mahmoudi, N. (2013). Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynarascolymus* L.). *Nature & Technology*, 35.

Maksimović, Z., Malenčić, Đ., & Kovačević, N. (2005). Polyphenol contents and antioxidant activity of *Maydis stigma* extracts. *Bioresourcetechnology*, 96, 873-877.

Mazars, G. (1998). Pharmacopée traditionnelle du Maroc: Jamal Bellakhdar, La Pharmacopée marocaine traditionnelle. Médecine arabe ancienne et savoirs populaires. *Revue d'histoire de la pharmacie*, 86e année, 1998.

Merouane, A., Noui, A., Ali, K. N. B., & Saadi, A. (2014). Activité antioxydante des composés phénoliques d'huile d'olive extraite par méthode traditionnelle. *International journal of biological and chemical sciences*, 8, 1865-1870.

Mollick, M. M. R., Rana, D., Dash, S. K., Chattopadhyay, S., Bhowmick, B., Maity, D., ... & Chattopadhyay, D. (2019). Studies on green synthesized silver nanoparticles using *Abelmoschus esculentus* (L.) pulp extract having anticancer (in vitro) and antimicrobial applications. *Arabian journal of chemistry*, 12, 2572-2584.

N

Ngoc, P. C., Leclercq, L., Rossi, J. C., Desvignes, I., Hertzog, J., Fabiano-Tixier, A. S., ... & Cottet, H. (2019). Optimizing water-based extraction of bioactive principles of hawthorn: From experimental laboratory research to homemade preparations. *Molecules*, 24, 4420.

Nirmal, N. P., Mereddy, R., & Maqsood, S. (2021). Recent developments in emerging technologies for beetroot pigment extraction and its food applications. *Food Chemistry*, 356, 129611.

O

Ornelas-Lim, C., Luna-Vázquez, F. J., Rojas-Molina, A., & Ibarra-Alvarado, C. (2021). Development of a quantified herbal extract of hawthorn *Crataegus mexicana* leaves with vasodilator effect. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 29, 1258-1266.

Oyaizu, M. (1986) Studies on Products of Browning Reactions: Antioxidative Activities of Product of Browning Reaction Prepared from Glucosamine. *Japan Journal of Nutrition*, 44, 307-315.

P

Pinta, M., &Barroin, G. (1971). Spectrométrie d'absorption atomique. (Vol. 285).

Q

Qin, C., Xia, T., Li, G., Zou, Y., Cheng, Z., & Wang, Q. (2019). Hawthorne leaf flavonoids prevent oxidative stress injury of renal tissues in rats with diabetic kidney disease by regulating the p38 MAPK signaling pathway. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 12, 3440.

R

Rocchetti, G., Senizza, B., Zengin, G., Mahomodally, M. F., Senkardes, I., Lobine, D., &Lucini, L. (2020). Untargeted metabolomic profiling of three Crataegus species (hawthorn) and their in vitro biological activities. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100, 1998-2006.

Routray, W., &Orsat, V. (2012). Microwave-assisted extraction of flavonoids: a review. *Food and Bioprocess Technology*, 5, 409-424.

S

Sorg, O. (2004). Oxidative stress : a theoretical model or a biological reality?. *Comptes rendus biologiques*, 327, 649-662.

Stoclet, J. C., &Schini-Kerth, V. (2011). Flavonoides alimentaires et santé humaine. *In Annales pharmaceutiques françaises*, 6, 78-90.

Sun, D., Chen, X., & Zhu, C. (2020). Physicochemical properties and antioxidant activity of pectin from hawthorn wine pomace: A comparison of different extraction methods. *International Journal of Biological Macromolecules*, 158, 1239-1247.

T

Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., & Byrne, D. H. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of food composition and analysis*, 19, 669-675.

W

Wang, L., & Weller, C. L. (2006). Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology*, 17, 300-312.

Wen, L., Guo, X., Liu, R. H., You, L., Abbasi, A. M., & Fu, X. (2015). Phenolic contents and cellular antioxidant activity of Chinese hawthorn “*Crataegus pinnatifida*”. *Food Chemistry*, 186, 54-62.

Z

Zhou, X., Zhao, Y., Lei, P., Cai, Z., & Liu, H. (2010). Chromatographic fingerprint study on *Evodia rutaecarpa* (Juss.) Benth by HPLC/DAD/ESI-MSn technique. *Journal of separation science*, 33, 2258-2265.

Annexes

Annexe N°1

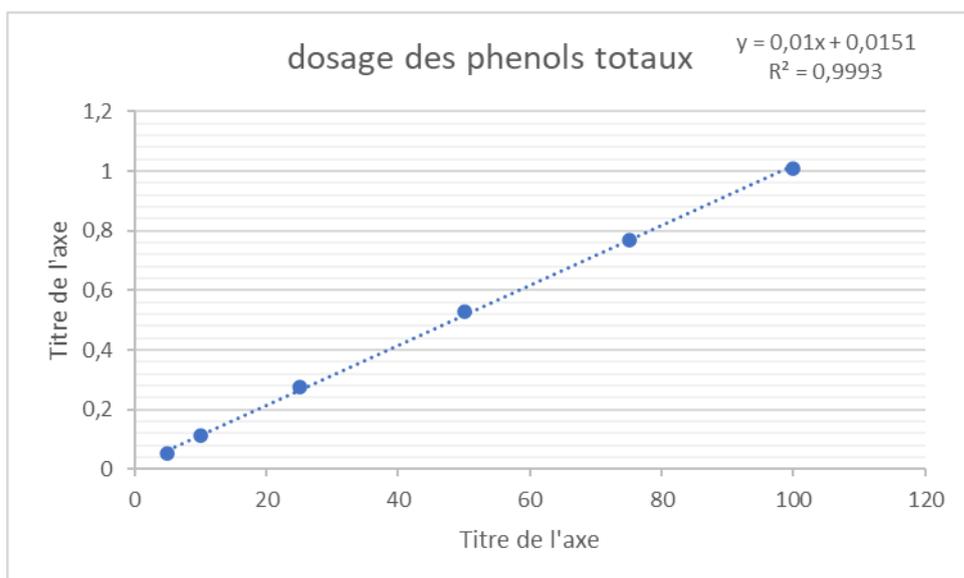


Figure 1. Courbe d'étalonnage avec l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.

Annexes N° 2

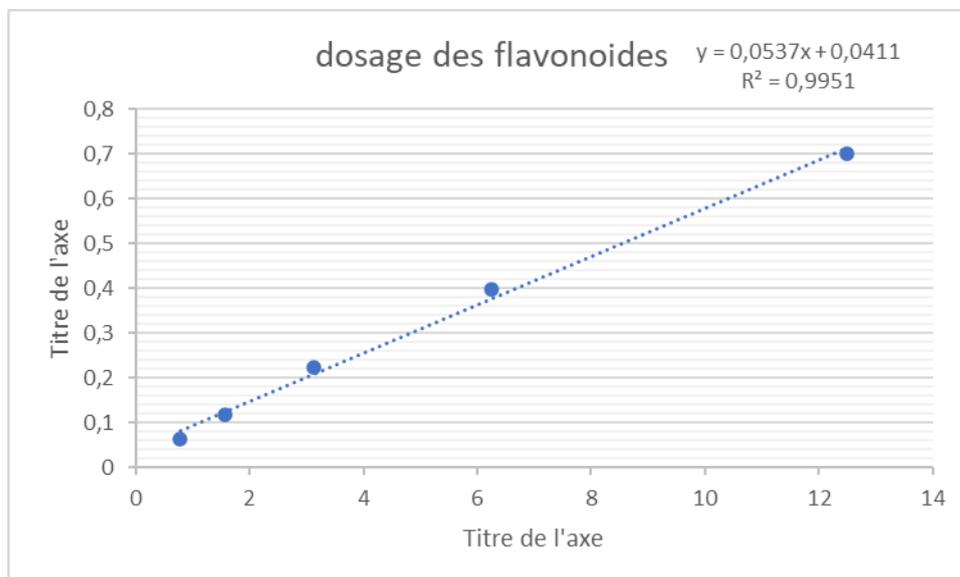


Figure 2. Courbe d'étalonnage avec la quercétine pour le dosage des flavonoïdes

Annexes N° 3

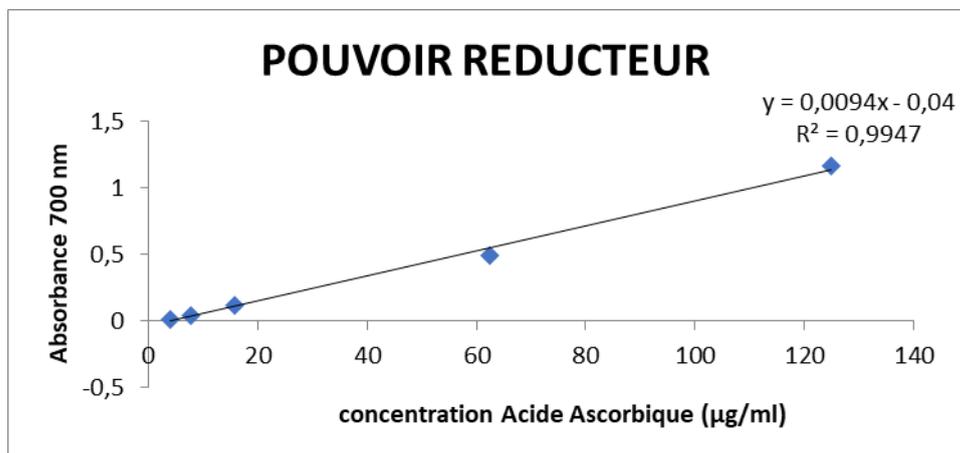


Figure 3. Courbe d'étalonnage avec l'acide ascorbique pour la mesure du pouvoir réducteur

Annexes N° 4

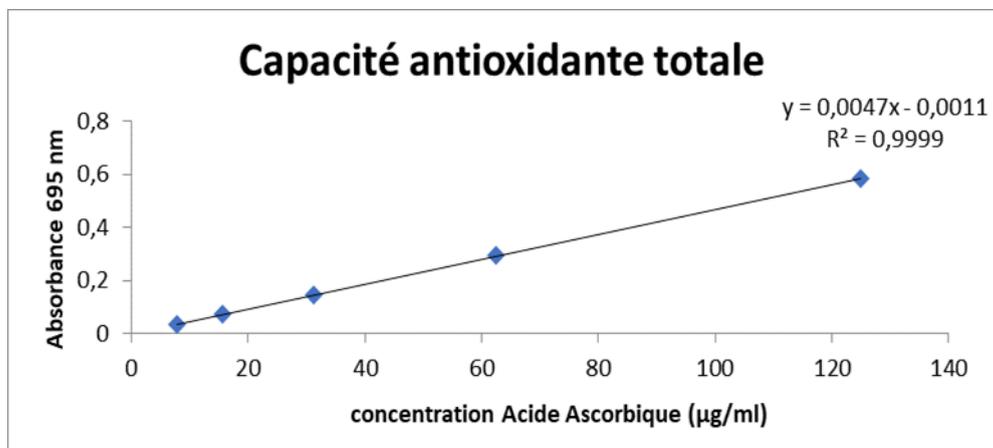
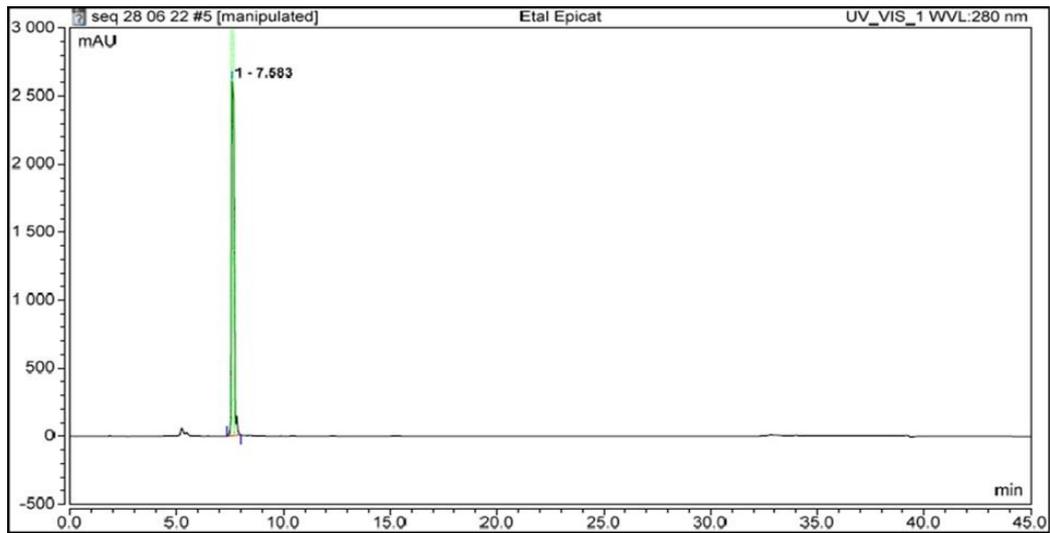
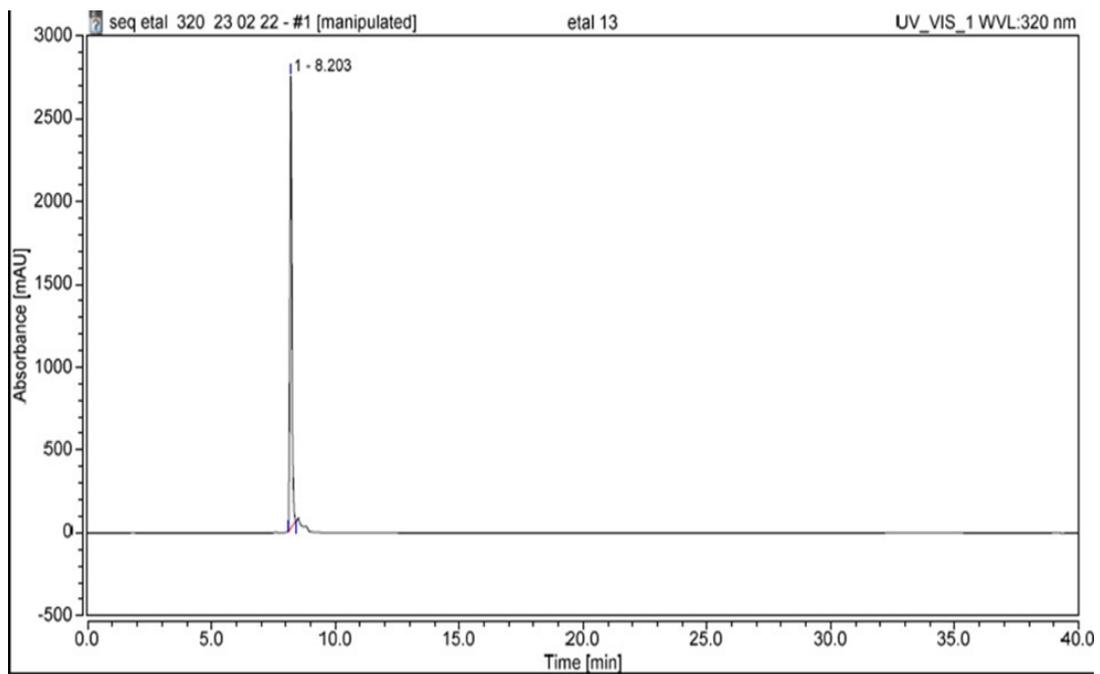


Figure 4. Courbe d'étalonnage avec l'acide ascorbique pour la mesure de l'activité antioxydante totale.

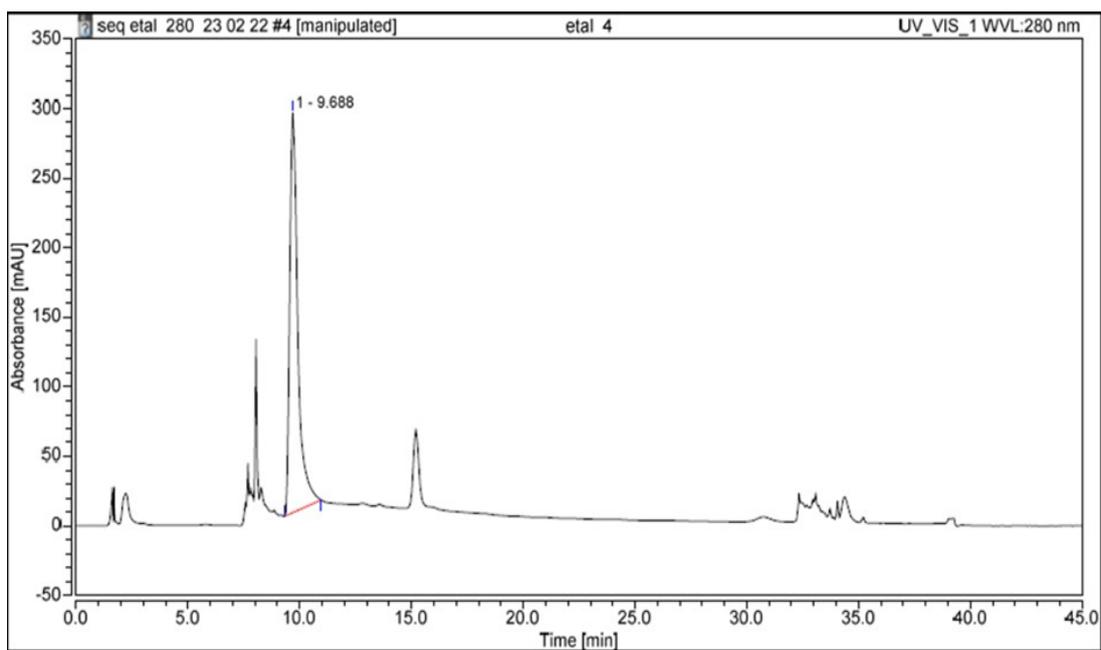
Annexes N° 5 :Chromatogrammes des différents standards testés par l'CLHP



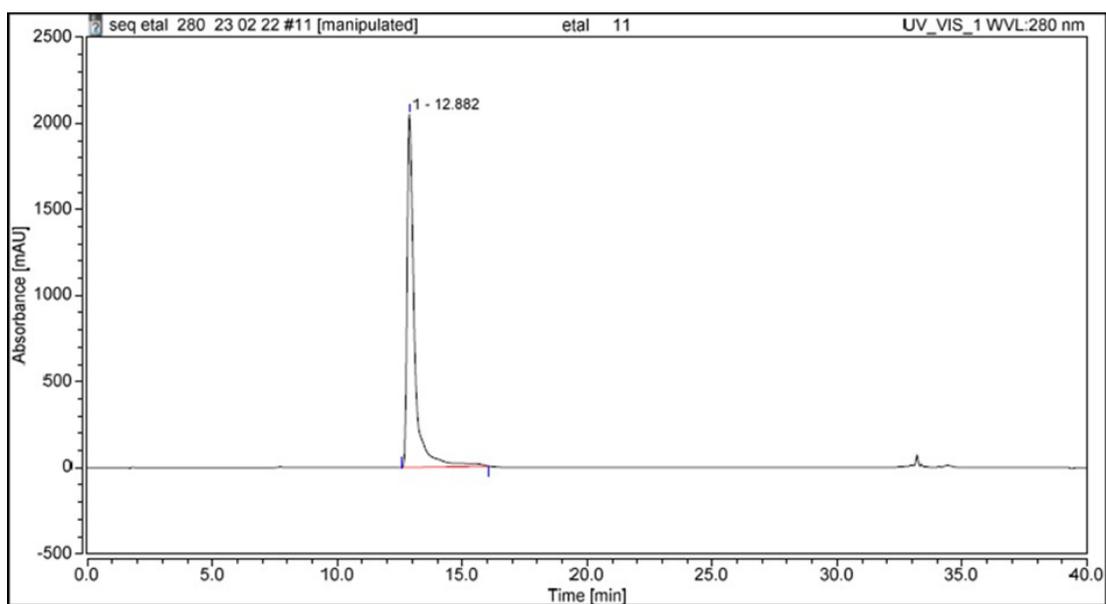
Epicatechine



Rutine



Catéchol



BAH

Annexes N° 6

Courbe d'étalonnage de Zinc (Zn)

Tableau N° 1 : la courbe utilisée pour le dosage de Zn

Concentration	Absorbance
0.5	0,0760383
0.75	0,11165319
1	0,16142127
1.25	0,2394125
1.5	0,23527083

Courbe d'étalonnage de Mg

Tableau N°2 : la courbe utilisée pour le dosage de Mg

Concentrations	Absorbances
0.5	0,1671149
0.75	0,28065306
1	0,29951915
1.25	0,41633618
1.5	0,66520834

Résumé

Quatre extraits ont été obtenus à partir des feuilles et fruits de *Crataegus laciniata* selon deux méthodes d'extraction conventionnelles différentes afin d'étudier leurs propriétés antioxydantes et caractériser les différents composés phénoliques de cette plante. Les résultats du dosage des polyphénols et les flavonoïdes montrent la richesse de l'extrait feuille Soxhlet en ces composés avec des valeurs ($272,58 \pm 8,33$ mg EAG/g d'extrait et $29,58 \pm 0,56$ mg EAG/g d'extrait) respectivement. L'évolution de l'activité antioxydante par le test de pouvoir réducteur a montré que l'extrait feuille Soxhlet de cette plante a un fort pouvoir réducteur avec une valeur ($335,319$ UA), cet extrait présente également un pourcentage d'inhibitions plus élevés, cependant l'évolution de la capacité antioxydante totale de cet extrait se trouve avec une valeur élevée de ($50,224113 \pm 7,8617909$), L'analyse chromatographique a confirmé la présence de composés de type flavonoïde dans l'extrait fruit macération.

Mot clés : *Crataegus laciniata*, activité antioxydante, polyphénols, pouvoir antioxydants

Abstract

Four extracts were obtained from the leaves and fruits of *Crataegus laciniata* using two different conventional extraction methods in order to study their antioxidant properties and characterize the different phenolic compounds of this plant. The results of the assay of polyphenols and flavonoids show the richness of the Soxhlet leaf extract in these compounds with values (272.58 ± 8.33 mg EAG/g of extract and 29.58 ± 0.56 mg EAG/g of 'extract) respectively. The evolution of the antioxidant activity by the reducing power test to show that the Soxhlet leaf extract of this plant has a strong reducing power with a value (335.319 AU), this extract also has a higher percentage of inhibitions, however the evolution of the total antioxidant capacity of this extract is found with a high value of (50.224113 ± 7.8617909), Chromatographic analysis confirmed the presence of flavonoid type compounds in the macerated fruit extract.

Key Words: *Crataegus laciniata*, antioxidant activity, polyphenols, antioxidant power

ملخص

تم الحصول على أربع مستخلصات من أوراق وثمار *Crataegus laciniata* باستخدام طريقتين مختلفتين للاستخلاص التقليديين لدراسة خصائصها المضادة للأكسدة وتوصيف المركبات الفينولية المختلفة لهذا النبات. أظهرت نتائج اختبار البوليفينول فينول من المستخلص ($272,58 \pm 8,33$ مجم EAG / $29,58 \pm 0,56$ مجم EAG) والفلافونويد ثراء مستخلص أوراق سوكللي في هذه المركبات بقيم على التوالي. تطور نشاط مضادات الأكسدة عن طريق اختبار القدرة (ججم من المستخلص / EAG و $335,319$ AU) المختزلة لإظهار أن مستخلص أوراق لهذا النبات له قوة اختزال قوية بقيمة أيضًا على نسبة أعلى من المثبطات، ومع ذلك، تطور تم العثور على السعة المضادة للأكسدة الكلية لهذا المستخلص بقيمة عالية ($50,224113 \pm 7,8617909$) وأكد التحليل الكروماتوغرافي وجود مركبات من نوع الفلافونويد في مستخلص الفاكهة المتعطن.

الكلمات المفتاحية: *Crataegus laciniata*، النشاط المضاد للأكسدة، البوليفينول، القوة المضادة للأكسدة.