

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
Spécialité : Pharmacotoxicologie



Réf :.....

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

MASTER

Thème

Activité biologiques des extraits de deux plantes médicinales :
Crataegus azarolus et Crataegus Laciniata

Présenté par :

Saidi Ouardia & Sbaghdi Assala

Soutenu le : 04 /07/2024

Devant le jury composé de :

Mme SADAoui K.	MCA	Présidente
Mme CHAHER-BAZIZI N.	MCA	Encadrante
Mme HAMADACHE N.	MAA	Examinatrice
Mme HANIFI L.	Doctorante	Invitée

Année universitaire : 2023 / 2024

Remerciement

Avant tout, Nous tenons à remercier Dieu le tout puissant, pour nous avoir donné la force et la patience.

*Les remerciements sont adressés particulièrement à **Mme Chaher-bazizi, Nassima** de nous avoir accompagnée en tant que promotrice.*

*Nous remercions également la doctorante **Hanifi lamia**, de n'avoir épargné aucun effort pour nous aider durant notre pratique au sein du laboratoire.*

Nos remerciements s'adressent également aux membres jury d'avoir accepté l'examen de notre travail.

On tient également à exprimer notre reconnaissance, et notre gratitude à l'égard des enseignants qui ont été notre principale source d'inspiration durant notre cursus universitaire.

Sans oublier nos chères collègues du laboratoire que nous remercions vivement pour les encouragements, et l'ambiance inoubliable qui nous ont permis de réaliser ce mémoire.

Merci à toutes personnes qui ont concouru à l'élaboration de notre travail.

Assala et Ouardia

Dédicace

J'ai le plaisir de dédier ce modeste travail qui n'aurait pas vu le jour sans la contribution matérielle et morale de mes parents, amis:

A mon très cher père : Faïçal

Ton soutien indéfectible et ta sagesse m'ont guidé tout au long de ce parcours. Ta foi en mes capacités et tes encouragements constants ont été ma plus grande force. Ce mémoire est le fruit de ton amour et de ta patience.

Je dédie ce travail avec toute ma reconnaissance et mon amour.

A ma très chère mère : Zouina

Ton amour inconditionnel, ton soutien et tes sacrifices ont rendu ce voyage possible. Ta patience, tes encouragements et ta foi en moi m'ont donné la force de surmonter tous les obstacles. Ce mémoire est dédié à toi, avec toute ma gratitude et mon affection.

A mon frère : Wassim ET mes soeurs : Sana, Esma

Votre soutien, votre camaraderie et vos encouragements ont été une source constante de motivation. Vous avez partagé mes joies et mes défis, et votre présence à mes côtés a rendu ce voyage beaucoup plus enrichissant.

À ma génie soeur : Ines

Pour ton aide précieuse et ton soutien indéfectible. Ta présence rend chaque étape plus lumineuse. Merci d'être toujours là.

À zohir, Mohamed ET mes nouveaux

A ma chère tante : Aicha

A mon deuxième frère : Yacine

Pour ton soutien moral inestimable et ton aide constante. Merci d'être toujours là quand j'en ai besoin. Ta présence signifie beaucoup pour moi.

A mes chers amis sans exception

Votre soutien inébranlable et vos encouragements constants ont été une source de force et d'inspiration tout au long de ce parcours. Merci pour les moments partagés, les rires, et votre présence à chaque étape. Votre amitié est un trésor que je chéris profondément.

A ma binôme : Ouardia

Qui a partagée avec moi les moments difficiles de ce travail

À tous mes collègues de ma promotion de pharmacotoxicologie 2024

À toi, Celui qui est entrain de lire mes dédicaces

Assala

Dédicace

*Au nom d'**ALLAH** Tout puissant, qui nous a éclairé les chemins du savoir et de la sagesse et qui nous a accordé le courage nécessaire pour accomplir ce travail. Nous te prions de nous aider davantage à percer dans la recherche du savoir*

Je dédie ce modeste travail :

*À la bougie qui a illuminé mon parcours depuis ma naissance, à celle dont j'ai prononcé le premier mot, à celle qui est à la base de ma vie et de mon bonheur, **À** ma chère mère **Dalila**, dont la force et le soutien inconditionnel ont été une véritable source d'inspiration pour moi.*

*À mon père **Ahmed** qui m'a apporté son soutien tout au long de mon existence. À cause de sa sagesse et de ses conseils précieux qui ont éclairé ma route.*

*À mes sœurs précieuses, **Chaima, Douaa** et **Asma** mes complices de toujours, pour leur présence joyeuse dans les moments de doute.*

*À mes chers tantes **Saliha, Rachida** et **Fadela**, gardiennes de traditions et de bienveillance, merci pour votre soutien sans faille.*

*À mes chères cousines **Dehia, Nadine** et **Wissam**, même à distance votre amour et votre soutien ont toujours été présents.*

*À mon binôme **Assala**, complice de travail acharné et de réussite partagée, cette aventure n'aurait pas été la même sans toi.*

*À mon fidèle compagnon à quatre pattes **Michou** Même si tu ne peux pas exprimer ton soutien verbalement, ta présence câline et ton amour inconditionnel sont des sources de réconfort inestimables.*

Merci du fond du cœur à chacun d'entre vous pour avoir enrichi mon parcours académique de votre amour et de votre soutien.

Ouardia

Liste des abréviations

AA : Acide ascorbique

ABS : Absorbance

ERO : Espèces réactifs de l'oxygène

IC₅₀ : Concentration inhibitrice médiane à 50 %

E : Extrait

R : Rendement

ERN : Espèces réactives de l'azote

COX : Cyclooxygénase

MPO : Myéloperoxydase

TMPD : Tétra méthyl-paraphénylènediamine

DMSO : Dimethylsulfoxyde

TC : Tannins condensé

Ac: Absorbance du contrôle

At : Absorbance du test.

Ab : Absorbance du blanc.

µg Eq AG/mg d'extrait: microgramme d'équivalent acide gallique par milligramme d'extrait

µg Eq CT/mg d'extrait : microgramme d'équivalent catéchine par milligramme d'extrait

µg Eq Q/mg d'extrait : microgramme d'équivalent quercétine par milligramme d'extrait

nm : nanomètre

T : Température

UV : ultra-violet

Liste des figures

Figure 01 : photos représentant la plante de <i>Crataegus azarolu</i>	4
Figure 02 : feuilles, les fruits, la plante entière et, les fleurs de <i>crataegus Laciniata</i>	7
Figure 03 : Diverses activités pharmacologiques du genre <i>Crataegus</i>	11
Figure 04 : Schéma de la réaction de peroxydation lipidique.....	13
Figure 05 : Effets biologiques des polyphénols.....	16
Figure 06 : Structure moléculaire de chaque groupe de flavonoïdes.....	17
Figure 07 : Structure chimique (A) Tanin condensé (proanthocyanidine), (B) Tanin hydrolysable (gallotannin).....	18
Figure 08 : Teneurs en polyphénols dans les extraits méthanolique des fruits de <i>C.azarolus</i> et de <i>C.laciniata</i>	30
Figure 09 : Teneurs en flavonoides dans les extraits méthanolique des fruits de <i>C.azarolus</i> et de <i>C.laciniata</i>	31
Figure 10 : Teneurs en tanins condensés dans les extraits méthanolique des fruits de <i>C.azarolus</i> et de <i>C.laciniata</i>	32
Figure 11 : Evaluation de l'activité anti radicalaire des deux extraits de <i>crataegus azarolus</i> et <i>crataegus laciniata</i>	35
Figure 12 : Pouvoir réducteur des extraits de <i>crataegus azarolus</i> et <i>crataegus laciniata</i>	36
Figure 13 : Test de phosphate de molybdate sur les deux extraits <i>crataegus azarolus</i> et <i>crataegus laciniata</i>	37
Figure 14 : Zones d'inhibition des différents extraits aux différentes souches bactériennes testées.....	41

Liste des tableaux

Tableau I : Compositions minérales de la partie comestible des fruits de cinq espèces fruitières sous-exploitées, étudiées en Algérie (moyennes et écarts types, n = 5).....	7
Tableau II : Dénominations vernaculaires.....	9
Tableau III : Relations entre les maladies et le stress oxydant.....	12
Tableau IV : Rendement d'extraction du fruit de <i>crataegus azarolus</i> et <i>crataegus laciniata</i>	29
Tableau V : Teneurs en tanins hydrolysables dans les extraits méthanolique des fruits de <i>C.azarolus</i> et de <i>C.laciniata</i>	33
Tableau VI : Teneurs en anthocyanes dans les extraits méthanolique des fruits de <i>C.azarolus</i> et de <i>C.laciniata</i>	34
Tableau VII : Activité inhibitrice du monoxyde d'azote par les extraits. <i>Crataegus azarolus</i> et <i>Crataegus laciniata</i>	38
Tableau VIII : Inhibition de la COX par les deux extraits. <i>Crataegus azarolus</i> et <i>Crataegus laciniata</i>	40
Tableau IX : Valeurs des diamètres moyens en (mm) de la zone d'inhibition des extraits de <i>Crataegus azarolus</i> et <i>Crataegus laciniata</i> aux différentes souches bactériennes testées (D) contrôle négatif.....	42

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....1

Chapitre I : Synthèse Bibliographique

I.1. *Crataegus azarolus*.....4

I.1.1 Etymologie.....4

I.1.2. Description Botanique de *Crataegus azarolus*.....4

I.1.3. Origines et répartition.....5

I.1.4. Systématique de la plante.....6

I.1.5. Composition chimique.....6

I.2. *Crataegus Laciniata*.....7

I.2.1. Description botanique7

I.2.2. Classification systématique de la plante de *crataegus laciniata* 8

I.2.3. Dénomination vernaculaire.....9

I.2.4. Distribution géographique9

I.2.5. Composition chimique de *crataegus*.....9

I.3. Propriétés thérapeutiques traditionnelles et pharmacologiques de *crataegus*.....10

I.4. Stress oxydatif.....11

I.5. Métabolites secondaires.....14

I.5.1. Composés phénoliques.....15

Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1. Matériel végétale.....20

II.2. Méthodes.....20

II.2.1. Préparation de la matière végétale.....20

II.3. Etude phytochimique.....20

II.3.1. Méthode d'extraction.....20

II.3.2. Calcul de rendement.....21

II.3.3. Dosage des composés phénoliques.....21

II.3.4. Dosage des flavonoïdes.....	21
II.3.5. Dosage des tanins condensés.....	22
II.3.6. Dosage des tanins hydrolysables.....	22
II.3.7. Dosage des anthocyanes.....	22
II.4. Evaluation de l'activité antioxydante.....	23
II.4.1. Activité anti radicalaire.....	23
II.4.2. Pouvoir réducteur.....	24
II.4.3. Test de phosphate de molybdate.....	24
II.5. Activité antiinflammatoire.....	24
II.5.1. Test de piégeage des radicaux d'oxyde.....	24
II.5.2. Activité anti cyclooxygénase.....	25
II.6. Activité antibactérienne.....	25
II.6.1. Pouvoir antibactérien des différents des extraits des fruits de <i>crataegus azarolus</i> et <i>crataegus laciniata</i>	25
II.6.2. Principe.....	26
II.6.3. Activité antimicrobienne des extraits.....	26
Chapitre III : Résultats et discussion	
III.1. Rendement d'extraction.....	29
III.2.1. Teneur en polyphénols totaux.....	29
III.2.2. Teneur en flavonoïdes.....	29
III.2.3. Teneur en tanins condensés.....	30
III.2.4. Teneur en tanins hydrolysables.....	31
III.2.5. Teneur en anthocyanes.....	32
III.3. Evaluation de l'activité antioxydante.....	34
III.3.1. Activité antiradicalaire.....	35
III.3.2. Activité du pouvoir réducteur.....	36
III.3.3. Test de molybdate.....	37
III.4. Activité antiinflammatoire.....	38
III.4.1 Test de piégeage du radical monoxyde d'azote.....	38
III.4.2. Activité anti cyclooxygénase.....	39
III.5 Activité antibactérienne.....	40
Conclusion et perspectives.....	44
Références Bibliographiques.....	47

Introduction

Les plantes médicinales sont utilisées dans la médecine traditionnelle afin de soulager et de traiter différentes affections et pathologie chez les êtres humains (**Belščak-Cvitanović et al., 2011**). Elles constituent une réserve inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs. Leurs applications en phytothérapie suscitent un intérêt sans précédent (**Griendling et Gerald, 2003 ; Valko et al., 2007**).

La présence de ces substances bioactives dans les herbes médicinales et les autres végétaux peut avoir des avantages pour la santé (**Cao et Cao 1999 ; Yen, Duh et Tsai 2002**).

Ces composés sont connus sous le nom de métabolites secondaires, tels que les polyphénols, sont considérés comme des composés de premier plan. L'une des principales caractéristiques biologiques de cette classe de composés est leur capacité à agir comme des antioxydants. C'est une activité qui contribue à lutter contre le stress oxydant, qui est largement reconnu comme étant à l'origine de nombreuses maladies chroniques. Les composés phénoliques, notamment les flavonoïdes, ont cette caractéristique qui réduit le risque de développer diverses pathologie (**Griendling and Gerald, 2003 ; Valko and al., 2007**).

En Algérie, comme au monde entier les plantes médicinales et les remèdes n'ont jamais été complètement abandonnés et les individus n'ont jamais cessé de recourir à la médecine traditionnelle, ce qui a permis de préserver une tradition thérapeutique vivante malgré le développement exponentiel de la médecine moderne, connue pour sa richesse en plantes médicinales (**Griendling et Gerald, 2003; Valko et al., 2007**). Différentes recherches ont démontré que les extraits de fruits d'aubépine de la famille des Rosacées ont des effets positifs sur le système cardiovasculaire, tels qu'une activité hypotensive et des effets hypocholestérolémiant et hypolipidémiant (**Nazhand et al., 2020**). Dans cette études deux espèces de crataegus sont étudiées : *Crataegus azarolus* et *Crataegus laciniata*.

Crataegus azarolus est l'une des plantes les plus répandues et couramment utilisées en Algérie. Cette plante, communément appelée Zâarour, a été recommandée en médecine traditionnelle comme un aliment adéquat pour le traitement du diabète, de l'angine de poitrine et des douleurs post-partum (**Boukef, 1986 ; Mustapha et al., 2016**). *Crataegus laciniata* est une espèce qui se rencontre dans toute la Méditerranée occidentale, à savoir le nord de l'Algérie, le Maroc, le sud-est de l'Espagne et l'Italie (Pouilles et Sicile). On a parfois appelé *C. laciniata* *C. orientalis* (**Gallego-Calvo et al., 2015**).

Afin de valoriser les deux plantes médicinales choisies en fonction de leur utilisation par les populations locales en Algérie, nous avons cherché à étudier certaines propriétés

biologiques des extraits du fruit de *Crataegus azarolus* et *Crataegus laciniata* dans le but de mieux appréhender leur potentiel thérapeutique. Nous nous sommes interrogés sur la nature des composés biologiquement actifs présents dans les extraits du fruit de *Crataegus azarolus* et de *crataegus laciniata*, ainsi que sur les différentes activités biologiques de ces végétaux.

Notre étude vise à atteindre les objectifs suivants :

- Extraction
- Dosage des flavonoïdes
- Dosage des polyphénols
- Dosage des tannins
- Etude de l'activité antioxydant
- Etude de l'activité anti-inflammatoire
- Etude de l'activité antibactérienne

Notre travail est divisé en quatre parties :

- ✓ Dans la première partie, nous présentons une synthèse bibliographique sur le genre *crataegus* en général et les espèces étudiées, ainsi que des informations générales sur les principales catégories de composés phénoliques (polyphénols, flavonoïdes, tanins (condensés et hydrolysables) et le stress oxydatif ;
- ✓ Dans la deuxième partie, on présente le matériel et les méthodes analytiques employés ;
- ✓ Dans la troisième partie du mémoire, on présentera tous les résultats obtenus et les discussions qui en découlent ;
- ✓ Enfin, on conclura ce travail par une conclusion générale et une perspective de cette étude.

I. Synthèse bibliographique

I. Crataegus azarolus

I.1.1. Etymologie

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

Crataegus azarolus: Azérolier ou Epine d'Espagne, en arabe Zaaroura, nommé par les anglophones Azarole Hawthorne.

Crataegus : du grec krataigon, lui-même dérivé de krataios, « fort, robuste », est une espèce de Aubépines appartenant à la famille des Rosacées

azarolus : de l'espagnol « acerola » qui désigne le fruit, lui-même emprunté à l'arabe « az-zou'rour »; ce sont donc probablement les arabes qui ont introduit l'Azérolier en Afrique du nord, puis en Espagne (épine d'Espagne), d'où il passa ensuite en France (**Mazzocchi, 1999; Brosse, 2000**)

I.1.2. Description botanique du *Crataegus azarolus*

La plante *crataegus azarolus* a une hauteur maximale de 10 à 12 mètres, mais elle ne dépasse généralement pas 6 mètres. Il est épineux, comme l'aubépine commune et l'aubépine monogyne, et se distingue de ces dernières par sa cime rameuse, ses ramules tomenteux, ses feuilles pubescentes et ses fruits comestibles (figure 01).

Les feuilles sont à peu près triangulaires et entières à la base, coupées au sommet en 3 lobes divergents et dentés ; elles sont fermes, pubescentes ; elles sont vert grisâtre en dessous, avec un pétiole glabre. Fleurs blanches ou rosées, corymbées, à pédoncule tomenteux, en avril-mai. Selon **Brosse (2010)**, les fruits Azeroles sont ovoïdes, mesurant 2 cm de long, d'un rouge vermillon ou jaunâtre, avec 1 ou 2 noyaux. Ils ont une chair pulpeuse, parfumée et un goût agréable. On les consomme frais ou sous forme de gelées ou de confitures. On en extrait également de l'alcool.



Figure01 : Photos représentant la plante de *Crataegus azarolus* <https://identify.plantnet.org/> (consulté le 19 février 2024)

I.1.3. Origines et répartition

Cette aubépine, qui est probablement originaire de la Méditerranée orientale et de l'Asie mineure (de la crête au Turkestan), n'a été introduite à Rome que sous le règne d'Auguste. Il est probable qu'elle soit originaire d'Espagne (azerolier est un terme d'origine espagnole et on l'appelle parfois épine d'Espagne), et elle a été introduite en France. On la rencontre principalement près du littoral méditerranéen et en Corse, où elle est souvent cultivée dans les jardins, en particulier pour les variétés agros fruits qui sont multipliées par greffage (**Brosse (2010)**)

L'azerolier est principalement présent en Algérie dans le tell algéro-constantinois, de manière spontanée en forêts assez rares et parfois planté en haies ou en clôture dans les jardins de campagne. On retrouve différentes espèces d'azéroliers telles que *Crataegus oxyacantha* L. (connu sous le nom de boumekherri ou babaadjina), *Crataegus monogynajacq.* (ssp de *C.oxyacontha*), *Crataegus maura* , Ce dernier se distingue de *C.azarolus* par ses pédicelles glabres et ses fruits plus petits (10- 15 mm) plutôt que 15 à 30 mm (**Quezel et Santa, 1962**).

Selon **Serhane (2005)**, la présence de l'azérolier dans ces régions a été confirmée :

- La région de Sétif comprend les villes de Bougaa, Ain Roua, Ain Kbir, Beni Aziz, djebel Boutaleb et Ouled Tebène ;

- La région de Guelma : Guelma : Oued Zenati, Ras el Akba
- La région de Constantine : Djebel El Meridj, El Khroub et Ain Abid

I.1.4. Systématique de la plante

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

Règne : Végétal

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

Embranchement : Spermaphytes (plantes à graines)

Sous-embranchement : Angiospermes (plantes à fruits)

Classe : Dicotylédones

Sous-classe : Dialypétales (Choripétales)

Série: Calciflores

Ordre : Rosales

Famille : Rosacées

Tribu : Pirées

Genre : Crataeg

Espèce : *Crataegus azarolus* L

I.1.5. Composition chimique

Les fruits de certaines espèces sont très prisés pour leur goût unique et leurs propriétés nutritionnelles. La teneur en sucres des fruits varie de 4 à 11 pour cent, principalement du fructose ; parmi les acides organiques, l'acide malique est le plus élevé. Il y a une proportion de 0,6 à 1,6 % de substances pectines, de 0,8 à 1,7 % de substances tanniques et pigmentaires, de 31 à 108 mg/100 g de fruit, et de 380 à 680 mg/g de fruit de vitamine A (Dzhangaliev et al., 2010).

Différentes analyses ont été menées par Bignami et al., 2003 et Koyuncu et al., 2007 afin d'évaluer les caractéristiques chimiques de cette espèce, et d'après leurs résultats il ont démontré que la pulpe des azéroles contenait une quantité importante de vitamine C, avec une teneur de 27,58 mg·100 g-1 de matière fraîche, ainsi que du carotène, des sels minéraux, principalement du calcium et du phosphore, ainsi que du fer.

Selon les recherches menées par (Boudraa et al., 2010), le genre de Crataegus et l'espèce de *Crataegus azarolus* présentent des niveaux de minéraux et de vitamines . Les résultats sont présenté dans le (tableau I) .

Tableau I : Compositions minérales de la partie comestible des fruits de espèces aubépine fruitières sous-exploitées, étudiées en Algérie .(**Boudraa et al., 2010**).

Fruit (type fruit frais)	Teneur eau (g ⁻¹⁰⁰ g ⁻¹ mf)	Teneur minéral (g ⁻¹⁰⁰ g ¹ ms)	Macroéléments (mg·100 g ⁻¹ ms)	
			Calcium Magnésium	Potassium
Azérole	70,22±8,06	4,10±0,1	184,59 ± 0,49 250,26 ± 1,70	434,96±0,00
Fruit de l'aubépine	35,52±3,40	5,00±0,07	414,189 94,80 ± 31,71	156,52 ± 15,43

Dans cette espèce, les métabolites secondaires principaux sont des flavonoïdes (1-2%) et des proanthocyanidines (2-3%) (**Bruneton, 1999 ; Degenring et al., 2003 ; Ercicli et al., 2004 ; Lijuan et al., 2005, Valls et al., 2007**). La rutine, l'hyéroside, l'orientine et la vitexine sont présentes, ainsi que leur dérivé, la vitexine-2"-O-rhamnoside (principal flavonoïde des fleurs), ainsi que l'acétylavitexine-2"rhamnoside (accompagné chez certaines espèces) (**Rita et al., 2007**). Les flavonoïdes glycosides, principalement le quercétol-3 galactoside, l'hypéroside, le spiréoside et le rutinoside, sont présents dans l'inflorescence (**Bruneton, 1993 ; Bruneton, 1999 ; Fong et Bouman, 2002**)

I.2. *Crataegus Laciniata*

I.2.1. Description botanique

Crataegus laciniata est une espèce d'arbustes épineux de la famille des Rosacées. Il peut atteindre 6 mètres de haut. Les fleurs blanches (fig.02 II) sont hermaphrodites et se forment en grappes de 5 à 12. Les feuilles de cette plante (fig.02.I) sont généralement ovales ou obovales, dentées. On les insère individuellement sur un axe à divers niveaux et elles ont de 5 à 9 lobes. Les pétioles des feuilles subterminales sont courts. Les baies d'aubépine (fig.02.III) sont ovoïdes et sont d'un vert-rouge au rouge vif, puis au rouge foncé. Leur peau est blanche et épaisse. Selon (**Verma et al., 2007 ; Yanar et al., 2011 et Kumar et al., 2012**).



Figure02 : Feuilles, les fruits, la plante entière et, les fleurs de *crataegus Laciniata* <https://identify.plantnet.org/fr> consulté le 22/05/2024.

I.2.2. Classification systématique de la plante *Crataegus laciniata*

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

Règne : Planta (Plantes)

Sous-règne : Tracheobionta (plantesvasculaires)

Embranchement : Spermatophyta (spermaphytes)

Sous embranchement : Angiospermae (angiospermes)

Classe : Magnoliophytes(dicotylédones)

Famille : Rosaceae

Genre : *Crataegus*

Espèce : *Crataegus laciniata*.

I.2.3. Dénomination vernaculaire

Plusieurs noms vernaculaires de *crataegus laciniata* selon (bellakhdar,1997 ; Bachiri et al.,2015). Les dominations sont présentées dans le tableau II

Tableau II: dénominations vernaculaires.

Langues	Noms vernaculaire
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>

I.2.4. 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).

Cette espèce de *crataegus* est endémique des régions tempérées, telles que l'Afrique du Nord, l'Asie de l'Ouest, l'Inde, la Chine et l'Amérique du Nord (Kumar et al., 2012). Les *Crataegus laciniata* se trouvent dans les forêts rocailleuses au-dessus de 1300 mètres d'altitude, dans les pelouses, les montagnes calcaires et siliceuses, ainsi que dans les sols riches en éléments fins (Emberger, 1938).

I.2.5. Composition chimique de *Crataegus laciniata*

Selon des recherches précédentes sur des extraits de ces espèces, il a été démontré qu'ils renferment une quantité importante de composés bioactifs tels que la vitexine, l'acide ursolique, l'acide oléanolique et l'acide crataégolique (Chang et al., 2002 ; Fong, H. H. et Bauman, 2002). Selon Lacoste (2006), les extraits d'espèces de *Crataegus* renferment divers composés tels que la catéchine, les acides aromatiques carboxyliques, les dérivés aminés et puriques, ainsi que d'autres composés identifiés.

I.3. Propriétés thérapeutiques traditionnelles et pharmacologiques de *Crataegus*

I.3.1. Propriétés traditionnelles

Selon les recherches précédentes sur des extraits de ces espèces, il a été démontré qu'ils renferment une quantité importante de composés bioactifs tels que la vitexine, l'acide ursolique, l'acide oléanolique et l'acide crataégolique (**Chang et al., 2002 ; Fong, H. H. et Bauman, 2002**). Les extraits des plantes de *Crataegus* renferment divers composés tels que la catéchine, les triterpénoïdes, les acides carboxyliques aromatiques, les dérivés aminés et puriques, ainsi que d'autres composés identifiés. Selon **Lacoste (2006)** La médecine traditionnelle utilise le genre de *Crataegus* depuis l'Antiquité pour des usages thérapeutiques bénéfiques. Dans le cadre de la médecine arabe traditionnelle On utilise une décoction de feuilles et de fruits non mûrs de *Crataegus aronia* pour soigner les maladies cardiovasculaires, le cancer, le diabète et la faiblesse sexuelle. **Ju (2005)**.

Le fruit comestible *C. pinnatifida* (l'aubépine chinoise) est traditionnellement employé pour réduire les niveaux de lipides dans le sang (**Lin et al., 2009**). En Turquie, on utilise le thé et le vinaigre des fruits et des fleurs d'aubépine pour soigner différentes affections comme la toux, la grippe, l'asthme, les maux d'estomac, les rhumatismes douloureux, la néphrite et les hémorroïdes (**Caliskan, 2015**).

I.3.2. Propriétés pharmacologiques

Les plantes médicinales, telles que le genre de *Crataegus*, produisent une grande quantité de composés chimiques bioactifs naturels avec des propriétés thérapeutiques, ce qui crée une source de médicaments à fort impact sur le marché mondial (**Rigon et al., 2019 ; Souto et al., 2020**).

En outre, en raison de leur concentration élevée en biflavonoïdes, les baies d'aubépine contribuent à l'activité cardiaque en augmentant la capacité du corps à utiliser l'oxygène et la capacité du cœur à utiliser le calcium (**Verma et al., 2007**).

Ce type de plante présente différentes propriétés pharmacologiques, dont certaines espèces ont été étudiées pour leurs propriétés biologiques (figure03).

La variété de *Crataegus* peut :

- Améliorer le flux sanguin (**Long et al., 2006**).

- Améliorer les troubles cardiovasculaires comme l'arythmie, l'infarctus du myocarde ainsi l'insuffisance cardiaque congestive (**Garjani et al., 2000**).
- possède une activité antimicrobienne et peuvent être utilisé comme un agent hepatoprotective (**Tadic et al., 2008 ; Kao et al., 2005**).
- activités anti oxydantes et immunostimulantes (**Hanus et al., 2004**).
- Traitement de l'anxiété et la dépression douce (**Hanus et al., 2004**).
- Possède des propriétés anticancéreuse (**Rigon et al., 2019**).

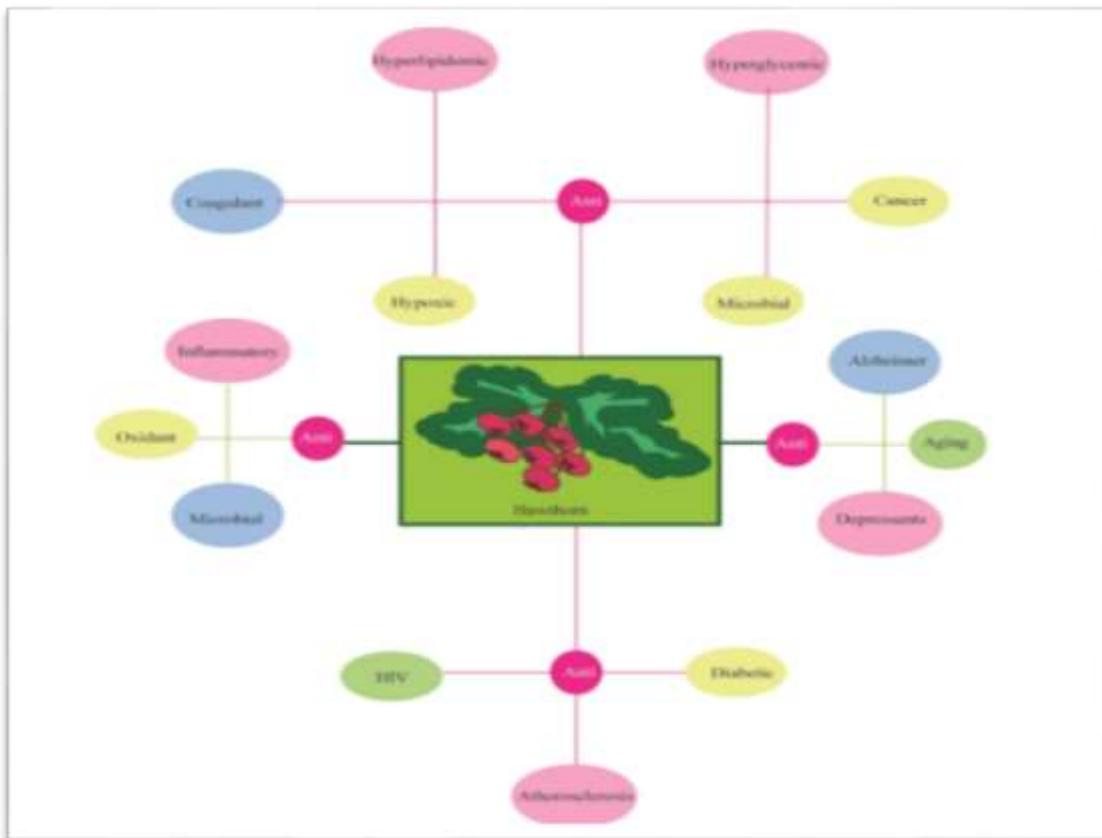


Figure 03 : Diverses activités pharmacologiques du genre *Crataegus* (**Rigon et al., 2019**).

I.4. Stress oxydatif

Selon **Sies (1997)**, le stress oxydatif est une situation inhabituelle que nos cellules ou certains de nos tissus traversent lorsqu'ils sont exposés à une production, endogène ou exogène, de radicaux libres oxygénés qui dépasse leurs capacités antioxydantes.

Les radicaux libres jouent un rôle essentiel dans le fonctionnement de certaines enzymes, dans la transmission de signaux cellulaires, dans la prophylaxie contre les agents pathogènes, ainsi que dans la destruction des cellules tumorales par apoptose. La présence excessive de

ces derniers, qui ne sont pas neutralisées par les moyens de défense, entraîne des anomalies dans l'expression des gènes et des récepteurs membranaires. En raison de leur besoin en espèces réactives d'oxygène, l'organisme ne cherche pas à les éliminer, mais à contrôler leur niveau afin d'éviter le stress oxydatif. Le (tableau IV) présente la relations entre les maladies et le stress oxydatif

Tableau III. Relations entre les maladies et le stress oxydatif (**Favier et al.,2006**)

Maladies dues à une production insuffisante de radicaux libres	Maladies où le stress oxydatif est la cause primordiale
<ul style="list-style-type: none"> • Agranulomatose septique • Psoriasis 	<ul style="list-style-type: none"> • Cancers • Autoimmunité • Cataracte • Dégénérescence musculaire • Sclérose latérale amyotrophique • Photo-vieillissement cutané • Photosensibilisation • Irradiation • Intoxication : CCl₄, Cd, Fe, alcool • Hémochromatose

I.4.1.Lutte contre le stress oxydatif

Les recherches suggèrent que les polyphénols ont une capacité antioxydante qui pourrait réduire le risque de diverses maladies, notamment celles liées au vieillissement et aux lésions oxydatives (cancers, maladies cardiovasculaires ou neurodégénératives). Il n'est pas récent que l'intérêt pour des substances qui possèdent ce genre de propriétés, car elles sont depuis longtemps utilisées dans l'industrie agroalimentaire en tant que conservateurs pour prévenir le rancissement des matières grasses, ce qui entraîne leur dégradation et leur odeur très désagréable. (**Hennebelle et al .,2004**).

On explique aujourd'hui ce fait simple par la réaction de peroxydation (ou autoxydation) des lipides.

Nous rappelons ici trois étapes de cette réaction radicalaire :

- l'initiation : qui consiste en la rupture homolytique, occasionnée par un initiateur radicalaire, d'une liaison C-H de la chaîne d'un acide gras, ce qui en fait un composé

radicalaire très réactif vis-à-vis de l'oxygène et qui va donc se transformer en radical peroxyde .

- la propagation : au cours de laquelle le radical peroxyde va arracher un hydrogène à un autre acide gras, créant un nouveau radical et entretenant ainsi une réaction en chaîne,
- pour se transformer en hydroperoxyde. Ce dernier finira par se dégrader en aldéhydes volatiles expliquant l'odeur nauséabonde
- la terminaison : entraînée par la réaction de deux radicaux pour donner une espèce moléculaire ou par intervention d'un composé anti-oxydant, dit « briseur de chaîne »
- (Hennebelle *et al.*, 2004) (figure 04).

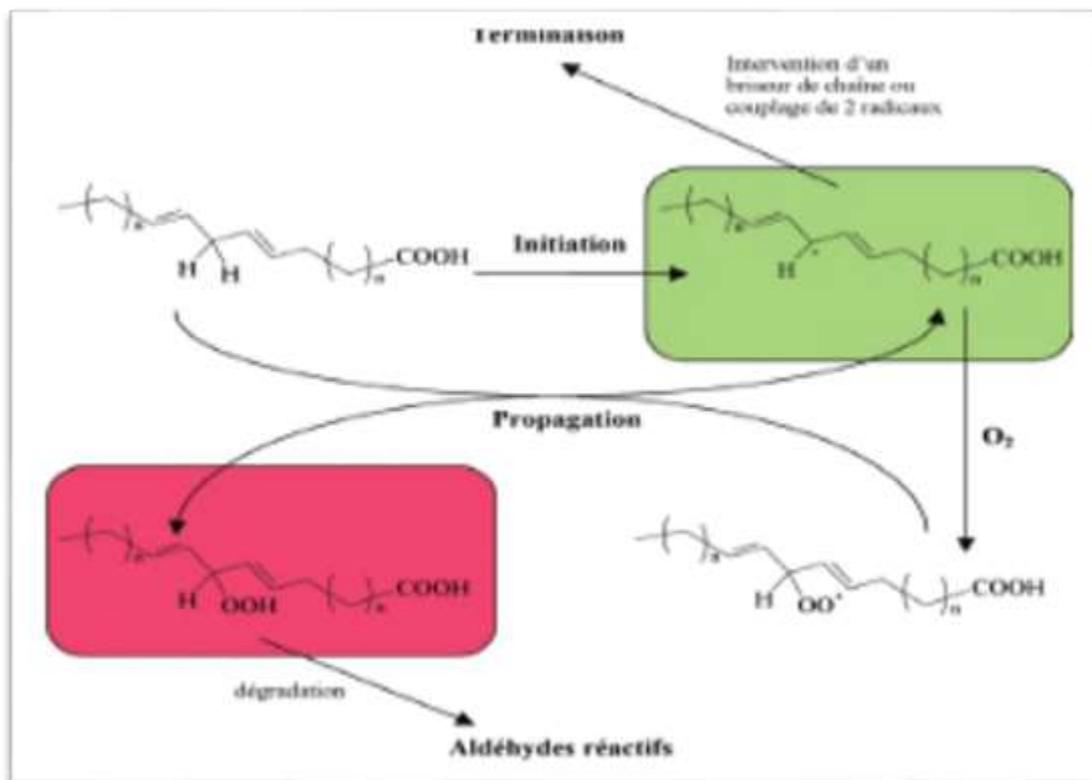


Figure04 : Schéma de la réaction de peroxydation lipidique (Hennebelle *et al.*, 2004).

Les étapes encadrées sont celles où la réaction radicalaire peut être interrompue :

- **En vert** : la réaction s'arrête par couplage de deux radicaux ou par intervention d'un antioxydant briseur de chaîne sans conséquence néfaste.

- **En rouge** : l'hydroperoxyde formé, instable, se dégrade en aldéhydes responsables de l'odeur liée au rancissement, qui, in vivo, peuvent provoquer des lésions sur d'autres molécules (figure 04).

Les stratégies de lutte contre l'oxydation se concentrent donc sur des aspects essentiels de la réaction de peroxydation lipidique chez l'homme : renforcer les enzymes détoxifiantes (superoxydedismutase, glutathion, sélénium), prendre des vitamines antioxydantes (vitamines C et E), détruire les ERO, inhiber la phase de propagation par donation d'hydrogène ou transfert électronique.

Dans une recherche menée au laboratoire de pharmacognosie de la Faculté des sciences pharmaceutiques et biologiques de Lille, il a été démontré que certains antioxydants végétaux captent les radicaux libres (en particulier les ERO), diminuent considérablement l'oxydation des lipoprotéines de basse densité (LDL) et inhibent la libération d'endothéline, un peptide vasoconstricteur, ainsi que de nouveaux composés issus de plantes africaines, dont l'activité antioxydante significative pourrait expliquer leur utilisation traditionnelle dans les troubles de la fonction érectile (**Hennebelle et al., 2004**).

I.5. Métabolites secondaires

En plus des métabolites primaires traditionnels tels que les glucides, les protides, les lipides et les acides nucléiques, ils accumulent souvent des métabolites dits « secondaires » dont la fonction physiologique est connue, qui constituent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi variés que la pharmacologie ou l'agroalimentaire (**Macheix et al., 2005**).

Selon **Macheix et al., (2005)**, les métabolites secondaires sont des composés chimiques divers (alcaloïdes, terpènes, composés phénoliques...) qui sont très inégalement répartis chez les végétaux, mais leur niveau d'accumulation peut parfois atteindre des niveaux élevés.

On sait aujourd'hui que les composés phénoliques jouent un rôle dans divers aspects de la vie de la plante et dans l'usage que l'homme fait des végétaux. Ils ont la possibilité d'intervenir (**Macheix et al., 2005**):

- Dans certains aspects de la physiologie de la plante (lignification, régulation de la croissance, interaction moléculaires avec certains microorganismes symbiotiques ou parasites....)

- Dans les interactions des plantes avec leur environnement biologique et physique (relation avec les bactéries, les champignons, les insectes, résistance aux UV), soit directement dans la nature soit lors de la conservation après récolte de certains végétaux)
- Dans la protection de l'homme vis-à-vis de certaines maladies en raison de leur interaction possible avec de nombreuses enzymes et leurs propriétés antioxydantes.

I.5.1. Composés phénoliques

L'ensemble des composés phytochimiques présents dans les plantes est constitué de composés phénoliques (acides phénoliques, flavonoïdes simples et proanthocyanidines). Des études récentes sur leur activité antioxydante ont suscité l'intérêt pour les composés phénoliques (**Beta et al., 2005**).

On connaît actuellement plus de 8000 structures phénoliques, allant des molécules phénoliques simples de faible poids moléculaire comme les acides phénoliques à des composés polymérisés très haut de gamme comme les tanins. Selon **Martin et Andriantsitohaina (2002)**, ils peuvent être associés à un ou plusieurs résidus sucrés liés, ou ils peuvent également être associés à d'autres composés chimiques tels que des acides carboxyliques, des amines ou des lipides, ainsi qu'à d'autres phénols.

Les polyphénols proviennent du métabolisme secondaire des végétaux. Deux voies bio-synthétiques sont utilisées pour leur synthèse : • celle de l'acide shikimique, qui entraîne la transamination et la désamination des acides cinnamiques et de leurs nombreux dérivés, tels que les acides benzoïques ou les phénols simples ; • celle de l'acétate, qui produit des poly β -coesters (polyacétates) de longueur variable qui entraînent une cyclisation vers des composés polycycliques tels que les dihydroxy-1,8 anthraquinones ou les naphthoquinones (**Martin et Andriantsitohaina, 2002**).

Selon **Martin et Andriantsitohaina (2002)**, les polyphénols ont été décrits comme des antioxydants, des anti-agrégants plaquettaires, des anti-inflammatoires, des anti-allergènes, des anti-thrombotiques et des anti-tumoraux (Figure 05).

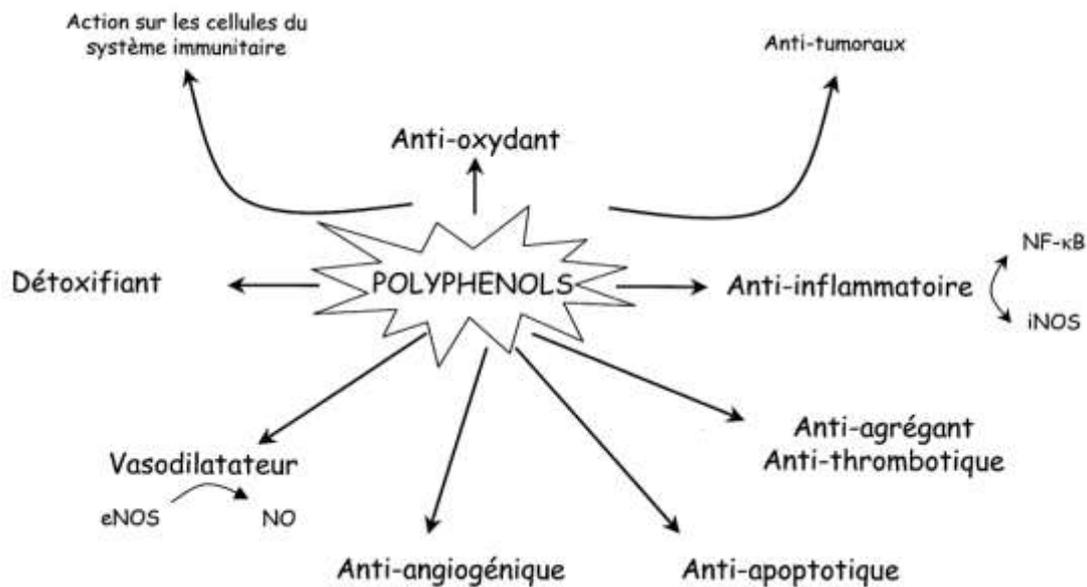
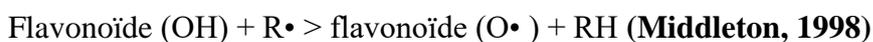


Figure 05. Effets biologiques des polyphénols (Martin et Andriantsiohaina, 2000).

I.5.1.1. flavonoïdes

Les flavonoïdes, dont la structure générale est C_{15} ($C_6-C_3-C_6$), regroupent à lui seul plusieurs milliers de molécules regroupées en dix classes, dont certaines ont une importance biologique et technologique considérable : les anthocyanes, pigments rouges ou bleus, les flavones et flavonols, de couleur crème ou jaune clair, les flavanes dont les produits de condensation sont l'origine d'un groupe important de tanins et d'isoflavones qui jouent un rôle dans la santé humaine (Macheix et al., 2005).

Les radicaux oxydent les flavonoïdes, créant ainsi un produit plus stable et moins réactif. Autrement dit, les flavonoïdes maintiennent la stabilité des espèces réactives de l'oxygène en réagissant avec le composé réactif du radical. Selon Korkina et Afanas'ev (1997), en raison de la grande réactivité de l'hydroxyle groupe des flavonoïdes, les radicaux sont inactifs :



où $\text{R}\cdot$ est un radical libre et $\text{O}\cdot$ est un radical libre d'oxygène.

Les flavonoïdes choisis ont la capacité d'éliminer directement les superoxydes, tandis que d'autres flavonoïdes peuvent capturer le radical très réactif du peroxyde d'azote. Les radicaux peuvent également être piégés par l'épicatéchine et la rutine (Hanasaki et al., 1994) (figure 06).

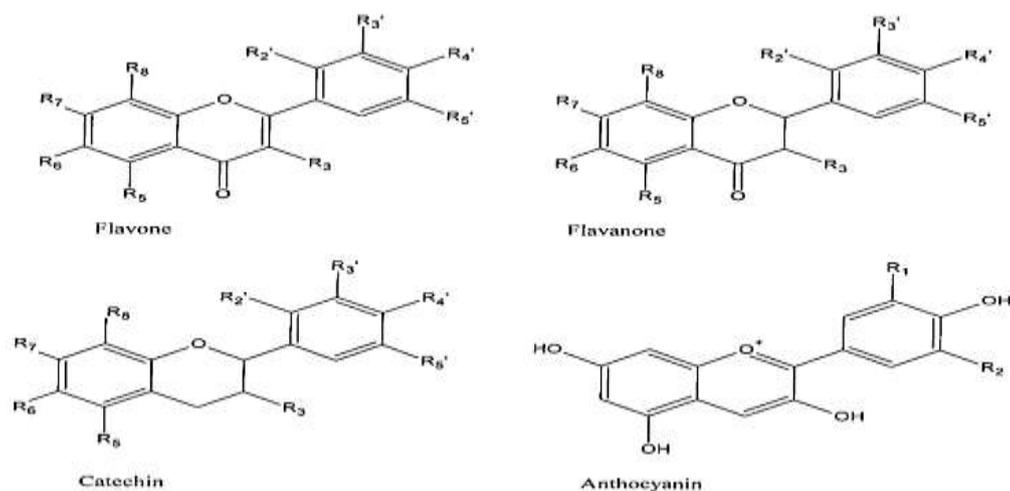


Figure 06 : structure moléculaire de chaque groupe de flavonoïdes (Nijveldt *et al.*, 2001).

I.5.1.2. Tanins

Le terme Tanin remonte à une pratique ancienne qui consistait à utiliser des extraits de plantes pour tanner les peaux d'animaux (Hopkins, 2003). Ces métabolites hydrosolubles sont présents dans toutes les plantes à des degrés variés (Zimmer et Cordesse, 1996 ; Bruneton, 1999). Les tanins jouent un rôle biologique important dans la plante en protégeant contre les maladies, les attaques fongiques et les animaux herbivores (Khanbabae et Ree, 2001). Selon Hemingway (1992), ils présentent une structure complexe, composée de sous-unités répétitives qui se distinguent par leurs centres non symétriques et leur niveau d'oxydation.

Selon Macheix *et al.* (2005), les tanins peuvent être considérés comme des formes phénoliques condensées qui peuvent se fixer aux protéines en solution et les précipiter. Les tanins sont classés en deux groupes distincts en fonction de leur composition et de leur réactivité chimique (Haslam, 1989).

Selon Derbel et Ghedira (2005), il existe deux types de tanins : le tanin condensé (proanthocyanidine) et le tanin hydrolysable (gallotanin).

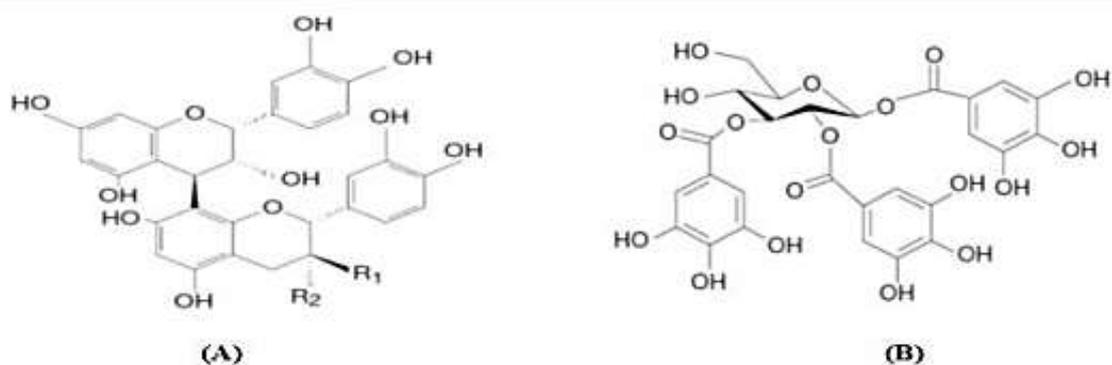
- ❖ **Tanins hydrolysables** : également appelés des oligo ou polyesters, qui contiennent un nombre variable d'acide phénol. En général, le sucre est composé de D-glucose et d'acide phénol. L'acide gallique est présent dans les gallotanins, tandis que l'acide ellagique est présent dans les tanins traditionnellement appelés ellagitanins (Bruneton, 1993 ; Cowan, 1999) (figure07).

- ❖ **Tanins condensés (TC):** Les tanins condensés (TC), également connus sous le nom de proanthocyanidines, se distinguent des tanins hydrolysables par leur structure différente, car ils ne contiennent pas de sucre dans leur molécule (figure 07).

I.5.1.2.1. Propriétés biologiques des tanins

- Les tanins possèdent un pouvoir antioxydant grâce à leurs noyaux phénols et la présence des groupes di- ou tri hydroxyles sur le cycle B et les groupes méta-5,7-dihydroxyles sur le cycle A (**Rahman et al., 2006**).

Figure 07 : Structure chimique (A) Tanin condensé (proanthocyanidine), (B) Tanin



hydrolysable (gallotannin)

- Possèdent des propriétés vasculoprotectrices, cicatrisantes et anti-diarrhéiques grâce à leurs pouvoir astringent (**Hennebelle et al., 2004**).
- Ce sont des donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques produits pendant la peroxydation, ce qui induit à la formation de radicaux tanniques plus stables qui arrête la réaction en chaîne de l'auto oxydation des lipides (**Smythies, 1998**).
- Permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections (**Zimmer et Cordesse, 1996 ; Smythies, 1998 ; Bruneton, 1999**).

Matériel et méthodes

II. Matériel et méthodes

II.1. Matériel végétal

La recherche a été menée sur les fruits de deux espèces de la famille des rosacées, *Crataegus azarolus* et *Crataegus laciniata*. Ces dernières ont été identifiées par un botaniste de la faculté de science de la nature et de la vie de l'université de Bejaia.

II.1.1. Récolte

Les fruits de *Crataegus azarolus* ont été récoltés le 27 octobre 2023 à Tala Senta, région de Sétif. Les fruits de *Crataegus lacinata* ont été récoltés le 30 octobre 2023 dans la région de Djurdjura, de la wilaya de Tizi Ouzou (Algérie).

II.2. Méthodes

II.2.1. Préparation de la matière végétale

➤ Séchage

Les deux fruits ont été séchés à l'air libre et à l'abri de la lumière pendant 48h.

➤ Broyage

Après séchage les produits obtenus ont été transformés en poudre à l'aide d'un broyeur électrique.

➤ Tamisage

Les poudres obtenues ont été tamisées par un tamis de diamètre de 63µm après avoir une quantité spécifique.

II.3. Etude phytochimique

Les extraits de *Crataegus azarolus* et *Crataegus laciniata* ont été analysés quantitativement pour identifier les principaux groupes de métabolites secondaires tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins et les anthocyanes. Le choix du dosage de ces substances réside dans le fait que la plupart des propriétés biologiques de la plante lui sont attribuées (Boizot et al., 2006 ; Wong et al., 2006).

II.3.1. Méthode d'extraction

L'extraction des métabolites secondaires a été réalisée par ultrason en mélangeant 8g de poudre de fruits de *crataegus azarolus* et *Crataegus laciniata* avec 100ml de méthanol à 75%.

Après avoir utilisé un dispositif appelé sonicateur avec une amplitude de 74%, l'extrait a été récupéré après 4,5 minutes. Ensuite, il a été filtré à l'aide d'une pompe à vide afin d'éliminer toutes les particules solides et de faciliter le passage du fluide à travers le filtre.

II.3.2. Calcul du rendement

Selon **Mahmoudi et al., (2012)**, le rendement de l'extraction est calculé en comparant la masse de l'extrait obtenu après évaporation à la masse de la matière première végétale après séchage.

La formule est comme suit :

$$R = M_{\text{ext}} / M_{\text{éch}} \times 100$$

Où :

R : le rendement en gramme.

M_{ext} : la masse de l'extrait après évaporation du solvant en gramme.

M_{éch} : la masse sèche de l'échantillon végétal en gramme.

II.3.3 Dosage des composés phénoliques

Les extraits ont été évalués pour mesurer le taux des phénols totaux selon le protocole développé par **Singleton et Rossi (1965)**. Afin de réaliser cela, on a mélangé 1 ml du réactif de Folin-Ciocalteu (à une concentration de 10%) avec 200 µl de chaque échantillon ou standard à des concentrations adéquates. Quatre minutes plus tard, on a ajouté 800 µl d'une solution de carbonate de sodium (à 7,5%). Après une incubation de 30 minutes à température ambiante, on a mesuré l'absorbance à 760 nm. Une équation de régression établie avec de l'acide gallique comme standard a été utilisée pour quantifier les polyphénols, qui sont exprimés en mg d'acide gallique équivalent par gramme d'extrait sec (mg EAG/g ES). La préparation d'un témoin a été réalisée en combinant 0,2 ml du solvant d'extraction avec 1 ml du réactif Folin-Ciocalteu et 0,8 ml de la solution de carbonate de sodium. Chaque étape a été réalisée en trois exemplaires.

II.3.4. Dosage des flavonoïdes

La quantité de flavonoïdes a été mesurée à l'aide de la méthode au trichlorure d'aluminium en se basant sur la rutine comme composé de référence. On a ajouté 125 µl d'extrait à 75 µl d'une solution de NaNO₂ à 5 %. Le mélange a été laissé reposer pendant une durée de 6 minutes. Puis, on a ajouté 150 µL de trichlorure d'aluminium (10 %)

et on a incubé pendant 5 minutes, puis on a ajouté 750 μl de NaOH (1 M). Le volume final de la solution a été réduit à 2500 μl en utilisant de l'eau distillée. Après 15 minutes d'incubation, le mélange devient rose et l'absorbance est évaluée à une longueur d'onde de 510 nm (**Triki et al., 2022**).

II.3.5. Dosage des tanins condensés (Pro-anthocyanidines)

Les pro-anthocyanidines ont été mesurées en utilisant le protocole de **Kaouamé et al., (2021)** avec quelques modifications. Dans cette optique, on a mélangé 250 μl d'une solution d'extrait avec 1,5ml de solution de vanilline (à 4%) préalablement préparée dans du méthanol, ainsi que 750 μl d'HCl (à 37%). Une fois agité et incubé pendant 30 minutes à température ambiante, on a mesuré l'absorbance à 500 nm. Toutes les étapes ont été effectuées à trois répétitions. Une courbe d'étalonnage a été utilisée pour évaluer la concentration de tanins, avec la catéchine comme référence. Les résultats sont exprimés en mg équivalent de catéchine par gramme d'extrait sec.

II.3.6. Dosage des tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables ont été identifiés en suivant le protocole de **Mole et al., (1987)**. On a ajouté l'extrait (1 ml) à 3,5 ml de solution de FeCl_3 (0,01 M dans 1 mM d'acide chlorhydrique), puis on a incubé pendant 5 minutes, puis on a ajouté une lecture à 660 nm. Selon Mole et Waterman (1987), une courbe d'étalonnage a été réalisée en utilisant différentes concentrations d'acide tannique, et la quantité de tanins hydrolysables dans l'extrait sec a été exprimée en milligrammes d'équivalent d'acide tannique par gramme de l'extrait sec (mg EAT/g S).

II.3.7. Dosage des anthocyanes

La mesure de la concentration en anthocyanes (At) a été réalisée en utilisant la méthode du pH différentiel, en se basant sur le protocole de **Giusti et Wrolstad**. Deux échantillons (600 μL chacun) de l'extrait brut de chaque plante ont été recueillis dans deux tubes à essai distincts (tube 1 et tube 2). Un tampon de potassium chlorure de potassium (KCl 0,025 M, pH 1,0) a ensuite été ajouté au tube 1, tandis qu'un tampon d'acétate de sodium (0,4 M CH_3COONa , pH 4,5) a été ajouté au tube 2. Les échantillons ont été combinés et mis en incubation pendant 15 minutes à température ambiante. Chaque tube a été évalué en utilisant

la spectrophotométrie à 520 et 700 nm pour mesurer son absorbance.

L'absorbance finale (A) de chaque 'extrait a été calculé selon l'équation :

$$A = (A_{520} - A_{700})_{\text{pH } 1,0} - (A_{520} - A_{700})_{\text{pH } 4,5}$$

La mention pH 1,0 indique l'absorbance du tube 1, et pH 4,5 indique l'absorbance du tube 2.

Teneur en anthocyanes (At) a été calculé comme suit :

$$At (\mu\text{gCRE/mL}) = \frac{A \times MW \times DF}{\epsilon \times L}$$

MW est le poids moléculaire du cyanidine-3-rutinoside (595,2 g/mol),

DF est le facteur de dilution,

ε est l'absorbance molaire de la cyanidine-3- rutinoside (28840 L/cm.mol),

L représente la longueur du trajet (1 cm).

Les résultats ont été exprimés en équivalents cyanidine-3-rutinoside ($\mu\text{g CRE/mL}$)(**Giusti et Wrolstad, 2001**).

II.4. Evaluation de l'activité antioxydante

II.4.1. Activité anti radicalaire

La méthode utilisée pour évaluer l'activité de piégeage du DPPH de l'extrait végétal a été décrite par **Ambarwati et al., (2021)**. On a ajouté un volume de 200 μl de l'extrait à diverses concentrations à 1800 μl de solution méthanolique diluée de DPPH. Un test a été effectué en substituant le méthanol à la solution d'extrait. Toutes les tâches sont effectuées en trois répétitions. L'absorbance de la solution résultante a été évaluée à 515 nm après 30 minutes d'incubation. Le standard de référence a été l'acide ascorbique dans les mêmes conditions.

L'activité de piégeage du radical DPPH de l'extrait est calculée de la manière suivante :

$$\text{Activité scavenger du radical DPPH}(\%) = [(A_c - (A_t - A_b)/A_c)] \times 100\%$$

Où

- ✓ **A_c**: Absorbance du contrôle; c'est l'absorbance du solvant avec seulement le DPPH.
- ✓ **A_t**: Absorbance du test ; c'est l'absorbance de la solution de DPPH contenant l'extrait.
- ✓ **A_b** : Absorbance du blanc ; c'est l'absorbance de la solution de l'extrait sans le DPPH

Les résultats sont exprimés en IC₅₀ qui est la concentration qui induit 50% d'activité scavenger du radical DPPH

II.4.2. Pouvoir réducteur

Le pouvoir de réduction a été calculé en utilisant la méthode recommandée par **Menakh et al., (2020)**. Après une incubation à 50°C pendant 20 minutes, on a mélangé 100µl de l'extrait ou du standard avec 400µl de tampon phosphate et 500µl de $K_3Fe(CN)_6$ (1%). Ensuite, on a ajouté 500µl de TCA à 10 %, puis 400µl de H₂O et 100µl de FeCl₃ (0,1 %). Mesure de l'absorbance à 700 nm. Dans les mêmes conditions, l'acide ascorbique a été employé comme molécule de référence.

II.4.4. Test de phosphate de molybdate

La méthode de phosphomolybdène a été utilisée pour évaluer ce test. Son principe repose sur la transformation de Molybdène Mo (VI) sous la forme d'ions molybdate MoO_4^{2-} en Molybdène Mo (V) sous la forme réduite MoO^{2+} en présence de l'extrait, afin de créer un complexe vert de phosphate/Mo(V) à pH acide (**Prieto et al., 1999**).

Le test du phosphate de molybdate a été utilisé pour évaluer l'activité antioxydante totale, conformément au protocole de **Prieto et al., (1999)**. On a ajouté un volume de réactif de 3 ml (acide sulfurique 0,6 M ; phosphate de sodium 28 mM ; molybdate d'ammonium 4 mM) à 0,3 ml d'extrait, puis on a incubé à 95°C pendant 90 minutes, puis on a effectué une lecture à 695 nm.

L'activité antioxydante totale des extraits a été exprimée en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de poudre sèche (mg EAG/g PS) en se référant à une courbe d'étalonnage

II.5. Activité anti-inflammatoire

II.5.1. Test de piégeage des radicaux du monoxyde d'azote

L'activité anti radicalaire des extraits contre le radical monoxyde d'azote a été mesurée par la réaction de Griess décrite par **Marcocci et al., (1994)**. Brièvement, 50 ml de nitroprussiate de sodium (10 mM) solubilisés dans du PBS (pH 7,4) ont été ajoutés à 50 ml de l'échantillon à différentes concentrations suivie d'une incubation à 25°C pendant 150 minutes. La quantité de NO produite par le nitroprussiate de sodium a été déterminée par le réactif de Griess (a-naphthyl-éthylènediamine 0,1 % et 1 % d'acide sulfanilique dans H₃PO₄ 5 %) est mesurée à 564 nm. Le BHA et l'acide tannique sont utilisés comme standards de références.

Le pourcentage de l'activité à piéger le radical NO Pour chaque extrait et standard est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'activité du NO} = [(A_0 - A) / A_0] \times 100$$

A₀ est l'absorbance de la solution contrôle

A l'absorbance de standard + NO.

II.5.2. Activité anti cyclooxygénase

Le principe de ce test consiste à mesurer la capacité de l'extrait à inhiber la dégradation de l'acide arachidonique par la cyclooxygénase en présence de TMPD comme révélateur caractérisé par une coloration bleue lors de la dégradation d'acide arachidonique. L'activité inhibitrice de la COX-1 par les extraits a été évaluée selon la méthode de **Reddy et al., (2009)**. Le milieu réactionnel composé de 130 µl de tampon Tris-HCl (100 mM), 10 µl d'hème (15 µM dans le DMSO), 10 µl d'enzyme COX-1 (5 UI dans le tampon Tris-HCl) et 20µl d'extrait ont été transférés dans une microplaque à 96 puits. Après, agitation pendant 20 secondes, la microplaque a été incubée à 25°C pendant 10mn. Un volume de 20 µl d'acide arachidonique (2,2 mM dans l'éthanol/DMSO v/v) et 20 µl de TMPD (3 mg/ml dans le DMSO) ont été ajoutés sous agitation vigoureuse pour initier la réaction. Après incubation à 25°C pendant 10 minutes, l'absorbance de chaque puits a été mesurée à 603 nm.

Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition selon l'équation suivante :

$$\% \text{ inhibition} = (A_c - A_s) / A_c \times 100$$

A_c : l'absorbance du contrôle

A_s : l'absorbance d'extrait

II.6. Activité antibactérienne

II.6.1. Pouvoir antibactérien des différents des extraits du fruit de *Crataegus azarolus* et *Crataegus laciniata*

Les tests antibactériens visent à évaluer l'efficacité biologique des fruits des deux plantes face à différents microorganismes tels que les bactéries. Il est donc possible que les extraits actifs justifient l'emploi des plantes dont ils sont issus en médecine traditionnelle. Ils sont extraits et pourraient ouvrir d'autres horizons pour la recherche à partir de cette étude.

II.6.1.1. Principe

La méthode des disques a été utilisée pour évaluer l'activité bactérienne des extraits in vitro (Osato 2009, Liao et al., 2010). Cette méthode repose sur le même principe que les tests d'antibiogramme. Autrement dit, des patches contenant un extrait de plante sont appliqués sur des milieux de culture contaminés par des microorganismes. Lorsqu'il y a une activité antimicrobienne, cela se manifestera par des zones autour des disques.

II.6.2. Activité anti bactérienne des extraits

La méthode de diffusion en milieu gélosé a été utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne des extraits, comme mentionné par (Lesueur et al., 2007). Quatre types de bactéries ont été étudiés ; *Escherichia coli* (ATCC 29522), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853); *Staphylococcus aureus* (ATCC 6314) ; *Klebsiella pneumoniae* (souche de diagnostique) .

II.6.2.1. Milieu de culture utilisé

Nous avons utilisé la Gélose Mueller Hinton Agar.

II.6.2.2. Protocole expérimental

Des disques de papier filtre de 6mm de diamètre ont été imbibés de différents extraits des deux plantes étudiées, un contrôle positif (antibiotique) et un contrôle négatif ont été placés à la surface de gélose Mueller Hinton sèche, inoculée au préalable par un millilitre de dilution de la suspension de bactéries. Après 24 heures d'incubation à 37°C, on a évalué la sensibilité en mesurant le diamètre d'inhibition. Selon (Lesueur et al.,2007)

Un test positif (antibiotique) et un test négatif ont été effectués sur la surface de la gélose Mueller Hinton sèche, préalablement inoculée avec un millilitre de dilution de la suspension de bactéries. Après une incubation de 24 heures à 37°C, la sensibilité a été évaluée en mesurant le diamètre d'inhibition. D'après Lesueur et al., (2007), le diamètre de la zone d'inhibition, des différents extraits autour des disques, a été mesuré pour déterminer l'activité antibactérienne.

II.7. Analyse statistique

Tous les résultats expérimentaux ont été exprimés en tant que moyennes de trois répétitions± écart type pour les tests. Le logiciel GraphPad Prism 5 a été utilisé pour calculer

les IC₅₀, comparé les résultats et les différences entre les moyennes à l'aide du test de la plus petite différence significative (LSD), en prenant la signification à $p \leq 0,05$. Les moyennes des traitements ont été comparées par le test t de student, et la différence la moins significative a été calculée pour $\alpha = 0,05$.

III. Résultats et discussion

III.1. Rendements d'extraction

Le taux de rendement correspond à la quantité d'extrait obtenue après l'évaporation du solvant, et il est mesuré en pourcentage (%) par rapport à la masse initiale de la plante récoltée. La recherche que nous menons se focalise sur l'emploi d'un solvant unique afin d'extraire les composés bioactifs à partir des fruits des plantes de *Crataegus azarolus* et *crataegus laciniata*.

Le tableau IV présente les taux d'extraction des deux plantes

Tableau IV : Rendement des extraits obtenues à partir des fruits de *crataegus azarolus* et *crataegus laciniata*.

Matériel végétale	<i>C.azarolus</i>	<i>C.laciniata</i>
Rendement (%)	47,79 ± 1,04 %	40,98± 1,01%

D'après les résultats présentés dans le Tableau IV, le rendement de l'extrait méthanolique des fruits de *C.azarolus* est estimé à 47,79 ± 1,04 %. Ces résultats sont supérieurs à celle obtenue dans l'extrait de *C.laciniata* à 40,98± 1,01%. La différence de taux de rendement d'extraction observée dans l'extrait de *Crataegus azarolus* pourrait être due à sa richesse en composés bioactifs comparant à l'extrait de *Crataegus laciniata*.

Les résultats obtenus dans l'extrait méthanolique de *C.azarolus* sont supérieurs à ceux obtenus par **Balaky et al., (2021)** sur les différentes parties de *C.azarolus* récoltées dans la montagne de Hasanbag qui égale à 35,64% .

III.2.2. Teneur en phénols totaux

La quantité totale de polyphénols a été mesurée par spectrophotométrie à l'aide du réactif de Folin-Ciocalteu. Dans les mêmes conditions que l'échantillon, nous avons effectué des analyses quantitatives des polyphénols totaux en utilisant une courbe d'étalonnage linéaire ($y = 0,008x + 0,039$) avec des concentrations précises d'acide gallique (Figure 08, Annexe 1) comme standard de référence. On exprime les résultats en milligrammes d'acide gallique équivalents par gramme de matière sèche (mg EAG/ g MS).

La figure 08 présente les résultats du dosage des polyphénols totaux dans l'extrait des fruits de *C.azarolus* et les feuilles et les fruits de *C. laciniata*.

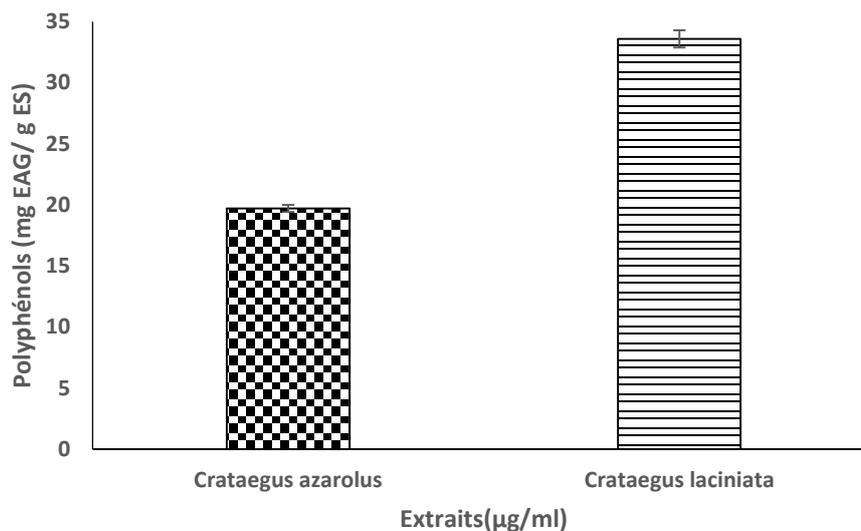


Figure 08. Teneurs en polyphénols dans les extraits méthanolique des fruits de *C.azarolus* et de *C.laciniata*.

D'après les résultats obtenus (Figure08), le taux total de phénol dans les extraits de fruits de *C. laciniata* est d'ordre $33,60 \pm 0,70$ mg EAG/g ES. Suit de l'extrait de *C. azarolus* à $19,71 \pm 0,29$ mg EAG/ g ES. Donc on peut déduire que l'extrait de *C. laciniata* est plus riche par rapport à *C. azarolus* cette différence est très hautement significative à $p < 0,0001$.

Les résultats obtenus concernant la teneur en polyphénols de l'extrait de *C.laciniata* sont plus élevés que ceux observés par les travaux de **Zahrae Radi et al., (2023)**, qui ont observé un taux de phénols de $0,95 \pm 0,21$ EAG/mg dans les extraits aqueux des fruits de *C.laciniata*, en utilisant le même solvant.

En ce qui concerne l'extrait méthanolique de *C.azarolus*, il est plus riche en polyphénols par rapport aux résultats rapportés par **Balaky et al. (2021)**, qui ont constaté des quantités de polyphénols plus faibles dans les extraits des différentes parties de la plante (graine, vapeur, feuille) de *C.azarolus*, allant respectivement de $0,98 \pm 0,005$ à $1,92 \pm 0,0051$ mg GAE/g.

III.2.3. Teneur en flavonoïdes

La méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) a été utilisée pour analyser quantitativement les flavonoïdes présents dans les extraits de fruit de *C.azarolus* et de *C.laciniata*. Les données sont représentées en mg de rutine équivalent par gramme de matière sèche mg E rutine /g ES en utilisant l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage de la rutine (Figure09, annexe2) ($y = 0,0009x + 0,0188$).

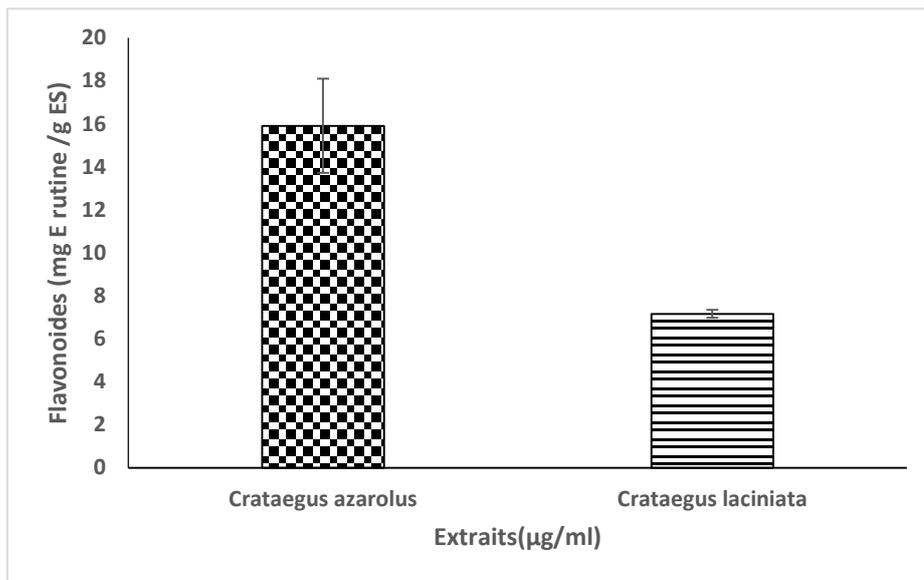


Figure 09. Teneurs en flavonoïdes dans les extraits méthanolique des fruits de *C.azarolus* et de *C.laciniata*.

Selon nos résultats (figure09), on observe un taux de flavonoïdes de $15,91 \pm 2,19$ mg E rutine/g ES dans les extraits méthanoliques des fruits de *C. azarolus*, tandis que celui de l'extrait de *C. laciniata* est de $7,16 \pm 0,19$ mg E rutine/g ES.

Ainsi, la différence est significative à $p < 0,001$. Cela signifie que *C.azarolus* présente un taux de flavonoïdes plus élevé que *C.laciniata*.

Les résultats de l'extrait de *C.azarolus* sont inférieurs à ceux obtenus par **sammari et al. (2024)** lors de l'extraction de décoction de baies d'*azarolus*, qui étaient d'environ $21,89 \pm 3,35$ (mg QE/g MS) après avoir utilisé une autre méthode d'extraction. Les résultats des études menées par **Radi et ses collègues (2023)** sur les extraits aqueux de *C.laciniata*, qui étaient estimés à $0,19 \pm 0,02$ EQ/g, sont cependant inférieurs à ceux de l'extrait de *C.laciniata* de cette étude.

III.2.4. Teneur en Tanins condensés

Les tanins condensés dans les extraits de fruit de *C.azarolus* et de *C.laciniata* ont été évalués de manière quantitative en utilisant le protocole de **Kaouamé et al., (2021)** avec quelques modifications. Une gamme de concentrations de la catéchine a été utilisée pour obtenir une courbe d'étalonnage, et les résultats de dosage sont exprimés en milligrammes d'équivalent de catéchine par gramme de poudre sec (mg EC/g PS) en se basant sur une courbe d'étalonnage (figure10, Annexe 3) ($y = 0,0026x - 0,0385$).

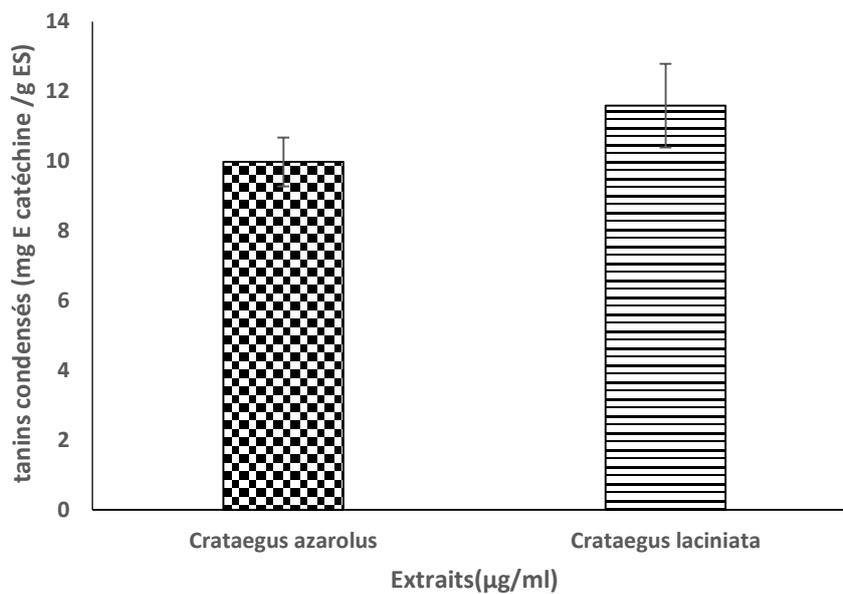


Figure 10. Teneurs en tanins condensés dans les extraits méthanolique des fruits de *C.azarolus* et de *C.laciniata*.

D'après nos résultats (figure10), le taux de tanins condensés dans les extraits méthanoliques des fruits de *C.laciniata* est estimé à $11,59 \pm 1,20$ mg E catéchine /g ES, tandis que l'extrait de *C.azarolus* a un taux d'environ $9,98 \pm 0,70$ mg E catéchine /g ES. Cette disparité n'est pas significative à une valeur de $p < 0,05$, ce qui signifie que les deux plantes ont des taux de tanins condensés similaires. Les différences dans la quantité de tanins condensés pourraient avoir des répercussions importantes sur l'activité biologique.

Les résultats obtenus par **sammari et al. (2024)** confirment la richesse de l'extrait méthanolique de *C.azarolus*, où l'extrait de décoction de baies d'azarolus contenait environ $6,09 \pm 0,62$ mg de catéchine E/g MS.

L'extrait de *C.laciniata* présente des résultats supérieurs à ceux de **Zahrae Radi et al., (2023)** qui ont obtenu des valeurs de $2,6 \pm 0,4$ CE/g d'extrait.

III.2.5. Teneur en Tanins hydrolysables

Le protocole de **Mole et al., (1987)** a été utilisé pour effectuer une analyse quantitative des tanins hydrolysables dans les extraits de fruit de *C.azarolus* et de *C.laciniata*. En utilisant différentes concentrations d'acide tannique, une courbe d'étalonnage a été créée et la quantité de tanins hydrolysables dans l'extrait sec a été exprimée en milligrammes d'équivalent d'acide

tannique par gramme de l'extrait sec (mg EAT/g S) ($y = 0,0012x - 0,0268$).

Les résultats sont présentés dans le tableau V

Tableau V : Teneurs en tanins hydrolysables dans les extraits méthanolique des fruits de *C.azarolus* et de *C.laciniata*.

Dosage /Extrait	Teneurs en tanins hydrolysables
<i>C.azarolus</i>	7,06 ± 0,096 mg E acide tannique /g ES
<i>C.laciniata</i>	-

Selon les données du tableau V, l'extrait méthanolique de *C.azarolus* contient une quantité de tanins hydrolysables de 7,06 ± 0,096 mg E d'acide tannique par g ES. Par contre, on n'a trouvé aucun tanin hydrolysable dans l'extrait méthanolique de *C.laciniata*. Plusieurs facteurs pourraient expliquer l'absence des tanins hydrolysables dans *C.laciniata*. Il se peut que cette espèce ne produise pas naturellement ces composés, ou que leur concentration soit inférieure au seuil de détection de la méthode d'analyse utilisée, ou que les tanins hydrolysables aient été dégradés lors de l'extraction, même si l'utilisation du méthanol comme solvant est généralement considérée comme efficace pour conserver ces composés.

D'après nos résultats, les quantités en tanins hydrolysables dans les extraits méthanoliques des fruits de *C.azarolus* sont estimées à 7,06 ± 0,096 mg E acide tannique /g ES. Ces teneurs sont supérieures à celles obtenues par Yahyaoui et al., (2019) qui ont fait une étude sur l'extrait éthanolique de *C.azarolus* collectés dans trois localités différents (Jdidi, Neber, Thibar) qui ont obtenu des teneurs de (2,29 ± 0,24 ; 2,29 ± 0,15 ; 0,89 ± 0,03 mg EAE g⁻¹DW). Cette différence peut être due à plusieurs facteurs, tels que la méthode d'extraction utilisée, le réactif utilisé dans le protocole du dosage des tanins hydrolysables.

III.2.6.Teneur en anthocyanes

Les extraits de fruit de *C.azarolus* et de *C.laciniata* ont été analysés de manière quantitative pour les tanins anthocyanes, en utilisant la méthode du pH différentiel, conformément au protocole de **Giusti et al.,1999** On a exprimé les résultats en équivalents de cyanidine-3-rutinoside (µg CRE/ml). Les résultats sont présentés dans le tableau VI

Tableau VI : Teneurs en anthocyanes dans les extraits méthanolique des fruits de *C.azarolus* et de *C.laciniata*.

Dosage/Extrait	Teneurs en anthocyanes
<i>C.azarolus</i>	340 ± 0,0008 µg CRE/g ES
<i>C.laciniata</i>	-

Les résultats du tableau VI montrent une différence significative entre la teneur en anthocyanes et les extraits méthanoliques de *C.azarolus* et *C.laciniata*. L'extrait de *C.azarolus* présente une concentration d'anthocyanes de 340 ± 0,0008 µg CRE/g ES, tandis qu'aucune quantité d'anthocyane n'a été détecté dans l'extrait de *C.laciniata*. Ces résultats suggèrent que *C.azarolus* pourrait être une source potentielle d'anthocyanes, tandis que *C.laciniata* ne semble pas en contenir.

D'après nos résultats, les quantités en anthocyanes dans les extraits méthanoliques des fruits de *C.azarolus* sont estimées à 340 ± 0,0008 µg CRE/g ES. Ces teneurs sont inférieurs à celles obtenues par **Turnalar Ülger et al., (2023)** qui ont fait une étude sur des différentes espèces de crataegus et, ils ont estimé des teneurs à (6,47 ± 0,45 ; 2,02 ± 2,02 ; 0,24 ± 0,24 ; 15,45 ± 15,45) mg CRE/g dans les fruits de *C. turcicus*, *C. monogyna*, *C. orientalis*, *C. pentagyna*.

III.3. Evaluation de l'activité antioxydante

La capacité d'un composé à résister à l'oxydation est connue sous le nom d'activité antioxydante. Puisque les processus d'oxydation sont complexes, il n'y a pas de méthode universelle pour évaluer l'activité antioxydante. Les réponses des tests différents et complémentaires sont généralement combinées afin d'obtenir une indication sur la capacité antioxydante de l'échantillon à tester (**De Gaulejac et al., 1999 ; Hua et al., 2008 ; Tabart et al., 2009**).

Les extraits de *Crataegus azarolus* et *Crataegus laciniata* ont été étudiés pour leurs propriétés antioxydantes en utilisant différentes techniques basées sur la capacité des composés à capter des radicaux libres synthétiques.

III.3.1. Activité anti radicalaire

L'utilisation de l'activité anti-DPPH est couramment employée afin d'étudier la capacité des composés à agir comme piègeurs de radicaux ou donneurs d'hydrogène et à évaluer leur activité antioxydante (Gülçin et al., 2003 ; Djeridane et al., 2006). La représentation graphique illustre la comparaison entre l'activité anti radicalaire des deux extraits de *Crataegus azarolus* et *Crataegus laciniata*. Les résultats sont présentés dans la figure 11

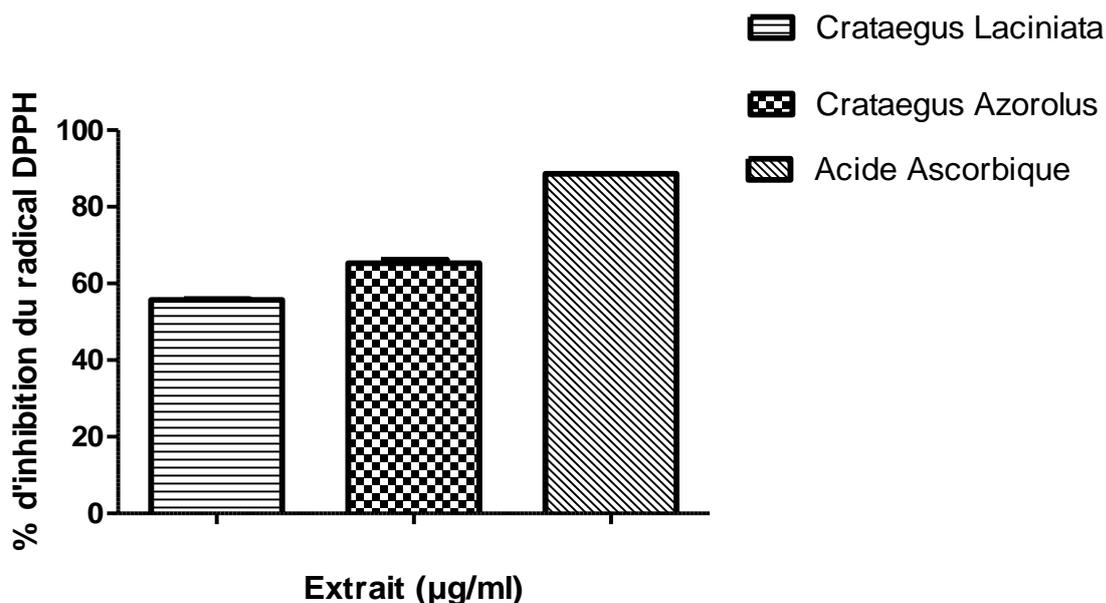


Figure 11 : Evaluation de l'activité anti radicalaire des deux extraits de *Crataegus azarolus* et *Crataegus laciniata*.

L'étude de l'activité antiradicalaire (figure 11) révèle que l'acide ascorbique est le plus efficace pour neutraliser le radical libre DPPH, avec un taux d'inhibition de $88,61 \pm 0,84\%$. Il y a ensuite un potentiel d'inhibition plus élevé dans l'extrait de *Crataegus azarolus* avec $65,28 \pm 10,28\%$, puis dans l'extrait de *Crataegus laciniata* avec environ $55,74 \pm 0,27\%$. La différence présente une signification extrêmement importante à $p < 0,0001$. Il s'agit de dire que l'acide ascorbique présente le pouvoir réducteur le plus élevé et un potentiel plus élevé dans l'extrait de *C. azarolus*. Les variations de la capacité antioxydante des deux extraits par rapport à celle de la vitamine C pourraient être principalement attribuées à la présence de certaines molécules potentiellement actives disponibles.

Les tests DPPH présentent une variation du potentiel anti radicalaire en fonction de la quantité et de la qualité des composés phénoliques présents dans chaque extrait.

D'après les travaux de **Razali et al., (2008)**, les plantes qui contiennent des niveaux élevés de composés phénoliques ont démontré un fort potentiel antioxydant. Les études de **Zbynek et ses collègues (2008)** sur l'activité antioxydante du fruit de *Crataegus pinnatifida* au DPPH ont révélé une activité antioxydante élevée de ce fruit, confirmant ainsi que le genre de *Crataegus* possède une activité antioxydante exceptionnelle.

III.3.2. Mesure du pouvoir réducteur

On peut définir le pouvoir réducteur d'une substance en fonction de sa capacité à transmettre un électron ou à donner un atome hiérarchique. Dans cette étude, on a évalué le potentiel réducteur en transformant le Fe^{3+} en Fe^{2+} en fournissant un électron. La capacité réductrice d'un composé est considérée par de nombreux auteurs comme un indicateur important de son potentiel antioxydant (**Gülçin et al., 2002 ; Ozsoy et al., 2008**). La représentation graphique illustre la comparaison entre le pouvoir réducteur des deux extraits et de la molécule base.

Les résultats sont présents dans la figure 12

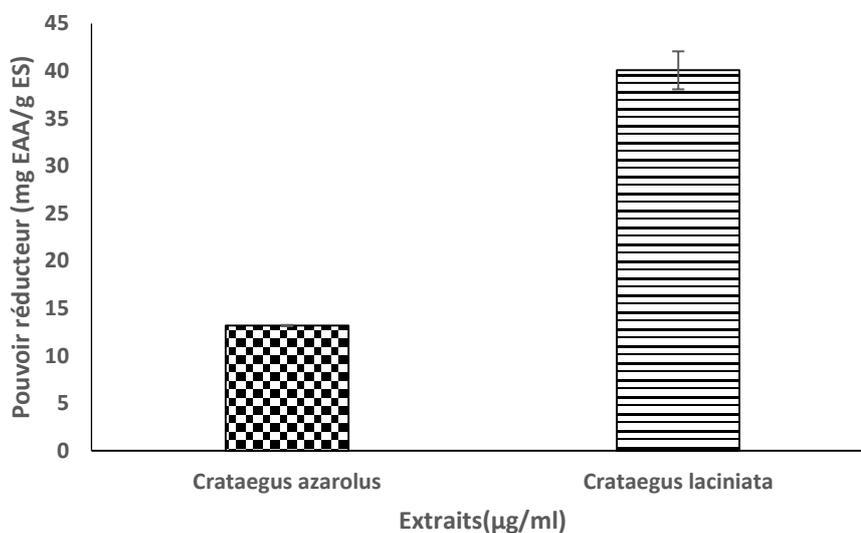


Figure 12. Pouvoir réducteur les extraits de *Crataegus azarolus* et *Crataegus laciniata* et de molécules de référence.

D'après la figure 12, Le meilleur pouvoir réducteur a été obtenus par l'extrait de *Crataegus laciniata* à $40,08 \pm 2,00$ mg EAA/g d'extrait suivit de l'extrait de *Crataegus azarolus* $13,19 \pm 0,06$ mg EAA/g d'extrait. La différence est très hautement significative à $p < 0,0001$ C'est t'a dire que *C.laciniata* possède le meilleur pouvoir réducteur, Ces différences

d'activité pourraient être liées à la présence de plus de polyphénols à potentiel réducteur et antioxydant dans l'extrait de *C.laciniata* que dans l'extrait de *C.azarolus*.

Selon **Yen et al., (1993)**, ils ont associé l'activité antioxydante à l'effet réducteur des extraits. Parallèlement, **Siddhurajub et al., (2007)** ont montré que les plantes riches en polyphénols totaux et en flavonoïdes ont exhibé un grand pouvoir réducteur.

III.3.3. Test de phosphate de molybdate

La méthode de phosphomolybdène est utilisée pour évaluer ce test. Son principe repose sur la transformation de Molybdène Mo (VI) sous la forme d'ions molybdate MoO_4^{2-} en Molybdène Mo (V) sous la forme réduite MoO^{2+} , en présence de l'extrait, afin de créer un complexe vert de phosphate/Mo(V) à pH acide (**Prieto et al., 1999**).

Les résultats sont présents dans la figure 13

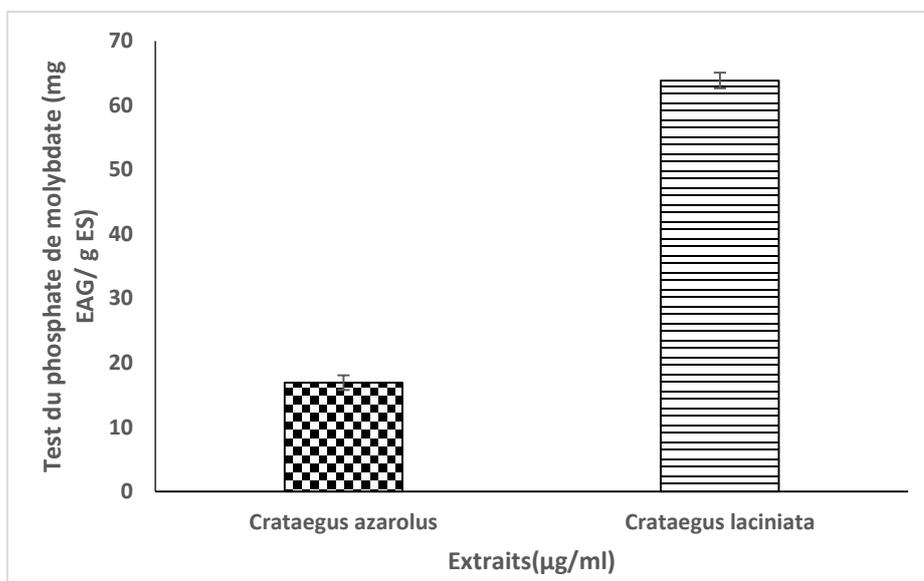


Figure 13. Test de phosphate de molybdate sur les deux extraits *Crataegus azarolus* et *Crataegus laciniata*.

La meilleure valeur a été obtenue avec l'extrait de *C.laciniata*, (figure13) avec $63,86 \pm 1,20$ mg EAA/g, suivie de l'extrait de *Crataegus azarolus* avec $16,93 \pm 1,14$ mg EAG/g ES. La différence est extrêmement significative à une valeur $p < 0,0001$. Cela signifie que *C.laciniata* a le pouvoir antioxydant le plus élevé. Ces différences d'activité pourraient être attribuées à la présence de plus de polyphénols à potentiel antioxydant dans l'extrait de *C.laciniata*.

D'après les travaux de **Razali et ses collègues (2008)**, les plantes qui contiennent des niveaux élevés de composés phénoliques ont démontré un fort potentiel antioxydant.

III.4. Activité anti-inflammatoire

L'inflammation est la réponse naturelle de l'organisme face à une agression physique, chimique ou biologique. Elle présente des avantages lorsqu'elle n'est pas pérenne. L'objectif est de supprimer l'agent pathogène et de réparer les dommages aux tissus, mais elle favorise également différentes maladies. Diverses maladies inflammatoires sont causées par les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les espèces réactives de l'azote (ERN). (**Bezek, 1999; Rahman, 2002; Horton, 2003**), c'est pourquoi l'étude de l'activité anti-inflammatoire in vitro a été choisie dans cette étude.

III.4.1. Test anti-monoxyde d'azote (NO)

Selon **Rajamanikandan et al. (2011)**, ce test repose sur la création d'un complexe salicylate hydroxylé qui absorbe à une longueur d'onde de 562 nm. L'absorption est proportionnelle à la quantité de radical hydroxyle présent dans le milieu. Les extraits ont été évalués pour leur capacité à capturer le radical hydroxyle en suivant le protocole de **Rajamanikandan et al., (2011)**.

En plus de l'oxyde nitrique, la cyclooxygénase et la myéloperoxydase représentent des biomarqueurs participant au développement des troubles inflammatoires (**Batista et al., 2018**). Les résultats sont présents dans le tableau VIII

Tableau VII : Activité inhibitrice du monoxyde d'azote par les extraits. *Crataegus azarolus* et *Crataegus laciniata*

Dosage /Extrait	IC ₅₀
<i>C.azarolus</i>	1,802±0,04 mg/ml
<i>C.laciniata</i>	0,35212 ±2,98 mg/ml
BHA	0,025±2,98 mg/ml
Acide tannique	0,0582±2,98 mg/ml

Selon les résultats obtenus dans le tableau VII, il est évident que l'extrait de *C.laciniata* présente une activité inhibitrice médiane (IC_{50}) supérieure à celle de *Crataegus azarolus*, dont les concentrations sont respectivement de $352,12 \pm 2,98 \mu\text{g/ml}$ et $1,802 \pm 0,04 \text{ mg/ml}$. Il est possible que ces différences d'activités soient attribuables à la présence de composés spécifiques qui ont un potentiel anti-inflammatoire dans l'extrait de *C.laciniata* au lieu de l'extrait de *C.azarolus*. Le niveau d'anti-inflammatoire de ces extraits demeure inférieur aux standards utilisés le BHA et l'acide tannique.

Cette capacité des extraits à réduire la génération du radical NO peut être partiellement attribuée à une action piègeur directe du NO (Balakrishnan et al., 2009) ou liée à la présence de composés inhibant ainsi la formation du nitrite (Sumanont et al., 2004).

De plus, il existe plusieurs facteurs qui peuvent expliquer la variation des résultats obtenus, tels que la structure des composants chimiques. D'après l'étude réalisée par Cai et al., (2006), concernant l'impact des diverses substitutions de structure de base sur les systèmes. Les flavonoïdes ont un effet piègeur sur le radical NO. Certains changements structuraux, tels que la glycosylation et la méthylation du groupe hydroxyle des flavonoïdes, ont été observés pour diminuer leurs propriétés antioxydantes.

III.4.2. Activité anti cyclooxygénase

Le principe de ce test consiste à mesurer la capacité de l'extrait à inhiber la dégradation de l'acide arachidonique par la cyclooxygénase en présence de TMPD comme révélateur caractérisé par une coloration bleue lors de la dégradation d'acide arachidonique. L'activité inhibitrice de la COX-1 par les extraits a été évaluée selon la méthode de Reddy et al., (2009).

Les cyclooxygénases (COX) sont des enzymes de la famille des myéloperoxydase qui représente une cible moléculaire de choix pour le traitement de l'inflammation. (Chandrasekharan et Simmons, 2004 ; Gonzalez-Periz et al., 2007). Les résultats sont présents dans le tableau IX.

Tableau VIII : Inhibition de la COX par les deux extraits. *Crataegus azarolus* et *Crataegus laciniata*

Dosage /Extrait	IC ₅₀
<i>C.azarolus</i>	88,60±0,04mg/ml
<i>C.laciniata</i>	7,43±0,04 mg /ml

D'après les résultats (Tableau VIII), on remarque que l'extrait de *C.laciniata* présente une activité inhibitrice médiane (IC₅₀) supérieure à celle de *Crataegus azarolus*, dont les concentrations sont respectivement de 7,43±0,04 et 88,60±0,04 mg/ml. Ces différences d'activité pourraient être liées à la qualité spécifique des composés anti-inflammatoires dans l'extrait de *C.laciniata*.

Des études antérieures ont démontré que certains médicaments anti-inflammatoires peuvent inhiber l'activité de la MPO (Vieira et al., 2011). Par conséquent, la capacité inhibitrice de la MPO par l'extrait de *C.azarolus* montre que ce dernier peut être utilisé dans des formulations à potentiel anti-inflammatoire. Ce qui confirme l'effet anti-inflammatoire des deux plantes.

III.2.5. Activité antibactérienne

Lors de cette étude, nous avons testé l'action des extraits de fruits de *Crataegus azarolus* et *Crataegus laciniata* à différente concentration vis-à-vis de quelques souches bactériennes.

Selon (Moreira et al.,2005), l'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne est proposée.

Le diamètre des zones d'inhibition (D) de la croissance microbienne a été classé de la manière suivante :

- Non sensible (-) : D < 8 mm
- Sensible (+) : 9 < D < 14 mm
- Très sensible (++) : 15 < D < 19 mm
- Extrêmement sensible (+++) : D > 20 mm
- Après 24 heures d'incubation à 37°C, les zones d'inhibition observées autour des disques imbibés des deux plantes et des deux contrôles Positif (Gentamicine) et

Négatif ont été mesurées. Les résultats obtenus sont présentés sur la figure14 et résumés dans le (tableau VIII)

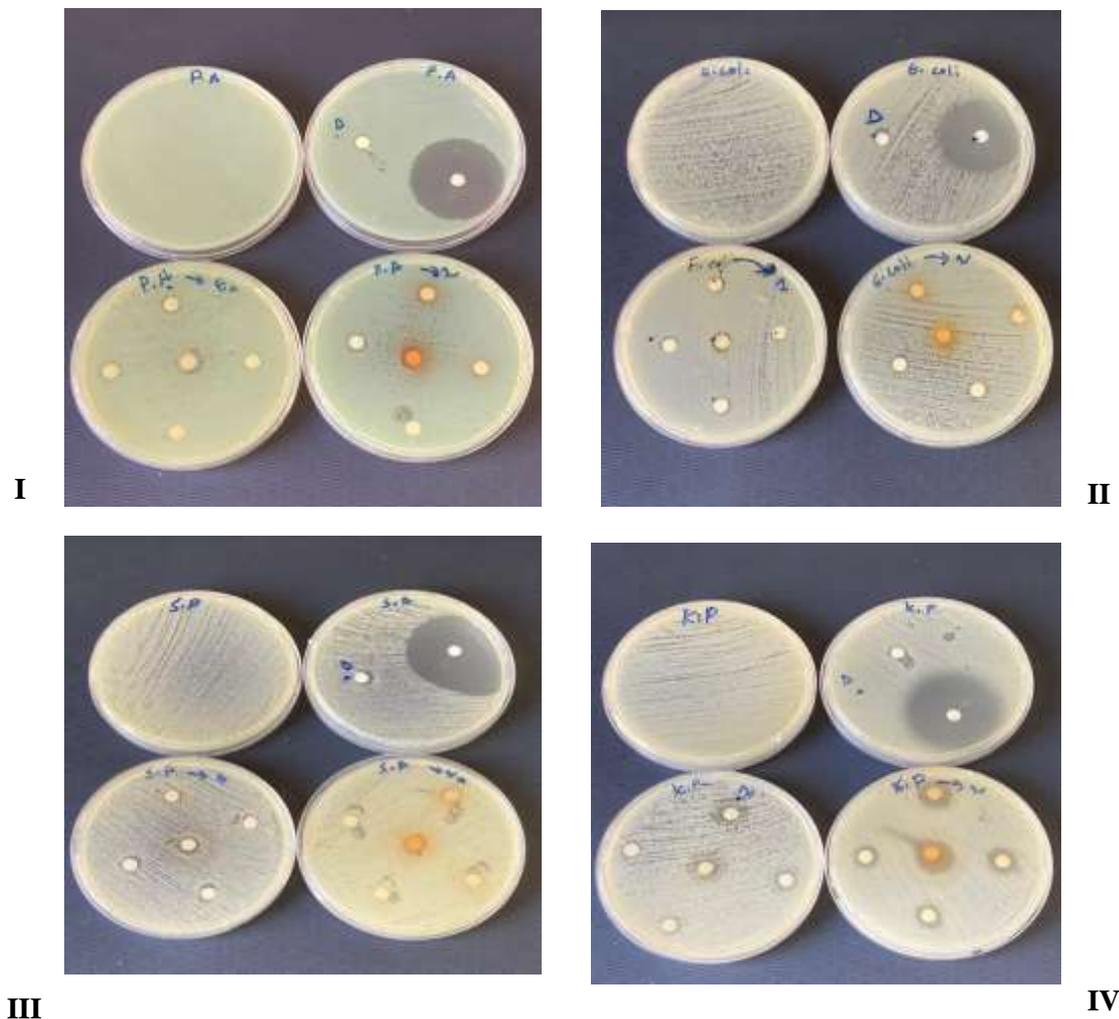


Figure14: Zones d'inhibition des différents extraits aux différentes souches bactériennes testées.

- I. *Pseudomonas aeruginosa*.
- II. *Escherichia coli*.
- III. *Staphylococcus aureus*.
- IV. *Klebsiella pneumoniae*.

Tableau IX: Valeurs des diamètres moyens en (mm) de la zone d'inhibition des extraits de *Crataegus azarolus* et *Crataegus laciniata* aux différentes souches bactériennes testées .

	Extrait 1	Extrait 2	Antibiotique	Contrôle Négatif
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Gram-)	6	9	37	/
<i>Escherichia coli</i> (Gram-)	6	8	36	/
<i>Staphylococcus aureus</i> (Gram+)	9	/	40	
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (Gram-)	9	13	36	/

- Les résultats obtenus ont montrés que l'extrait de *Crataegus laciniata* possède une plus forte activité contre les souches bactériennes à Gram(-) par rapport à l'extrait de *C.azarolus* .

Les résultats présentés montrent que l'extrait de *Crataegus laciniata* présente une meilleure activité contre *Klebsiella pneumoniae* par rapport à l'extrait de *C.azarolus*.

- L'extrait de *Crataegus azarolus* présente une activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus* contrairement à l'extrait de *C.laciniata* cela peut être du a l'absence des tanins hydrolysables dans l'extrait de *C.laciniata*
- **Falleh et al. (2008)** et **Shan et al. (2007)** ont rapporté que plusieurs classes de polyphénols telles que les acides phénoliques, les tanins servent de mécanisme de défense des plantes contre les micro-organismes, les insectes, et les herbivores pathogènes et sont aussi des substances antibactériennes importantes.

Conclusion

L'objectif de ce travail était d'examiner de manière chimique l'espèce *Crataegus azarolus* et *Crataegus laciniata*, ainsi que d'évaluer ses diverses activités : Antioxydante, anti-inflammatoire et antibactérienne. Une extraction des composés phénoliques a été effectuée sur les deux plantes, suivie d'une évaluation du contenu en phénols, flavonoïdes, tannins condensés et hydrolysables, ainsi que des anthocyanes.

Les résultats obtenus montrent que le rendement le plus élevé est enregistré par l'extrait *C.azarolus* à $47,79 \pm 1,04$ % suivi de celui de *C.laciniata* à $40,98 \pm 1,01$ % .

La méthode de Folin-Ciocalteu a été utilisée pour évaluer le contenu en phénols. L'extrait de *C.laciniata* présente une concentration plus élevée en composés phénoliques, avec une valeur de $33,60 \pm 0,70$ mg EAG/g ES, tandis que l'extrait de *C.azarolus* présente une valeur d'environ $19,71 \pm 0,29$ mg EAG/g ES. De même la détermination du contenu en flavonoïdes par la méthode d' $AlCl_3$ nous mène à conclure que les teneurs en flavonoïdes sont plus élevés dans l'extrait de *C.azarolus* à $15,91 \pm 2,19$ mg E rutine /g ES suivit de l'extrait de *C.laciniata* à $7,16 \pm 0,19$ mg E rutine /g ES.

Quant aux teneurs en tannins condensés on constate qu'ils sont plus répandus dans l'extrait de *C.laciniata* a une valeur de $11,59 \pm 1,20$ mg E catéchine /g ES suivit par l'extrait de *C.azarolus* à $9,98 \pm 0,70$ mg E catéchine /g ES.

L'analyse de l'activité antioxydante des extraits de *C.laciniata* et *C.azarolus* a été effectuée en utilisant divers tests : DPPH, pouvoir réducteur, Test de phosphate de molybdate.

Ces recherches nous ont révélé un fort pouvoir antioxydant. Le meilleur pouvoir réducteur a été démontré par l'extrait de *C.laciniata* à $40,08 \pm 2,00$ mg, suivi de l'extrait de *C.azarolus* à $13,19 \pm 0,06$ mg .

Quant à l'analyse de l'activité anti inflammatoire, deux tests ont été réalisés : Test de piégeage des radicaux d'oxyde et le test d'inhibition de la myéloperoxydase par les deux extraits. On a constaté que l'extrait de *C.laciniata* exerce une forte activité inhibitrice d'ordre $352,12 \pm 2,98$ μ g/ml contrairement à l'extrait de *C.azarolus* qui possède une faible activité inhibitrice d'ordre $1,802$ mg/ml Tandis qu'on remarque que l'extrait de *C.azarolus* , exerce une plus forte activité inhibitrice de la myéloperoxydase d'ordre $88,60$ mg/ml par rapport à l'extrait de *C.laciniata* qui est d'ordre $7,43 \pm 0,04$ mg/ml. L'activité antibactérienne des deux extraits a été évaluée en utilisant la méthode de diffusion en milieu gélosé. Les zones d'inhibition varient entre 6 et 13 mm. La zone d'inhibition la plus élevée a été observée dans l'extrait de *C.laciniata*, tandis que la zone la plus basse a été observée dans l'extrait de

C.azarolus. Il convient de souligner à la fin de cette étude que les deux plantes sont une principale source d'antioxydants naturels très riches en composés phénoliques, ce qui explique leur utilisation en médecine traditionnelle pour traiter de nombreuses affections liées au stress oxydatif.

Cette étude mérite d'être poursuivie et approfondie en :

- Évaluant les différentes parties de l'aubépine : tiges, feuilles, fleurs, racines ;
- Poursuivre des études approfondies et supplémentaires *in vivo* et *in vitro* en réalisant des essais sur culture cellulaire ou des modèles animaux.
- Sélectionner ces composés actifs qui sont responsables de ces caractéristiques pharmacologiques et envisager la création de substances thérapeutiques plus performantes.
- Analyser et repérer les composés actifs qui sont responsables de ces propriétés pharmacologiques, et envisager la conception de médicaments plus performants.

Références bibliographiques

- Ambarwati, R., Harja, Y. D., and Thamrin, S. (2020). The role of facilitating conditions and user habits: A case of Indonesian online learning platform. *The Journal of Asian Finance, Economics, and Business*, 7(10), 481-489.
- Ammari, Y. (2019). Investigation on the Chemical Composition and Antioxidant Capacity of Extracts from *Crataegus azarolus* L. : Effect of Growing Location of an Important Tunisian Medicinal Plant. *Chemistry Africa*, 2(3), 361-365.
- Bachiri, L., Labazi, N., Daoudi, A., Ibjibijen, J., Nassiri, L., Mokhtari, F., & Echchegadda, G. (2015). Étude ethnobotanique de quelques lavandes marocaines spontanées. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(3), 1308-1318.
- Balaky, H., Khalid, K., and Galalaey, A. (2021). Estimation of total tannin and total phenolic content in plant (*Crataegus azarolus* L) by orbital shaker technique. *International Journal of Agriculture Environment and Food Sciences*, 5, 1-6.
- Batista, C. M., Alves, A. V. F., Queiroz, L. A., Lima, B. S., Araújo, A. A. S., De Albuquerque Júnior, R. L. C., and Cardoso, J. C. (2018). The photoprotective and anti-inflammatory activity of red propolis extract in rats. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 18, 198-207.
- Bellakhdar, J. (1997). *La pharmacopée marocaine traditionnelle: Médecine arabe ancienne et savoirs populaires*. Editions Ibis Press.
- Belščak-Cvitanović, A., Stojanović, R., Manojlović, V., Komes, D., Cindrić, I. J., Nedović, V., & Bugarski, B. (2011). Encapsulation of polyphenolic antioxidants from medicinal plant extracts in alginate–chitosan system enhanced with ascorbic acid by electrostatic extrusion. *Food Research International*, 44(4), 1094-1101.
- Beta, T., Nam, S., Dexter, J. E., & Sapirstein, H. D. (2005). Phenolic Content and Antioxidant Activity of Pearled Wheat and Roller-Milled Fractions. *Cereal Chemistry*, 82(4), 390-393.
- Bignami, C., Paolocci, M., Scossa, A., & Bertazza, G. (2003). Preliminary evaluation of nutritional and medicinal components of *crataegus azarolus* fruits. *Acta Horticulturae*, 597, 95-100.
- Boizot, N., and Charpentier, J. P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le Cahier des Techniques de l'Inra*, Numéro Spécial, 79-82.
- Boudraa, S., Hambaba, L., Zidani, S., & Boudraa, H. (2010). Composition minérale et vitaminique des fruits de cinq espèces sous exploitées en Algérie : *Celtis australis* L. , *Crataegus azarolus* L. , *Crataegus monogyna* Jacq ., *Elaeagnus angustifolia* L . et *Zizyphus lotus* L. *Fruits*, 65(2), 75-84.

- Brosse, J. (2010). Larousse des arbres. Larousse. <https://www.editions-larousse.fr/livre/le-grand-larousse-des-arbres-9782036024717/>
- Bruneton, J. (1993). Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. *Phytothérapie*, 21(4), 239-246.
- Bruneton, J. (1999). Les flavonoïdes. In Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (3rd ed., pp. 633-668). Tec & Doc.
- Cao, Y. H., and Cao, R. H. (1999). Angiogenesis inhibited by drinking tea. *Nature*, 6726, 381-398.
- Chandrasekharan, N. V., and Simmons, D. L. (2004). The cyclooxygenases. *Genome Biology*, 5, 1-7.
- Chang, C., Yang, M., Wen, H. and Chern, J. (2002). Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. *Journal of Food Drug Analysis*, 10, 178-182.
- Chang, C., Yang, M., Wen, H., & Chern, J. (2002). Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. *Journal of Food Drug Analysis*, 10, 178-182.
- Chemat, F., and Khan, M. K. (2011). Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18, 813-835.
- Chemat, F., Rombaut, N., Meullemiestre, A., Turk, M., Perino, S., Fabiano-Tixier, A.-S., & Abert-Vian, M. (2017). Review of green food processing techniques: Preservation, transformation, and extraction. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 41, 357-377.
- Couplan, F. (2000). *Dictionnaire étymologique de botanique*. Delachaux et Niestlé.
- De Gaulejac, N. S.-C., Glories, Y., and Vivas, N. (1999). Free radical scavenging effect of anthocyanins in red wines. *Food Research International*, 32(5), 347-355.
- Degenring, F. H., Suter, A., Weber, M., and Saller, R. (2003). A randomised double blind placebo controlled clinical trial of a standardised extract of fresh Crataegus berries (Crataegisan®) in the treatment of patients with congestive heart failure NYHA II. *Phytomedicine*, 10(5), 363-369.
- Derbel, S., and Ghedira, K. (2005). Les phytonutriments et leur impact sur la santé. *Phytothérapie et nutrition*, 1, 28-34.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., and Vidal, N. (2006).

Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97(4), 654-660.

Duuml Rdane, Y., Naif, G., Yusuf, Y., Mine, A., and Perihan, C. A. (2011). Effect of different organic fertilizers on yield and fruit quality of indeterminate tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Scientific Research and Essays*, 6 (17), 3623-3628.

Dzhangaliev, A., Salova, T. A., and Turekhanova, P. (2010). The Wild Fruit and Nut Plants of Kazakhstan. *In Hort. Rev.*, 29, 305-371.

Emberger, L. (1938). *Les arbres du Maroc et comment les connaître*. Larousse.

Ercisili S., 2004. Short review of the fruits germplasm resources of Turkey. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 51, 419-435.

Favier, A., Cadet, J., Kalaryanaman, R., Fontecave, M., and Pierre, J. L. (1995). *Analysis of free radicals in biological systems*. Birkhauser.

Fong Harry H. S., and Bouman J. L. (2002). Hawthorn. *Journal of cardiovascular nursing*, 16(4), 1-8.

Fong, H. H., and Bauman, J. L. (2002). Hawthorn. *Journal of Cardiovascular Nursing*, 16(4), 1-8.

Gallego-Calvo, L., Gatica, M. C., Celi, I., Guzmán, J. L., and Zarazaga, L. A. (2015). Body condition score is a critical factor determining the onset of puberty in Blanca Andaluza female goat kids. *Animal Production Science*, 55(9), 1179-1183.

Garjani, A., Nazemiyeh, H., Maleki, N., and Valizadeh, H. (2000). Effects of extracts from flowering tops of *Crataegus meyeri* A. Pojark on ischemic arrhythmias in anesthetized rats. *Phytotherapy Research*, 14, 428-431.

Giusti, M., and Wrolstad, R. (2001). Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. In *Current Protocols in Food Analytical Chemistry* (Vol. 00).

Giusti, M. M., Rodríguez-Saona, L. E., Griffin, D., and Wrolstad, R. E. (1999). Electrospray and tandem mass spectroscopy as tools for anthocyanin characterization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(11), 4657-4664.

Gonzalez-Periz, A., and Claria, J. (2007). New approaches to the modulation of the cyclooxygenase-2 and 5-lipoxygenase pathways. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 7(3), 297-309.

Griendling, K. K., and FitzGerald, G. A. (2003). Oxidative stress and cardiovascular injury: part I: basic mechanisms and in vivo monitoring of ROS. *Circulation*. 108, 1912–1916.

- Gulcin, I., Oktay, M., Kirecci, E., and Kufreviolu, I. (2003). Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food Chemistry*, 83, 371-382.
- Hanasaki, Y., Ogawa, S., and Fukui, S. (1994). The correlation between active oxygens scavenging and antioxidative effects of flavonoids. *Free Radical Biology & Medicine*, 16(6), 845-850.
- Hanus, M., Lafon, J., and Mathieu, M. (2004). Double-blind, randomized, placebo-controlled study to evaluate the efficacy and safety of a fixed combination containing two plant extracts (*Crataegus oxyacantha* and *Eschscholtzia californica*) and magnesium in mild-to-moderate anxiety disorders. *Current Medical Research and Opinion*, 20, 63-71.
- Haslam, E. (1989). Plant polyphenols: Vegetal tannins revisited. In *Plant polyphenols* (pp. 169-221). Cambridge University Press.
- Hemingway, R. W. (1992). Structural variation in proanthocyanidins and their derivatives. In *Plant polyphenols: Synthesis, properties, significance* (p. 230). New York.
- Hennebelle, T., Sahpaz, S., and Bailleul, F. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 1, 3-6.
- Hopkins, W. G. (2003). *Physiologie végétale* (2nd ed.). Boeck et Lancier S A.
- Horton, J. W. (2003). Free radicals and lipid peroxidation mediated injury in burn trauma: The role of antioxidant therapy. *Toxicology*, 189, 75-88.
- Hua, K., Zhang, J., Wakana, S., Jiang, H., Li, X., Reich, D. S., Calabresi, P. A., Pekar, J. J., van Zijl, P. C. M., and Mori, S. (2008). Tract probability maps in stereotaxic spaces: Analyses of white matter anatomy and tract-specific quantification. *Neuroimage*, 39(1), 336-347.
- Ju, L. Y. (2005). *Crataegus oxyacantha* (aubepine) in the use as herbmedicine in France. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, 30, 634-640.
- Kao, E. S., Wang, C. J., Lin, W. G., Yin, Y. F., Wang, C. P., and Tseng, T. H. (2005). Anti-inflammatory potential of flavonoid contents from dried fruit of *Crataegus pinnatifida* in vitro and in vivo. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 430-436.
- Khanbaba, K., and Ree, T. R. (2001). Tannins: Classification and Definition. *Journal of Royal Society of Chemistry*, 18, 641-649.
- Korkina, L. G., and Afanas'ev, I. B. (1997). Antioxidant and chelating properties of flavonoids. *Advances in Pharmacology*, 38, 151-163.
- Kouamé, T. K., Siaka, S., Kassi, A. B. B., and Soro, Y. (2021). Détermination des teneurs en

- polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et tanins de jeunes feuilles non encore ouvertes de *Piliostigma thonningii* (Caesalpiniaceae). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 15(1), 97-105.
- Koyuncu, T., Pinar, Y., and Lüle, F. (2007). Convective Drying Characteristics of Azarole Red (*Crataegus monogyna* Jacq.) and Yellow (*Crataegus aronia* Bosc.) Fruits. *Journal of Food Engineering*, 78, 1471-1475.
- Kumar, M., Nagpal, R., Kumar, R., Hemalatha, R., Verma, V., Kumar, A., Chakraborty, C., Singh, B., Marotta, F., Jain, S., and Yadav, H. (2012). Cholesterol-lowering probiotics as potential biotherapeutics for metabolic diseases. *Journal of Diabetes Research*, 2012(1), 902917.
- Lesueur, D., Serra, D. de Rocca, Bighelli, A., Hoi, T. M., Ban, N. K., Thai, T. H., and Casanova, J. (2007). Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Michelia faveolata* Meryll ex Dandy from Vietnam. *Flavour and Fragrance Journal*, 22(4), 317-321.
- Liao, Y., Knoesen, N. P., Deng, Y., et al. (2010). Body dysmorphic disorder, social anxiety and depressive symptoms in Chinese medical students. *Social Psychiatry and Psychiatric Epidemiology*, 45(10), 963-971.
- Lijuan Z., Jianguo L., Yongkang P., Guohua Ch and Mujumdar A., 2005. Thermal Dehydration Methods for Fruits and Vegetables. *Drying Technology*, 23 (9), 2249-2260.
- Lin, M.-J. J., Hung, S.-W., and Chen, C.-J. (2009). Fostering the determinants of knowledge sharing in professional virtual communities. *Computers in Human Behavior*, 25(4), 929–939.
- Lin, Y., Vermeer, M. A., and Trautwein, E. A. (2009). Triterpenic acids present in hawthorn lower plasma cholesterol by inhibiting intestinal ACAT activity in hamsters. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 1-9.
- Long, S. R., Carey, R. A., Crofoot, K. M., Proteau, P. J., and Filtz, T. M. (2006). Effect of hawthorn (*Crataegus oxycantha*) crude extract and chromatographic fractions on multiple activities in a cultured cardiomyocyte assay. *Phytomedicine*, 13, 643-650.
- Macheix, J.-J., Fleuriet, A., and Jay-Allemand, C. (2005). *Les composés phénoliques des végétaux : Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique*. PPUR presses polytechniques.
- Mahmoudi, S., Khali, M., and Mahmoudi, N. (2013). Étude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Nature & Technologie. B- Sciences Agronomiques et Biologiques*, N° 09, 35-40.
- Marcocci, L., Maguire, J. J., Droylefaix, M. T., and Packer, L. (1994). The nitric oxide

- scavenging properties of Ginkgo biloba extract. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 201(2), 748-755.
- Martin, S., and Andriantsitohaina, R. (2002). Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie*, 51(6), 304-315.
- Mazzocchi, M. (1999). Implementation of the Event Study Methodology to Agricultural Markets: An Evaluation of the BSE Impact on Cattle Prices in Italy. *Cahiers d'Economie et Sociologie Rurales*, 50, 36-53.
- Menakh, M., Mahdi, D., Boutellaa, S., Zellagui, A., Lahouel, M., and Bensouici, C. (2020). In vitro antioxidant activity and protective effect of *Hertia cheirifolia* L. n-butanol extract against liver and heart mitochondrial oxidative stress in rat. *Acta Scientifica Naturalis*, 7(1), 33-45.
- Messaili, B. (1995). *Botanique, systématique des spermaphytes*. OPU.
- Middleton, E. (1998). Effect of plant flavonoids on immune and inflammatory cell function. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 439, 175-182.
- Mole, S., and Waterman, P. G. (1987). A critical analysis of techniques for measuring tannins in ecological studies : I. Techniques for chemically defining tannins. *Oecologia*, 72(1), 137-147.
- Moreira, M. R., Ponce, A. G., Del Valle, C. E., and Roura, S. I. (2005). Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *LWT - Food Science and Technology*, 38(5), 565-570.
- Mustapha, M., and Subramanian, P. (2016). Challenges and Success Factors of Female Entrepreneurs: Evidence from a Developing Country. *International Review of Management and Marketing*, 6, 224-231.
- Nazhand, A., Lucarini, M., Durazzo, A., Zaccardelli, M., Cristarella, S., Souto, S. B., Silva, A. M., Severino, P., Souto, E. B., and Santini, A. (2020). Hawthorn (*Crataegus spp.*): An updated overview on its beneficial properties. *Forests*, 11(564).
- Newman, D. J., and Cragg, G. M. (2016). Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. *Journal of Natural Products*, 79, 629-661.
- Nijveldt, R. J., Van Nood, E., Van Hoorn, D. E., Boelens, P. G., Van Norren, K., and Van Leeuwen, P. A. (2001). Flavonoids : A review of probable mechanisms of action and potential applications. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 74(4), 418-425.

Osato, M. (2009). Comparison of the Etest and the NCCLS-approved agar dilution method to detect metronidazole and clarithromycin resistant *Helicobacter pylori*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 17(1), 39-44.

PlantNet. (n.d.). Identify plants. Retrieved February 19, 2024, from <https://identify.plantnet.org/>

Prieto, P., Pineda, M., and 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*, 337-341.

Prieto, P., Pineda, M., and 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*, 269(2), 337-341.

Prieto, P., Pineda, M., and 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*, 269(2), 337-341.

Quezel, P., and Santa, S. (1962). New flora of Algeria and southern desert regions. <https://www.cabidigitallibrary.org>

Rahman, I. (2002). Oxidative stress and gene transcription in asthma and chronic obstructive pulmonary disease: Antioxidant therapeutic targets. *Current Drug Targets Inflammation & Allergy*, 1, 291–315.

Rahman, I., Biswas, S. K., and Kirkham, P. A. (2006). Regulation of inflammation and redox signaling by dietary polyphenols. *Biochemical Pharmacology*, 72, 1439-1452.

Rajamanikandan, S., Sindhu, T., Durgapriya, D., et al. (2011). Radical scavenging and antioxidant activity of ethanolic extract of *Mollugo nudicaulis* by in vitro assays. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 45, 310–316.

Razali, N., Razab, R., Junit, S. M., and Aziz, A. A. (2008). Radical scavenging and reducing properties of extracts of cashew shoots (*Anacardium occidentale*). *Food Chemistry*, 111(1), 38-44.

Reddy, D. B., Reddy, T. C. M., Jyotsna, G., Sharan, S., Priya, N., Lakshmipathi, V., and Reddanna, P. (2009). Chebulagic acid, a COX-LOX dual inhibitor isolated from the fruits of *Terminalia chebula* Retz., induces apoptosis in COLO-205 cell line. *Journal of Ethnopharmacology*, 124(3), 506-512.

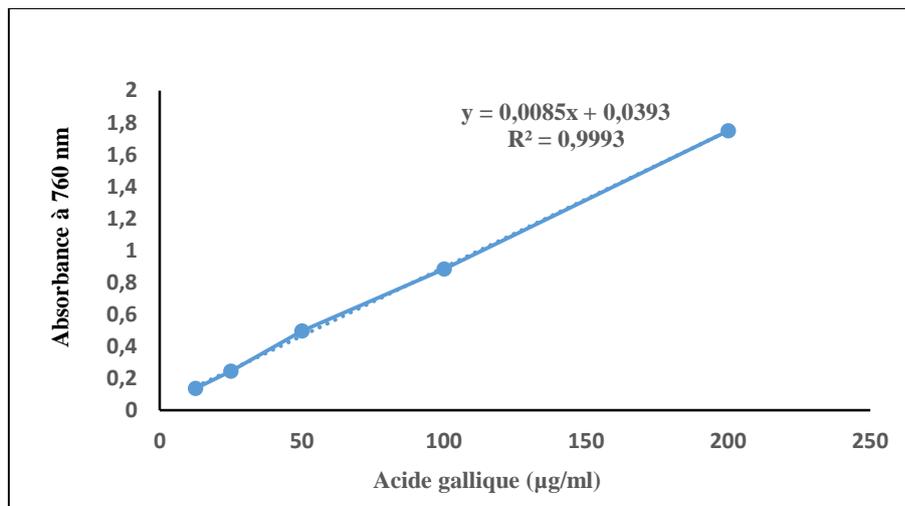
Reddy, L. H., and Couvreur, P. (2009). Squalene: A natural triterpene for use in disease management and therapy. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 61(15), 1412-1426.

- Rigelsky, J. M., and Sweet, B. V. (2002). Hawthorn: Pharmacology and therapeutic uses. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 59, 417-422.
- Rigon, R. B., Fachinetti, N., Severino, P., Durazzo, A., Lucarini, M., Atanasov, A. G., and Souto, E. B. (2019). Quantification of trans-resveratrol-loaded solid lipid nanoparticles by a validated reverse-phase HPLC photodiode array. *Applied Sciences*, 9, 4961.
- Rita Bilia A., Eterno F., Bergorizi M. C., Mazzi G., and Vencieri F. F. (2007). Evaluation of the content and stability of the constituents of mother tinctures and tinctures: the case of *Crataegus oxyacantha* L. and *Hieracium pilosella* L. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical analysis*, 44, 70-78.
- Sammari, H., Jedidi, S., Selmi, H., Jridi, M., Ayari, A., & Sebai, H. (2024). Phytochemical Properties of *Crataegus azarolus* Berries Decoction Extract and Evaluation of its Protective Activity Against Acetic Acid-Induced Ulcerative Colitis in Rats. *Dose-Response*, 22(1), 15593258241226890.
- Siddhuraju, P., and Becker, K. (2007). The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* L.) Walp. seed extracts. *Food Chemistry*, 101, 10-19.
- Sies, H. (1997). Oxidative stress: Oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology*, 82(2), 291-295.
- Singleton, V., and Rossi, J. (1965). Colorimetry of total phenolic compounds with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- Smythies, J. R. (1998). *Every person's guide to antioxidants* (British Cataloging Edition). pp. 89-110.
- Tabart, J., Kevers, C., Pincemail, J., Defraigne, J. O., & Dommes, J. (2009). Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests. *Food Chemistry*, 113, 1226-1233.
- Tadic, V. M., Dobric, S., Markovic, G. M., Sofija, M., and Tanja, S. (2008). Anti-inflammatory, gastroprotective, free-radical scavenging, and antimicrobial activities of hawthorn berries ethanolic extract. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 7700-7709.
- Triki, R., Boughediri, K., Chelaghmia, M. L., and Kechrid, Z. (2022). Effect of *Crataegus azarolus* on blood glucose, lipid profile and antioxidant status in streptozotocin diabetic rats fed zinc deficient diet. Preprint. [In Review].
- Turnalar Ülger, T., Oçkun, M. A., Guzelmeric, E., Sen, N. B., Sipahi, H., Özhan, Y., Kan, Y.,

- and Yesilada, E. (2023). Comprehensive Analysis of the Chemical and Bioactivity Profiles of Endemic *Crataegus turcicus* Dönmez in Comparison with Other *Crataegus* Species. *Molecules*, 28(18), 6520.
- Valko, M., et al. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39, 44-84.
- Valls J., Richard T., Trotin F., Monti J.-P., Mé rillon j.-M., Vitrac X., 2007. Analytical, Nutritional and clinical Methods Carbon -14 biolabeling of flavonols and chlorogenic acids in *Crataegus monogyna* cell suspension cultures. *Food chemistry*, 105, 879-882.
- Verma, M., Brar, S. K., Tyagi, R. D., Valero, J. R., and Surampalli, R. Y. (2007). Starch industry wastewater as a substrate for antagonist *Trichoderma viride* production. *Bioresource Technology*, 98(10), 2154-2162.
- Vieira, T. O., Seifriz, I., Charão, C. C., Oliveira, S. Q. D., and Creczynski-Pasa, T. B. (2011). Antioxidant effects of crude extracts from *Baccharis* species: Inhibition of myeloperoxidase activity, protection against lipid peroxidation, and action as oxidative species scavenger. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 21, 601-607.
- Yahyaoui, A., Arfaoui, M. O., Rigane, G., Hkir, A., Amari, K., Ben Salem, R., & Ammari, Y. (2019). Investigation on the Chemical Composition and Antioxidant Capacity of Extracts from *Crataegus azarolus* L. : Effect of Growing Location of an Important Tunisian Medicinal Plant. *Chemistry Africa*, 2(3), 361-365.
- Wang, S. Y., and Stretch, A. W. (2002). Antioxidant capacity in cranberry is influenced by cultivar and storage temperature. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 969-974.
- Yen, G. C., Duh, P. D., and Tsai, C. L. (1993). Relationship between antioxidant activity and maturity of peanut hulls. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41(1), 67-70.
- Yen, G. C., Duh, P. D., and Tsai, H. L. (2002). Antioxidant and Pro-Oxidant Properties of Ascorbic Acid and Gallic Acid. *Food Chemistry*, 79, 307-313.
- Zahrae Radi, F., Bencheikh, N., Anarghou, H., Bouhrim, M., Alqahtani, A. S., Hawwal, M. F., Noman, O. M., Bnouham, M., and Zair, T. (2023). Quality control, phytochemical profile, and biological activities of *Crataegus monogyna* Jacq. And *Crataegus laciniata* Ucria fruits aqueous extracts. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 31(10), 101753.
- Zbynek, G., Boris, K., Vojtech, A., Jan, S., Tunde, P., Vojtech, R., Ales, H., and Rene, K. (2008). Electrochemical determination of the antioxidant potential of some less common fruit species. *OPEN ACCESS Sensor*, 8, 7564-7570.
- Zimmer, N., and Cordesse, R. (1996). Influence des tannins sur la valeur nutritive des aliments des ruminants. *INRA Edition. ProdAnim*, 9, 167-179.

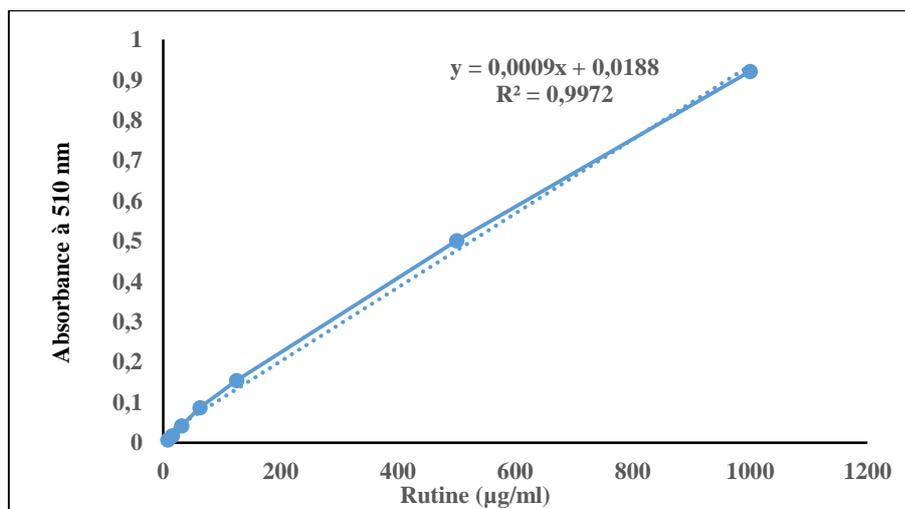
Annexes

Annexe 1



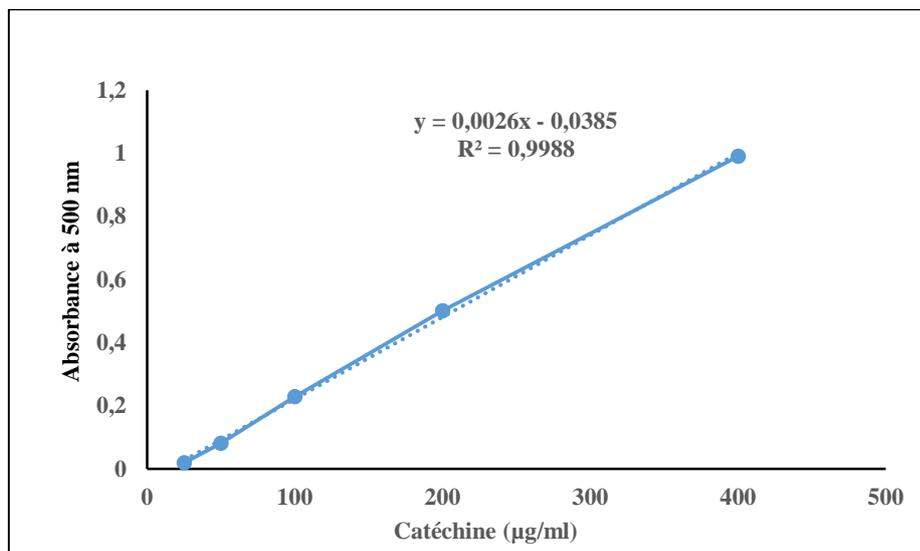
Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Annexe 2



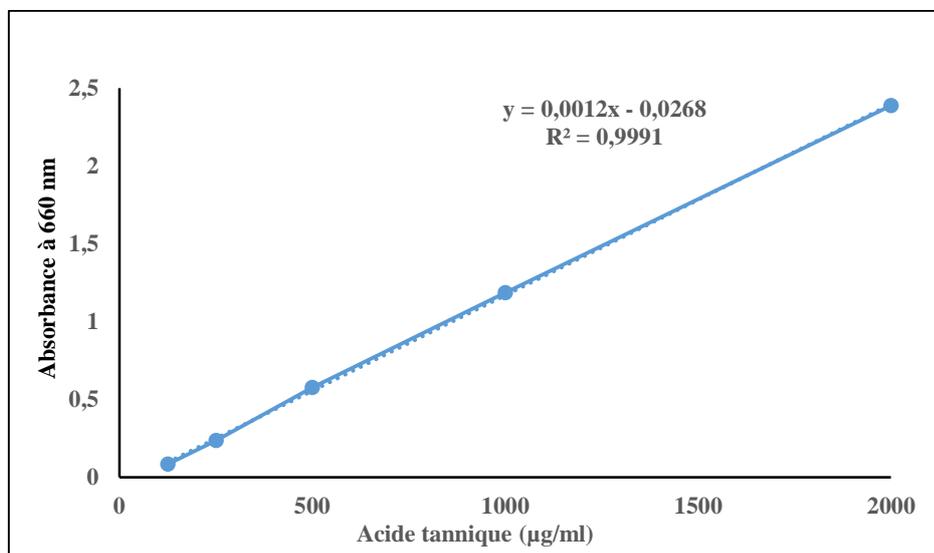
Courbe d'étalonnage de la rutine.

Annexe 3



Courbe d'étalonnage de la catéchine.

Annexe 4



Courbe d'étalonnage de l'acide tannique.

Résumé

Dans cette étude, nous avons cherché à évaluer les propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antibactériennes des extraits de fruits de *Crataegus azarolus* et *Crataegus laciniata*. L'étude chimique a révélé la diversité des deux extraits analysés dans la catégorie des composés phénoliques. Les deux extraits ont démontré une bonne capacité à neutraliser le radical libre DPPH, avec un potentiel d'inhibition plus élevé signalé dans l'extrait de *C. laciniata*, avec un niveau de $218,48 \pm 0,27$ µg/ml, suivi de l'extrait de *C. azarolus*, avec un niveau de $207,12 \pm 10,28$ µg/ml. En ce qui concerne le pouvoir réducteur, l'extrait de *C. laciniata* a obtenu le meilleur résultat avec une concentration de $40,08 \pm 2,00$ mg EAA/g ES. De plus, le test de phosphate de molybdate a révélé que l'extrait de *C. laciniata* a obtenu le meilleur résultat.

Mots clés : *Crataegus azarolus*, *Crataegus laciniata*, extraits naturels, composés phénoliques, activité biologique.

Abstract

This study has been conducted with the major aim of evaluating the antioxidant, anti-inflammatory, and antibacterial properties of *Crataegus azarolus* and *Crataegus laciniata* fruits extracts. The chemical study has revealed the diversity of the two extracts analyzed in the category of phenolic compounds. The extracts, as well, have demonstrated a good capacity in terms of neutralizing the DPPH free radical with a higher inhibition potential signalized in extract *C. laciniata* with a level of $218,48 \pm 0,27$ µg/ml. The latter is followed by extract *C. azarolus* with a level of $207,12 \pm 10,28$ µg/ml. Concerning the power of reduction, extract *C. laciniata* has obtained the best result with a concentration of 40.08 ± 2.00 mg EAA/g ES. Moreover, the molybdate phosphates test has designated that extract *C. laciniata* has effectuated the best result.

Keywords: *Crataegus azarolus*, *Crataegus laciniata*, natural extracts, phenolic compounds, biological activity.

ملخص

أجريت هذه الدراسة بهدف رئيسي هو تقييم الخصائص المضادة للأكسدة والمضادة للالتهابات والمضادة للبكتيريا لمستخلصات ثمار *Crataegus azarolus* و *Crataegus laciniata*. كشفت الدراسة الكيميائية عن تنوع المستخلصين اللذين تم تحليلهما في فئة المركبات الفينولية. كما أظهرت المستخلصات أيضًا قدرة جيدة من حيث تحييد الجذور الحرة DPPH مع إمكانية تثبيط أعلى في مستخلص *C. laciniata* بمستوى $218,48 \pm 0,27$ ميكروغرام/مل. يلي هذا الأخير مستخلص *C. azarolus* بمستوى $207,12 \pm 10,28$ ميكروغرام/مل. فيما يتعلق بقدرة الاختزال، حصل المستخلص *C. laciniata* على أفضل نتيجة بتركيز $40,08 \pm 2,00$ مجم EAA/ج ز/م. وعلاوة على ذلك، حدد اختبار فوسفات الموليبدات أن المستخلص *C. laciniata* قد حقق أفضل نتيجة.

الكلمات الرئيسية : *Crataegus azarolus*، *Crataegus laciniata*، المستخلصات الطبيعية، المركبات الفينولية، النشاط البيولوجي.