



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Biologie et ecologie végétale

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie et physiologie végétales

Option : Métabolisme secondaires et molécules bioactives

Intitulé :

**Contribution à l'étude phytochimique et évaluation de l'activité
Antioxydante de la plante médicinale *Crataegus monogyna*.**

Présenté et soutenu par : Benhamama Loukmane

Le : 24/06/2015

Jury d'évaluation :

Président du jury : KARA youcef

(Pr - UFM Constantine).

Rapporteur : ZAGHAD Nadia

(MAA- UFM Constantine).

Examineurs : BOUZID salha

(MAA- UFM Constantine).

Année universitaire
2014 - 2015

Remerciement

*Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à Mme **Zaghad Nadia**, maître assistante à l'Université des frères Mentouri-Constantine 1, pour avoir acceptée de diriger ce travail. Je la remercie vivement pour son aide scientifique précieux et ses conseils qu'elle a pu me fournir durant la réalisation de ce modeste travail et pour ses encouragements.*

*Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à Monsieur **Kara Youcef**, professeur à l'Université des frères Mentouri – Constantine 1, d'avoir eu la gentillesse de présider le jury. Qu'il trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance et mes remerciements les plus sincères.*

*Je tiens également à remercier Mme **Bouزيد salha**, maître assistante à l'Université des frères Mentouri-Constantine 1, pour avoir acceptée d'examiner ce mémoire. Qu'il trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance.*

Dédicaces

Je dédie ce mémoire à :

Mes très chers Parents « Ali et Sakina »,

Vous qui avez toujours cru en moi et su me redonner confiance lorsque la motivation n'était plus au rendez-vous. Acceptez ce travail comme le Témoignage de mon profond amour et mon attachement indéfectible.

A mes frères « Rimen, Khoudire, Khaled » et mes chères sœurs « Nassima et Feriel ».

A mes neveux « Nadjem eldine zakaria et Nadir ilyes » ;

A ma future épouse.

Et à mes meilleurs amis



Abréviations

MeOH	:Méthanol
EtOH	: Éthanol
Etdp	: Éther de pétrole
Mg	: Magnésium
H₂SO₄	: Acide sulfurique
Hydro-alcoolique	: Eau distillé + Alcool
Hydro-méthanolique	: Eau distillé + Méthanol
AlCl₃	: Chlorure d'aluminium
DPPH	: 2.2 diphenyl 1 picryle hydrazyl
DO	: La densité optique
Le rota-vap	: Evaporateur rotatif
CCM	: Chromatographie sur couche mince
UV	: Ultra violet
R_f	: Rapport frontale
ED ou Et di	: Ether diéthyliques
AE ou Ac	: Acétat d'ethyle
BAW	: Butanol/Acide acétique/eau (Water)



La liste des figures

Figure 01 : Photos de <i>Crataegus monogyna</i> prise de l'université Constantine 01.....	5
Figure 02 : La voie de shikamate	18
Figure 03 : Condensation entre la voie de l'acétate malonate et du shikimate	19
Figure 04 : Effets biologiques des polyphénols	20
Figure 05 : Structure de base des acides hydroxybenzoïques	21
Figure 06 : Structure de base des acides hydroxycinnamiques	22
Figure 07 : Structure de base des tannins	23
Figure 08 : Structure chimique des tannins hydrolysable.....	24
Figure 09 : Structure chimique des tannins condensés	24
Figure 10 : Structure de base des flavonoïdes	27
Figure 11 : Voie de la biosynthèse des flavonoïdes	28
Figure 12 : Structure chimique des flavones	29
Figure 13 : Structure chimique des flavonols	29
Figure 14 : Structure chimique des flavanones	30
Figure 15 : Structure chimique des anthocyanes	31
Figure 16 : Structure chimique des chalcones	31
Figure 17 : Structure chimique des auronnes	31

Figure 18 : Les affrontements dans les ampoules à décanter	42
Figure 19 : Protocole d'extraction des flavonoïdes	43
Figure 20 : Forme réduite et libre du DPPH.....	47
Figure 21 : Résultats de screening phytochimique des flavonoïdes (test de Bath-Smith) type, flavan3,4 diols chez les feuilles et les fleurs de <i>Crataegus monogyna</i>	50
Figure 22 : Résultats de screening phytochimique des flavonoïdes (test de Wilstater) type, flavonols et flavanones chez les feuilles et les fleurs de <i>Crataegus monogyna</i>	50
Figure 23 : Résultats de screening phytochimique des tannins (test de Gélatine 1%) chez les feuilles et les fleurs de <i>Crataegus monogyna</i>	51
Figure 24 : Résultats de screening phytochimique des tannins (test de FeCl ₃) chez les feuilles et les fleurs de <i>Crataegus monogyna</i>	51
Figure 25 : Résultats de screening phytochimique des quinones chez les feuilles et les fleurs de <i>Crataegus monogyna</i>	52
Figure 26 : Résultats de screening phytochimique des anthraquinones chez les feuilles et les fleurs de <i>Crataegus monogyna</i>	52
Figure 27 : Résultats de screening phytochimique des alcaloïdes (test de Mayer) chez les feuilles et les fleurs de <i>Crataegus monogyna</i>	53
Figure 28 : Résultats de screening phytochimique des tannins (test de Dragendroff) chez les feuilles et les fleurs de <i>Crataegus monogyna</i>	53

Figure 29 : Résultats du screening phytochimique des coumarines sur la plaque de Silice...	54
Figure 30 : CCM analytique représentative des flavonoïdes des feuilles de <i>Crataegus monogyna</i>	55
Figure 31 : CCM analytique représentative des flavonoïdes des fleurs de <i>Crataegus monogyna</i>	56
Figure 32 : La courbe d'étalonnage de l'acide gallique	58
Figure 33 : Teneur en polyphénols des extraits hydroalcooliques des feuilles et des fleurs de <i>Crataegus monogyna</i>	59
Figure 34 : La courbe d'étalonnage de la quercétine.....	59
Figure 35 : Teneur en flavonoïdes des extraits hydroalcooliques des feuilles et des fleurs de <i>Crataegus monogyna</i>	60
Figure 36 : Pourcentage de l'activité antioxydante des phases Ether diéthylique (ED) et Acétate d'éthyle (AE) à une concentration de 1 mg/ml des feuilles et des fleurs de <i>Crataegus monogyna</i> vis - à - vis du DPPH.....	61
Figure 37 : Pourcentage de l'activité antioxydante des phases Ether diéthylique (ED) et Acétate d'éthyle (AE) à une concentration de 5 mg/ml des feuilles et des fleurs de <i>Crataegus monogyna</i> vis - à - vis du DPPH.....	62



La liste des tableaux

Tableau 01 : Les glucides du <i>Crataegus monogyna</i>	7
Tableau 02 : Les vitamines du <i>Crataegus monogyna</i>	7
Tableau 03 : Les minéraux du <i>Crataegus monogyna</i> (dans 100 g de matière sèche).....	8
Tableau 04 : les acides phénolique du <i>Crataegus monogyna</i>	9
Tableau 05 : les flavonoïdes du <i>Crataegus monogyna</i>	10
Tableau 06 : Principales classes des composés phénoliques	17
Tableau 07 : Certain dérivé de l'acide hydroxybenzoïque.....	22
Tableau 08 : Certain dérivé de l'acide hydroxycinnamique.....	22
Tableau 09 : Résultats des réactions de caractérisation des principaux métabolites secondaires contenus dans les feuilles et les fleurs de <i>Crataegus monogyna</i>	49
Tableau 10 : comportement chromatographique des phases Acétate d'éthyle, Ether diéthylique, et aqueuse des feuilles et des fleurs de <i>Crataegus monogyna</i> sur plaque de Silic.....	56
Tableau 11 : Pourcentage de l'activité antioxydante des phases Ether diéthylique (ED) et Acétate d'éthyle (AE) des feuilles et des fleurs de <i>Crataegus monogyna</i> vis - à - vis du DPPH.....	61



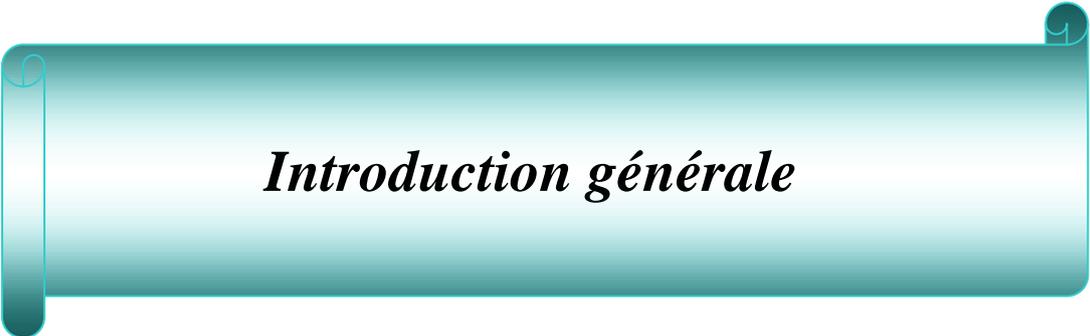
<i>Introduction générale</i>	1
<i>Chapitre 01 : Présentation de Crataegus monogyna</i>	
1/ Introduction	3
2/Ethnobotanique	3
3/ La position systématique	4
3-1/ La classification botanique	4
3-2/ La classification APG III	4
4/ La description morphologique	5
5/ Les indications cliniques	5
6/ Les avantages pharmacologiques de l'usage du <i>Crataegus monogyna</i>	6
7/ Chimie de la plante	7
7-1/ Composition en métabolites primaires	7
7-2/ Composition en métabolites secondaires	8
7-2-1/ Les acides phénoliques et les composés phénoliques	9
7-2-2/ Les flavonoïdes	9
<i>Chapitre 02 : Métabolites secondaires</i>	
1/ Les métabolites secondaires	12
2/ Différentes classes des métabolites secondaires	12
2-1/ Les composés azotés.....	13
2-1-1/ Les alcaloïdes	13
2-1-2/ Propriétés pharmacologiques des alcaloïdes.....	14

2-2/ Les terpenoïdes	14
2-2-1/ Définition	14
2-2-2/ Classification des terpenoïdes	15
2-2-3/ Propriétés pharmacologiques des terpenoïdes	15
2-3/ Les polyphénols	16
2-3-1/ Classification des polyphénols	16
2-3-2/ La biosynthèse	18
2-3-2-1/ Voie de l'acide shikimique	18
2-3-2-2/ Voie de l'acétate/malonate	19
2-3-3/ Effets biologiques des polyphénols	20
2-4/ Les acides phénoliques.....	21
2-4-1/ Définition	21
2-4-2/ Classification des acides phénolique	21
2-4-2-2/ Les acides hydroxycinnamiques	22
2-5/ Les Tannins	23
2-5-1/ Définition des Tannins	23
2-5-2/ Classification des Tannins	23
2-5-2-1/ Les Tannins hydrolysables	23
2-5-2-2/ Les Tannins condensés	24
2-5-3/ Propriétés pharmacologiques des tannins	24
2-6/ Les Coumarines	25
2-6-1/ Définition	25
2-6-2/ Classification des Coumarine	25

2-6-3/ Propriétés pharmacologiques des coumarines	26
2-7/ Les flavonoïdes	27
2-7-1/ Définition	27
2-7-2/ Voie de la biosynthèse des flavonoïdes	27
2-7-3/ Classification des flavonoïdes	29
2-7-3-1/ Flavones et flavonols	29
2-7-3-2/ Flavanones et dihydroflavonols	30
2-7-3-3/ Les anthocyanes	30
2-7-3-4/ Les chalcones	31
2-7-3-5/ Les aurones	31
2-7-4/ Les propriétés biologiques des flavonoïdes	32
2-7-4-1/ Activité anti-oxydante	32
2-7-4-2/ Propriétés pro-oxydantes	32
2-7-4-3/ Inhibition enzymatique	32
2-7-4-4/ Activité anti-tumorale	33
2-7-4-5/ Effets cardiovasculaires	34
2-7-4-6/ Autres propriétés	34
2-7-5/ Rôles des flavonoïdes chez les plantes	35
2-7-6/ Emplois thérapeutiques des flavonoïdes	36
 Chapitre 03 : Matériel et méthodes	
1/ Matériel végétal	37
2/ Le screening phytochimique	37
2-1/ L'extrait végétal hydro-alcolique	37

2-1-1/ Le screening phytochimique des flavonoïdes	37
2-1-1-1/ Test de bate-smith (test de flavan3, 4diols).....	37
2-1-1-2/ Test de Wilstater (test de flavonols et flavanones)	38
2-1-2/ Le screening phytochimique des Tanins	38
2-2/ L'extrait végétal étherique	39
2-2-1/ Le Screening phytochimique des Quinones	39
2-2-2/ Le Screening phytochimique des coumarines	40
2-3/ L'extrait végétal chloroformique	40
2-3-1/ Screening phytochimique des Anthraquinones	40
2-4/ L'extrait végétal de l'acide sulfurique	41
2-4-1/ Screening phytochimique des Alcaloïdes	41
3/ Extraction	42
4/ Chromatographie analytique sur couche mince	44
4-1/ Principe	44
4-2/ Protocole	44
5/ Dosage des composés phénoliques	44
5-1/ Principe	44
5-2/ Protocole	45
5-3/ Expression des résultats	45
6/ Dosage des flavonoïdes	46
6-1/ Protocole du dosage des flavonoïdes par AlCl ₃	46
6-2/ Expression des résultats	46
7/ Activité antioxydante des extraits hydroalcoliques	46

7-1/ Test au DPPH	47
7-2/ Principe	47
Chapitre 04 : Résultats et discussion	
1/ Les résultats du screening phytochimique	49
2/ Extraction	54
3/ La chromatographie sur couch mince (CCM).....	55
4/ Dosage des polyphénoles totaux.....	57
5/ Dosage des flavonoïdes :.....	59
5/ Test de l'activité anti radicalaire	61
Conclusion	63
Références bibliographiques	64
Résumé	
Summary	
ملخص	



Introduction générale

Introduction

La phytochimie ou chimie des végétaux est la science qui étudie la structure, le métabolisme et la fonction ainsi que les méthodes d'analyse, de purification et d'extraction des substances naturelles issues des plantes (**Kalishe., 2014**). Les substances isolées à partir des végétaux ont montré des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et en dermatopharmacie. La pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale et la recherche trouve chez les plantes des molécules actives nouvelles (**Smara., 2014**).

De nos jours, nous comprenons de plus en plus, que les principes actifs des plantes médicinales sont souvent liés aux produits des métabolites secondaires. Leurs propriétés sont actuellement pour un bon nombre reconnu et répertorié, et donc mises à profit, dans le cadre des médecines traditionnelles et également dans la médecine allopathique moderne (**Bourgaud et al., 2001 ; Kar., 2007**).

Aujourd'hui, on estime que les principes actifs provenant des végétaux représentent environ 25% des médicaments prescrits. Soit un total de 120 composés d'origine naturelle provenant de 90 plantes différentes. Sur les milliers d'espèces de plantes à usage thérapeutique répertoriées en Algérie, très peu sont celles qui ont été valorisées sur le plan phytochimique (**Djahra., 2014**).

L'aubépine monogyne (*Crataegus monogyna*), est une plante médicinale couramment utilisée en phytothérapie pour ses propriétés sédatives, vasculoprotectrice et anti-oxydantes (**Bahorun., 1997**). Les substances naturelles issues des feuilles et fleurs ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie, en alimentation et en cosmétologie, parmi ces composés on retrouve dans une grande mesure des métabolites secondaires qui sont surtout illustrés en thérapeutique (**Bahorun., 1997**).

Notre travail vise à démontrer la richesse des feuilles et des fleurs de *Crataegus monogyna* en principes actifs notamment les composés phénoliques et plus précisément les flavonoïdes, et déterminer une activité biologique. Pour cela notre étude englobe deux aspects :

Le premier aspect est d'ordre phytochimique basé principalement sur une étude qualitative comprenant une identification chromatographique et un criblage phytochimique des principaux métabolites secondaires pouvant exister dans *Crataegus monogyna*, une étude quantitative a été également réalisée visant à quantifier les composés polyphénoliques et flavoniques. Le second aspect est consacré à une évaluation de l'activité antioxydante des extraits hydroalcooliques des feuilles et des fleurs de *Crataegus monogyna* vis-à-vis du radicale libre DPPH.



*Chapitre 01 : Présentation de Crataegus
monogyna*

1/ Introduction

Le nom du genre *Crataegus* est dérivé d'un mot grec qui signifie la dureté du bois, Et se trouve essentiellement entre l'altitude 30° et 50° N, *Crataegus* est un grand genre des arbustes de la famille des Rosacées avec environ 250 espèces actuellement reconnues indigènes des régions tempérées du nord (**Kashyap et al., 2012**).

Une des espèces les plus utiles de cette famille est le *Crataegus monogyna*, dérivée du mot grec « *monogynus* » signifiant fleur à un seul pistil .

✚ **Les noms communs** : hawthorn, haw, English hawthorn, harthorne , aubépine

✚ **Le nom scientifique** : *Crataegus monogyna*.

✚ **Le nom arabe** : الزعرور احادي المدقة, الزعرور الشانك

2/ Ethnobotanique :

Crataegus monogyna, est une plante fruitière avec une longue histoire en tant que plante thérapeutique et pharmacologique. elle a été utilisée traditionnellement comme un tonique cardiaque, ses utilisations actuelles comprennent le traitement de l'angine de poitrine, hypertension, arythmie, et l'insuffisance cardiaque congestive (**Miller., 1998**).

Dans la médecine chinoise l'aubépine a été reconnue par ses principes actifs thérapeutiques et son utilisation pour abaisser les taux de lipides sanguins chez l'homme et le rat (**Chen., 1995**). Le *Cratagus monogyna*, a été également utilisé par l'herboriste européenne dans le premier siècle de notre ère (**Ju., 2005**).

L'aubépine a une histoire d'utilisation, a été considéré comme sacré par de nombreuses traditions. Les branches fleuries d'aubépine a marqué le début de l'ancienne fête celtique de Beltane et pour cette raison il a été aussi appelé le mai fleur. Dans la tradition celtique, l'arbre Hawthorn a été entouré par des fées et les esprits élémentaires. Un médecin bien connu, Dr Green, d'Ennis, Comté de Clare, Irlande, atteint une réputation dans le mystère. À sa mort, en 1894, sa fille a révélé les baies de *Crataegus monogyna*. Dans la médecine orientale les fruits sont considérés comme ayant aigre, doux. Un certain nombre d'aubépines en Amérique du Nord ont été utilisés comme médicament par des groupes indigènes . D'autres utilisations de l'aubépine

sont incluses dans le traitement de troubles digestifs, de la dyspnée, des calculs rénaux. Aujourd'hui, l'aubépine est utilisé principalement pour diverses maladies cardiovasculaires mais il doit encore être entré en Inde comme un tonique cardiaque (Kashyap *et al.*, 2012).

3/ La position systématique :

3-1/ La classification botanique :

Selon la classification des plantes à fleurs de Cronquist 1981

Embranchement : Spermaphytes

Classe : Magnoliopsida

Sous/classe : Rosidae

Ordre : Rosales

Famille : Rosacées

Genre : *Crataegus*

Espèce : *Crataegus monogyna*. (Anonyme 1).

3-2/ La classification APG III (2009) :

La classification APG III, est une classification phylogénétique, est considérée comme la troisième version de classification botanique des angiospermes établie par l'Angiosperms Phylogeny Group III. C'est la classification botanique la plus importante aujourd'hui. Cette classification est construite à la base de deux gènes chloroplastiques et un gène nucléaire de ribosome.

Cladus : Angiospermes

Cladus : Dicotyledones Vraies

Cladus : Dicotyledones Vraies Supérieures

Cladus : Rosidae

Cladus : Fabidae

Ordre : Rosales

Famille : Rosacée

Genre : *Crataegus*

Espèce : *Crataegus monogyna*.

Variété → {
 1- Variété : *laciniata*
 2- Variété : *maritima*
 3- Variété : *monogyna* (**Anonyme 2**).

4/ La description morphologique :

Le *Crataegus monogyna* sont des arbustes buissonnants ou de petits arbres en général épineux, leur feuillage est le plus souvent découpé, les fleurs (pentamères, odorantes et printanières) groupées et colorées en blanches, parfois teintées de rose ou de rouge, avec des étamines nombreuses comme souvent chez les rosacées ; les fruits (ou cenelles) sont des drupes rouges, de petite taille, comestibles.



Figure 01 : Photos de *Crataegus monogyna* prise de l'université Constantine 01.

5/ Les indications cliniques :

- ✓ Abaisser la pression artérielle.
- ✓ Accroître l'efficacité de l'action de pompage du cœur.
- ✓ Ralentir le rythme cardiaque.
- ✓ Renforcer le muscle cardiaque.
- ✓ Dilater les artères coronaires.
- ✓ Prévenir les maladies cardiaques, crise cardiaque et d'accident vasculaire cérébral.
- ✓ Soutenir le système immunitaire (**Lakshmi et al., 2012**) .

6/ Les avantages pharmacologiques de l'usage du *Crataegus monogyna* :

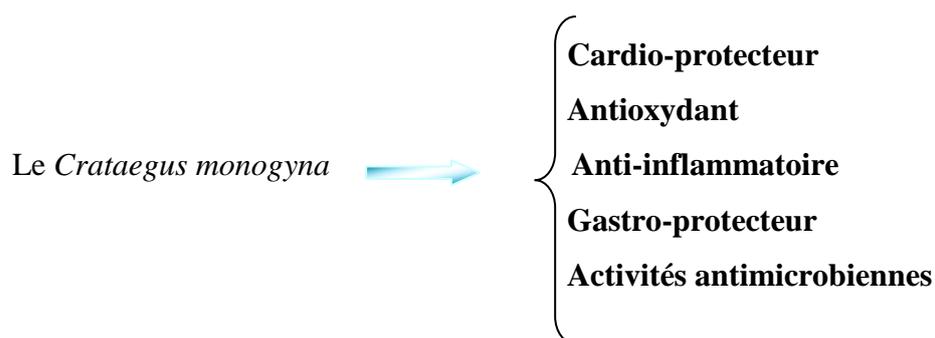
Le *Crataegus monogyna* est une plante couramment utilisée en phytothérapie et inscrite à la pharmacopée française pour ses propriétés sédatives, vasculo-protectrices et antioxydantes (**Bahorun., 1997**). Bien que traditionnellement, les fruits, les fleurs de l'aubépine monogyne fussent employer pour le traitement des troubles cardiaques d'origine nerveuse, les extraits actuels sont presque exclusivement préparés avec les feuilles et les fleurs de l'arbuste (**Degenring et al., 2003**).

Les sommités des fleurs ont une action sédative sur le système nerveux et une action régulatrice sur le système cardio-vasculaire; elles corrigent les troubles du rythme cardiaque; elles sont hypotensives et antispasmodiques au niveau des muscles lisses vasculaires. Ces actions neuro-sédatives, cardio-sédatives, vasodilatatrices et antispasmodiques peuvent être utilisées dans les insomnies, le nervosisme, l'émotivité et le surmenage (**Bouزيد., 2009**).

L'activité antioxydante, anti-inflammatoire, hypotensive des extraits alcooliques de l'aubépine (fruits, fleurs et feuilles) a été prouvée *in vitro* (**Bahorun et al., 1996 ; Fong et Bauman., 2002 ; Maria et al., 2005**). Des études réalisées *in vitro* ont démontré que les extraits à base de procyanidines de l'aubépine aident à réduire le niveau du cholestérol et à diminuer le taux des triglycérides (**Svedstroma et al., 2006**).

Des expériences réalisées *in vivo* par Zhang et ses collaborateurs (2004) ont démontré que l'administration de l'extrait obtenu à partir de la partie charnue des fruits du *Crataegus oxyacantha*. et *Crataegus monogyna* augmente la concentration du α -Tocophérol et inhibe l'oxydation des LDL(Low Density Lipoprotein) humains (**Zhang et al., 2004**).

Les acides phénoliques de l'aubépine ; acide crategique, acide chlorogénique, acide tartrique et l'acide triterpinique augmentent et favorisent l'écoulement du sang. L'acide citrique équilibre les niveaux de l'acidité du corps, et favorise la fonction digestive en augmentant la production de la bile (**Davie., 2000**).



7/ Chimie de la plante :

7-1/ Composition en métabolites primaires :

Tableau 01 : Les glucides du *Crataegus monogyna* (Saadoudi., 2008).

Le nom	Teneur
Sucres solubles	11,45
Sucres réducteurs	7,86
Saccharose	3,59
Cellulose	11,40
Pectines	1,60

Tableau 02 : Les vitamines du *Crataegus monogyna* (Boudraa., 2008).

Le nom	Teneur
Tocopherol	0.09-0.79
Carotenoides	1,37
Vitamine C	0.69-4.06
Thiamine	0,05
pyroxidine	0,012
Biotine	0,031

Tableau 03 : Les minéraux du *Crataegus monogyna* (dans 100 g de matière sèche) (Boudraa., 2008).

Elément minéral	Teneur (mg)
Ca	414,18
Mg	156,52
Na	31,20
P	20,09
k	1694,80
Cu	0,31
Fe	4,09
Mn	1,52
Zn	0,32
Co	0,17
Pb	0,31

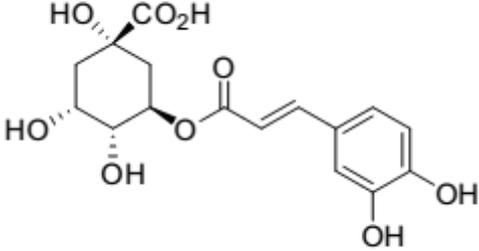
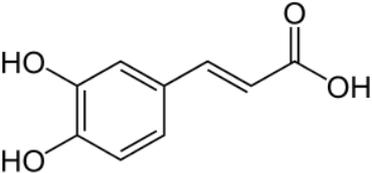
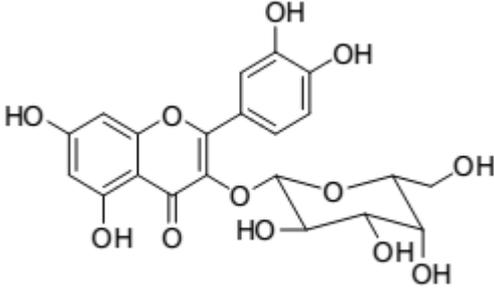
7-2/ Composition en métabolites secondaires :

Le *Crataegus monogyna* ont de nombreux composés de métabolites secondaires (Bouzide., 2009 ; Dinesh *et al.*, 2012) nous avons donc :

- ✚ **Acides phénoliques** : acide chlorogénique et caféïque
- ✚ **Flavonoïdes** : Vitexine, quercétine, vitexine-2-rhamnoside, proanthocyanidine, epicatéchine, apigénine-6,8, di-C-glycoside.
- ✚ **Tanins**
- ✚ **Coumarines.**
- ✚ **Tritepènes et acides triterpéniques**
- ✚ **Huiles essentielles**

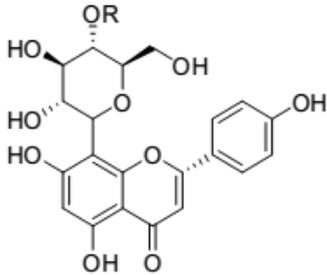
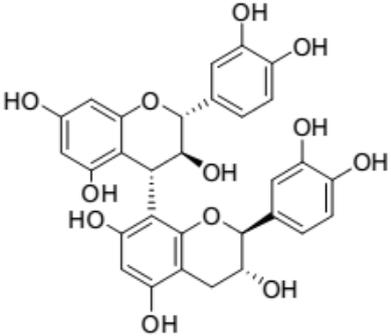
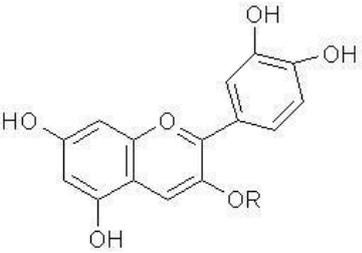
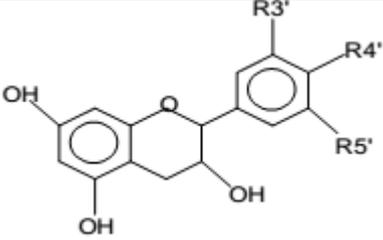
7-2-1/ Les acides phénoliques :

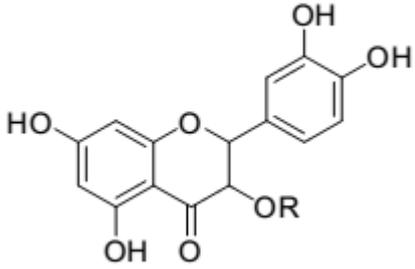
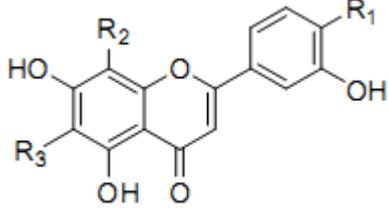
Tableau 04 : Les composés phénoliques du *Crataegus monogyna*. (Dinesh *et al.*, 2012)

Le nom	Molécules	Caractéristiques
Acide chlorogénique		Acide phénolique
Acide caféique		Acide phénolique
Hyperoside		C'est un composé polyphénolique

7-2-2/ Les flavonoïdes :

Tableau 05 : Les flavonoïdes du *Crataegus monogyna* (Dinesh *et al.*, 2012).

Le nom	Molécules	Caractéristiques
<p>Vitexine-2-rhamnoside</p>		<p>Classe : Flavonoïdes</p>
<p>Proanthocyanidine</p>		<p>Classe : Flavonoïdes</p>
<p>Anthocyanine</p>		<p>Classe : Flavonoïdes Sont des glycosides des anthocyanidines</p>
<p>Epicatchine</p>	 <p>R4=R5=OH</p>	<p>Classe : Flavonoïdes Sub classe : Flavones</p>

<p>Quercétine</p>		<p>Classe : Flavonoïdes Sub classe : Flavonols</p>
<p>A pigenin-6,8-di-C-glycosides</p>	 <p>R1= H</p> <p>R2=R3=gly</p>	<p>Classe : Flavonoides Sub-classe: flavones</p>



Chapitre 02 : Métabolites secondaires

1/ Les métabolites secondaires :

Les plantes possèdent des métabolites dits « secondaires » par opposition aux métabolites primaires qui sont des protéines, des glucides et des lipides. Les métabolites secondaires sont classés en plusieurs grands groupes : parmi ceux-ci, les composés phénoliques, les terpènes et stéroïdes et les composés azotés dont les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activité biologique (**Huang et Ferraw., 1991 ; Ali et al., 2001 ; Li et al., 2007**).

Le métabolisme secondaire implique les voies métaboliques primaires spécifiques à certain organisme végétal. Donc les métabolites secondaires sont les molécules que ne participent pas directement au développement des plantes mais plutôt interviennent dans les relations avec les stress biotiques et abiotiques ou améliorent l'efficacité de la reproduction (**Laurent., 2012**).

Les composés de métabolisme secondaire ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse mais résultant de réactions chimiques ultérieures. On les appelle donc des métabolites secondaires. Ces composés ne se trouvent pas dans toutes les plantes (**Benkhadimallah et Kismoun., 2014**).

Les métabolites secondaires se sont surtout illustrés en thérapeutique. La pharmacie utilise encore une forte proportion de médicament d'origine végétale et la recherche trouve chez les plantes des molécules actives nouvelles (**Mohammedi., 2006**).

2/ Différentes classes des métabolites secondaires :

Les métabolites secondaires comportant trois types de composés :

✚ **Les composés azotés :** qui comprennent les alcaloïdes, les glycosides et de l'acide cyanhydrique. Quand les plantes sont abîmées, ils sont synthétisés à partir d'acides aminés, on citera : la nicotine, l'atropine, la codéine, la lupinine.

✚ **Les terpenoïdes** : Sont des composés résultant par l'assemblage d'un nombre entier d'unité pentacarbonée ramifiée; le 2-méthyl- butadiène « isoprène » (**Guignard et al., 1995 ; Harbone, 1998 et Bruneton, 1999**) et selon le nombre d'unité isoprénique qui les constituent, on distingue :

- ✓ Hémiterpènes [C_5H_8].
- ✓ Monoterpènes [$C_{10}H_{16}$].
- ✓ Sesquiterpènes [$C_{15}H_{24}$].
- ✓ Diterpènes [$C_{20}H_{32}$].
- ✓ Sesterpènes [$C_{25}H_{40}$].
- ✓ Triterpènes [$C_{30}H_{48}$].
- ✓ Tétraterpènes [$C_{40}H_{64}$].
- ✓ Polyterpènes [C_5H_8] in (**Bensalah., 2014**).

✚ **Les composés phénoliques ou aromatiques** : qui interviennent dans les interactions plante-plante (allélopathie, inhibition de la germination et de la croissance). Parmi ces composés :

- ✓ Les flavonoïdes.
- ✓ Les anthocyanidines.
- ✓ Les tanins.
- ✓ Les coumarines.
- ✓ Les lignines.
- ✓ Les stilbènes.
- ✓ Les phénylpropanoïdes (**Benkhadimalleh et Kismoun., 2014**).

2-1/ Les composés azotés :

2-1-1/ Les alcaloïdes :

Ce sont des substances d'origine biologique et le plus souvent végétale (il n'en n'existe que des rares représentants dans le règne animal), éventuellement reproductibles par synthèse azotées, de réactions alcalines plus ou moins prononcées et douées à faible dose de propriétés

pharmacodynamiques marquées. Leurs noms se terminent toujours par « ine ». Les alcaloïdes renferment toujours du carbone, de l'hydrogène et de l'azote, et le plus souvent, en plus, de l'oxygène (exceptionnellement quelques alcaloïdes contiennent du soufre).

2-1-2/ Propriétés pharmacologiques des alcaloïdes:

✚ Leurs propriétés sont généralement variées et dépendent de leurs composantes chimiques par exemple :

- ❖ Action sur le système nerveux central comme anti-dépresseur :
 - ✓ Codéine.
 - ✓ Morphine.
- ❖ Action sur système nerveux autonome :
 - ✓ Hordéine.
 - ✓ Éphédrine.
- ❖ Action sur les vaisseaux « hypertenseur » :
 - ✓ Hydrastine.
- ❖ Action sur la circulation sanguine et améliore la circulation cérébrale :
 - ✓ Vincamine.
- ❖ Antipaludique :
 - ✓ Quinine toxique pour l'hématozoaire du paludisme.
- ❖ Action antitumorale :
 - ✓ Vinblastine.
- ❖ Action antibiotique, antiparasitaire, anthelminthique à des doses variées (Chenni ., 2010)

2-2/ Les terpenoïdes :**2-2-1/ Définition :**

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure soit cyclique soit à chaîne ouverte. Leur formule brute est $(C_5H_x)_n$ dont le x est variable en fonction du degré d'insaturation de la molécule et n peut prendre des valeurs de 1 à 8 sauf dans les polyterpènes

qui peut atteindre plus de 100 (le caoutchouc). La molécule de base est l'isoprène de formule C_5H_8 . Le terme terpénoïde désigne un ensemble de substances présentant le squelette des terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone, etc.) (Benayache., 2013).

2-2-2/ Classification des terpenoïdes :

- ✓ Hémiterpènes [C_5H_8].
- ✓ Monoterpènes [$C_{10}H_{16}$].
- ✓ Sesquiterpènes [$C_{15}H_{24}$].
- ✓ Diterpènes [$C_{20}H_{32}$].
- ✓ Sesterpènes [$C_{25}H_{40}$].
- ✓ Triterpènes [$C_{30}H_{48}$].
- ✓ Tétraterpènes [$C_{40}H_{64}$].
- ✓ Polyterpènes [C_5H_8] (Bensalah., 2014).

2-2-3/ Propriétés pharmacologiques des terpenoïdes :

De nombreux terpenoïdes ont la particularité de dégager de fortes odeurs, le menthol et le limonène permettent la fabrication des huiles essentielles, Ils sont utilisés comme antiseptiques et pour traiter les maladies de respiration.

Les Sesquiterpènes [$C_{15}H_{24}$] possédant beaucoup d'activités biologiques comme l'activité antimicrobienne, antitumorale, anti leucémique et ils peuvent être responsable de la l'allergie Les Diterpènes [$C_{20}H_{32}$] sont des Antispasmodiques et antioxiolytiques (Barisevic ., 2001).

2-3/ Les polyphénols :

Les composés phénoliques ou les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des plantes, largement distribués possédant plusieurs groupements phénoliques, avec ou sans autres fonctions et comportant au moins 8000 structures connues différentes (Bahorun, 1997), allant de molécules phénoliques simples de bas poids moléculaire tels que,

les acides phénoliques à des composés hautement polymérisés comme les tannins. Ils font partie intégrante de l'alimentation humaine et animale (**Martin et Andriantsitohaina, 2002**).

L'expression « composés phénoliques » est utilisée pour toutes substances chimiques possédant dans sa structure un noyau aromatique, portant un ou plusieurs groupements hydroxyles (**Bloor., 2001**). Un nombre considérable de ces composés sont formés de deux noyaux benzéniques A et B reliés par un hétérocycle de type pyrane. Ces composés diffèrent les uns des autres par la position des substitutions sur les noyaux A et B, par la nature de l'élément central et par la position, la nature et le nombre de molécules de sucre fixées ainsi que par la nature de la liaison hétérosidique. Les polyphénols sont des produits de la condensation de molécules d'acétyl-coenzyme~A et de phénylalanine. Cette biosynthèse a permis la formation d'une grande diversité de molécules qui sont spécifiques d'une espèce de plante, d'un organe, d'un tissu particulière (**Nkhili., 2009**).

2-3-1/ Classification des polyphénols :

Une classification de ces substances a été proposée par **Harborne** en **1980** (**Tableau 06**) On peut distinguer les différentes classes des polyphénols en se basant d'une part, sur le nombre d'atomes constitutifs et d'autre part, sur la structure de squelette de base. Deux principales classes sont largement répandues :

- Les acides phénoliques (acides hydroxybenzoïques, acides hydroxycinnamiques)
- Les flavonoïdes.
- Les tanins et lignines
- Plus rares, les coumarines, les stilbènes.

Tableau 06 : Principales classes des composés phénoliques a été proposée par Harborne 1980 in (Benkhedimalleh et Kismoun., 2014)

Squelette carboné	Classes	Exemples	Origines
C6	Phénols simples	Catéchol	Nombreuses espèces
C6-C1	Acides Hydroxybenzoïques	p -hydroxybenzoïque	Epices, fraise
C6-C3	Acides Hydroxycinnamiques, Phenylpropenes Coumarines Isocoumarines Chromones	Acide caféique, acide férulique Myristicin, eugénol Scopolétine Myristicine, eugénol Eugénine	Pomme de terre, Pomme, citrus
C6-C4	Naphtoquinones Polyphénols	Juglone, plumbagine	Noix
C6-C1-C6	Xanthones	Mangiferine	Mangue
C6-C2-C6	Stilbènes Anthraquinones	Resvératrol Anthraquinones	Vigne
C6-C3-C6	Flavonoïdes, Isoflavonoïdes	Quercétine, cyanidine, daidzéine	Fruits, légumes, fleurs, soja, pois
(C6-C3) ₂	Lignanes Neolignanes	Pinorésinol Eusiderine	Pin
(C6-C3-C6) ₂	Biflavonoides	Amentoflavone	
(C6-C3) _n	Lignines	Bois, fruits à	Noyaux
(C6-C3-C6) _n	Tanins condensés		Raisins, kaki

2-3-2/ La biosynthèse :

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires et sont synthétisés, par des plantes au cours de leur développement normal, en réponse à des infections, des blessures, des rayons ultra-violet (UV) et des insectes. Ces composés phytochimiques provenant de la phénylalanine et la tyrosine sont ubiquitaires dans les plantes (**Pereira Nunes *et al.*, 2012**).

Les polyphénols sont synthétisés à partir de deux voies biosynthétiques :

2-3-2-1/ Voie de l'acide shikimique, qui conduit après transamination et désamination, aux acides cinnamiques et à leurs nombreux dérivés tels que les acides benzoïques ou les phénols simples

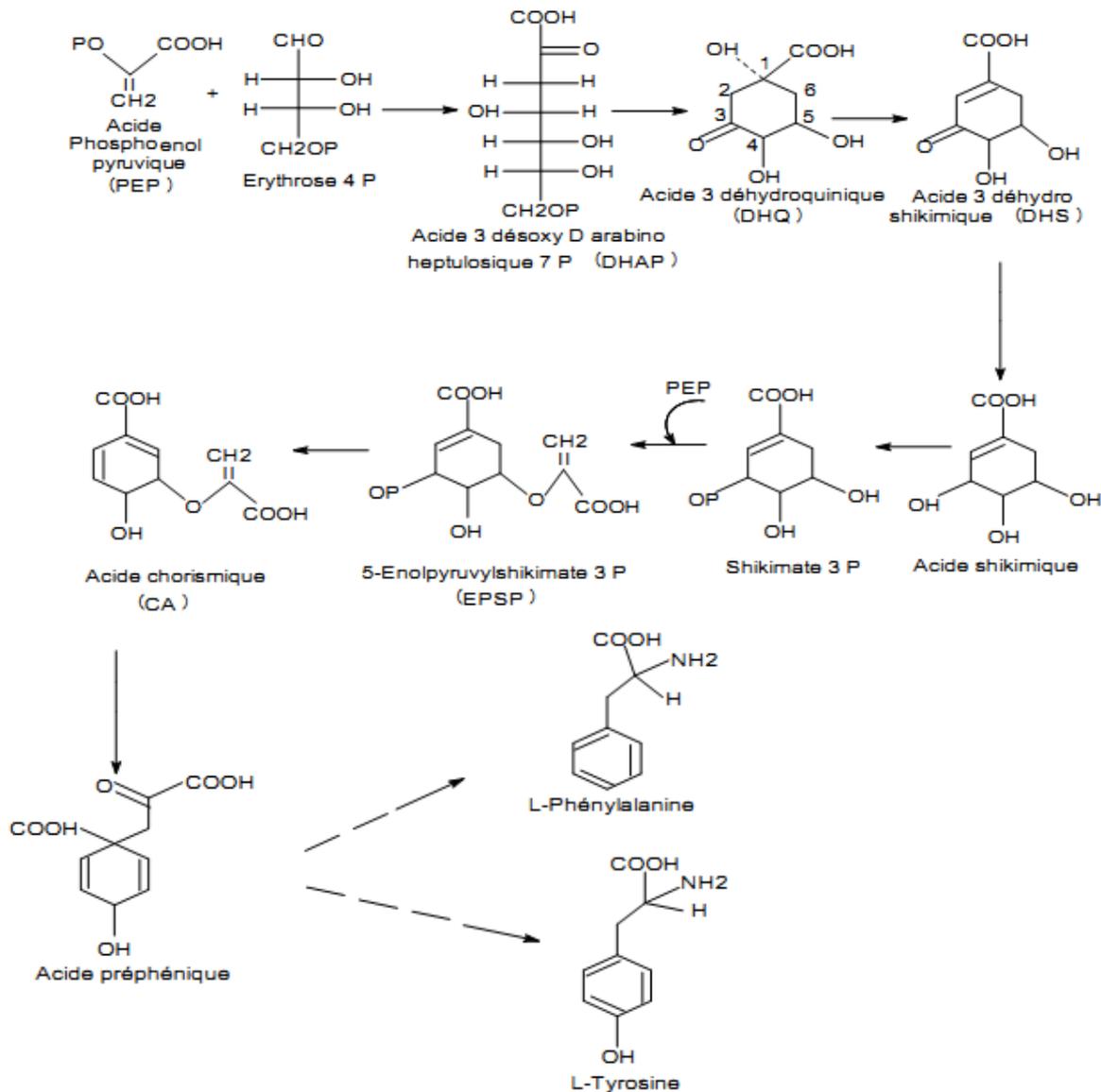


Figure 02 : La voie de shikimate (Zaghad., 2009).

2-3-2-2/ Voie de l'acétate/malonate : conduit à des polys β -coesters (poly-acétates) de longueur variable menant par cyclisation à des composés polycycliques tels que les dihydroxy 1,8-antraquinone ou les naphtoquinones. De plus, la diversité structurale des composés polyphénoliques, due à cette double origine biosynthétique est encore accrue par la possibilité d'une participation simultanée de deux voies dans l'élaboration de composés d'origine mixte, « les flavonoïdes » (Martin et Andrantsitohaina., 2002).

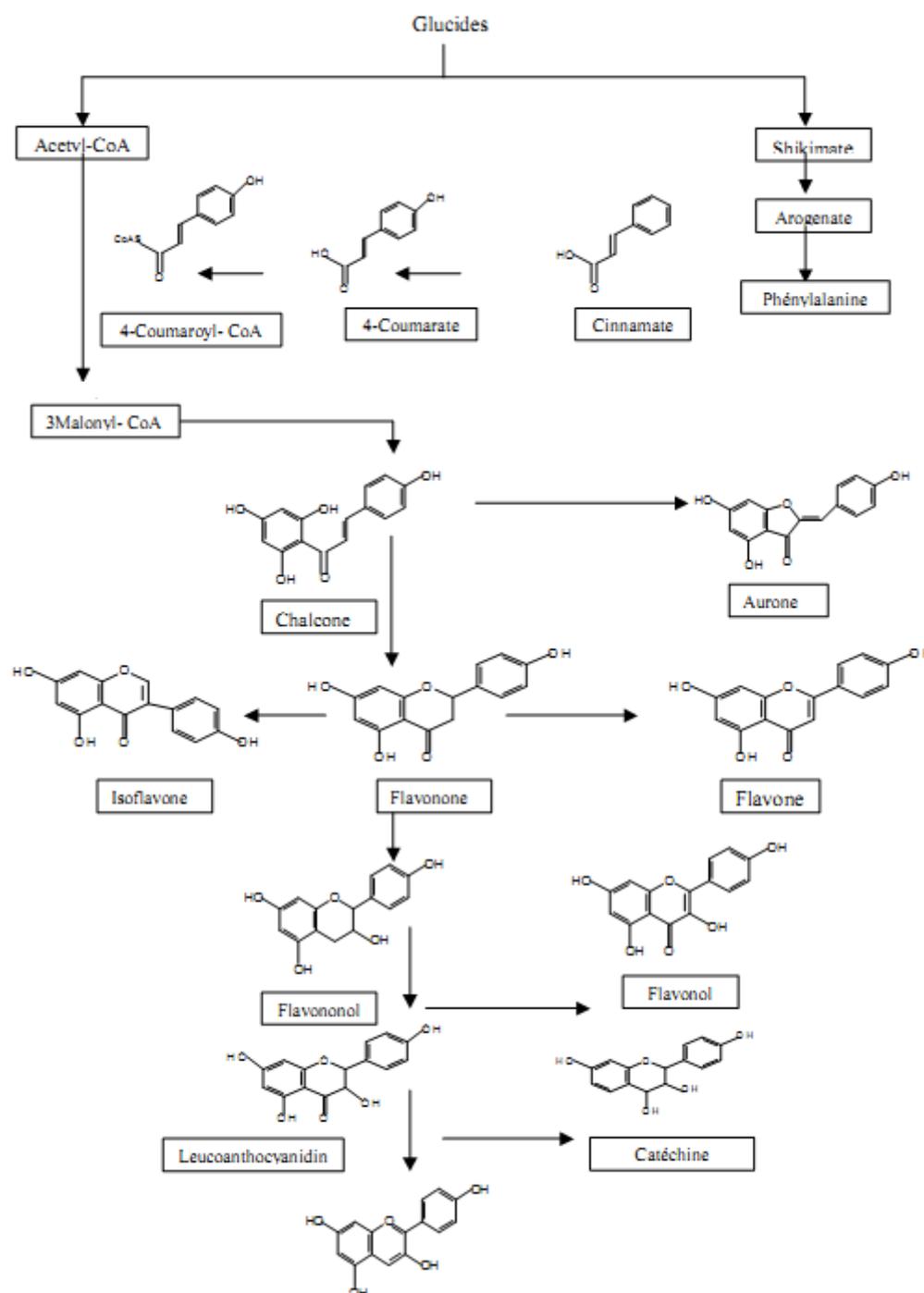


Figure 03 : Condensation entre la voie de l'acétate malonate et du shikimate (Rira., 2006).

2-3-3/ Effets biologiques des polyphénols :

Les polyphénols sont associés à de nombreux processus physiologiques interviennent dans la qualité alimentaire, impliqués lorsque la plante est soumise à des blessures mécaniques. La capacité d'une espèce végétale à résister à l'attaque des insectes et des micro-organismes est souvent corrélée avec la teneur en composés phénoliques (**Bahorun, 1997**).

Ces composés montrent des activités anti-carcinogènes, anti-inflammatoires, antiathérogènes, anti-thrombotiques, analgésiques, antibactériennes, antivirales, anticancéreuses (**Babar et al., 2007**), anti-allergènes, vasodilatatrices (**Falleh et al., 2008**) et antioxydantes (**Gomez-Caravaca et al., 2006**).

Les composés polyphénoliques sont d'ailleurs de plus en plus utilisés en thérapeutique. Ils sont regroupés dans la catégorie des veinotoniques et des vasculo-protecteurs. Parmi les veinotoniques, nous citerons le Relvenet ou le Cirkant renfermant du rutinose, le Daflont ou le diosmilt renfermant de la diosmine. Un certain nombre de molécules polyphénoliques sont également en étude clinique comme des anti-agrégant plaquettaire, ou hypotenseurs sans résultats probants (**Martin et Andriantsitohaina., 2002**).

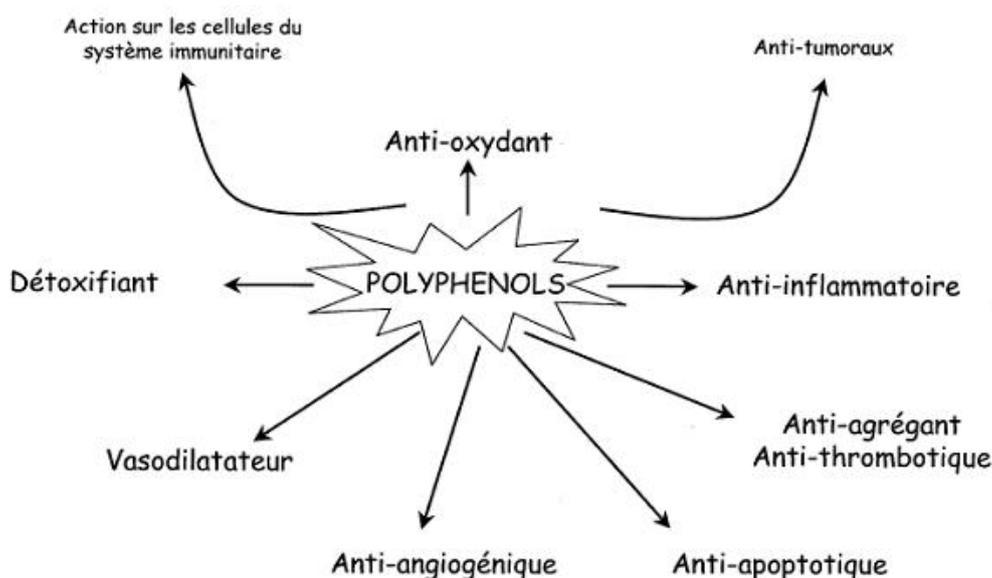


Figure 04 : Effets biologiques des polyphénols (**Martin et Andriantsitohaina, 2002**).

2-4/ Les acides phénoliques :

2-4-1/ Définition :

Le terme acide- phynol peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et hydroxyl phénolique (**Bruneton., 1999**). La pratique courante en phytochimie consiste à réserver ce terme aux dérivés de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique. Les acides hydroxy benzoïques et hydroxycinnamiques existent rarement sous formes libres, mais sont généralement trouvés sous formes conjuguées d'esters et de glycosides (**Hager et Howard., 2009**).

Les acides phénoliques participent directement aux réactions de stress environnementaux, comme les attaques par les ravageurs et contribuent au processus de guérison de la plante par la lignification des tissus endommagés (**Manach et al., 2004**).

2-4-2/ Classification des acides phénolique :

2-4-2-1/ Les acides hydroxybenzoïques :

La concentration de l'acide hydroxy -benzoïque est généralement très faible chez les végétaux comestibles. Ces dérivés sont assez rares dans l'alimentation humaine par contre ceux d'acides hydroxy-cinnamiques tels que les acides p-coumariques, férulique et sinnapique sont très présents (**Macheix et al., 2006**).

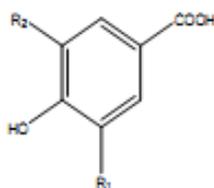


Figure 05 : Structure de base des acides hydroxybenzoïques

Tableau 05 : dérivés de l'acide hydroxybenzoïque (Macheix *et al.*, 2006).

R1	R2	Le nom du dérivé
H	H	Acide p-hydroxybenzoïque
OH	H	Acide protocatéchique
OCH ₃	H	Acide vanillique
OH	OH	Acide gallique
OCH ₃	OCH ₃	Acide syringique

2-4-2-2/ Les acides hydroxycinnamiques :

Les acides hydroxycinnamiques représentent une classe très importante dont la structure de base (C6-C3) dérive de celle de l'acide cinnamique. Le degré d'hydroxylation du cycle benzénique et son éventuelle modification par des réactions secondaires (par méthylation chez les acides féruliques ou sinapique) sont un des éléments important de la réactivité chimique de ces molécules (Macheix *et al.*, 2006).

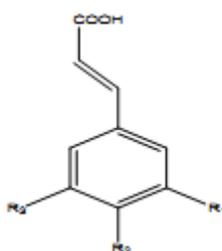


Figure 06 : Structure de base des acides hydroxycinnamiques

Tableau 08 : dérivé de l'acide hydroxycinnamique (Macheix *et al.*, 2006).

R1	R2	R3	Le nom du dérivé
H	H	H	Acide cinnamique
H	OH	H	Acide p-coumarique
OH	OH	H	Acide caféique
OCH ₃	OH	H	Acide férulique
OCH ₃	OH	OCH ₃	Acide sinapique

2-5/ Les Tannins :**5-5-1/ Définition des Tannins :**

Les tannins représentent un groupe hétérogène assez difficile à définir de façon rigoureuse et concise car il n'y a pas de structure chimique de base. Leurs structures chimiques sont en effet variées et rassemblées en famille en fonction d'activités communes (**Dahmani, 2013**).

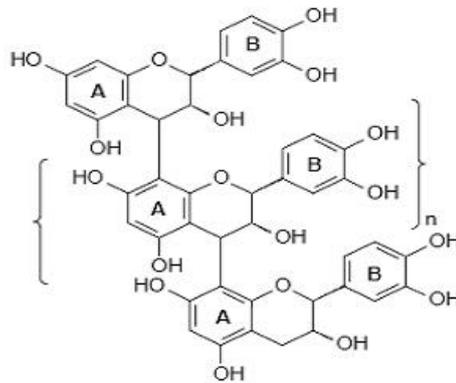


Figure 07 : Structure de base des tannins

De ce fait, toute classification chimique des tannins est forcément arbitraire. Cependant, on se réfère souvent à une distinction entre tanins hydrolysables et tanins condensés.

2-5-1/ Classification des Tannins :**2-5-1-1/ Les Tannins hydrolysables :**

Ils sont constitués par une molécule de sucre (le glucose le plus souvent) estérifié par l'acide gallique ou un de ses dérivés (acide ellagique, chébulique ou valonique). Ils sont facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique (**Ghazi., 2014**).

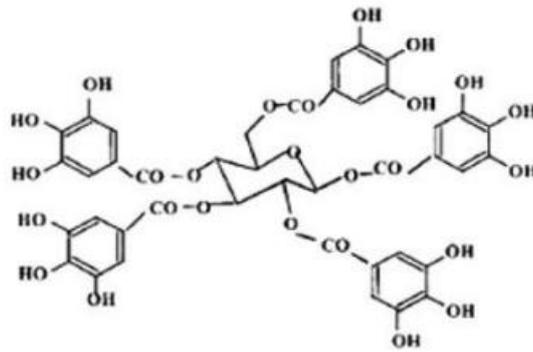


Figure 08 : Structure chimique des tannins hydrolysables

5-5-2-2/ Les Tannins condensés :

Ce sont des produits de la polymérisation de flavan-3-ols (catéchines) et flavan-3,4-diols (leucoanthocyanidines). Ils sont aussi désignés aussi sous le nom de «tannins catéchiques » et ne sont hydrolysables que dans des conditions fortement acides (**sayah., 2013**).

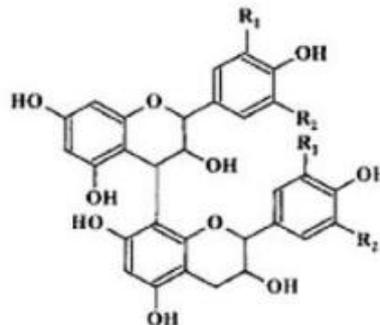


Figure 09 : Structure chimique des tannins condensés

2-5-2/ Propriétés pharmacologiques des tannins :

Les décoctions et les autres préparations à base de drogues riches en tannins sont employées le plus souvent extérieurement contre les inflammations de la cavité buccale, les catarrhes, la bronchite, les hémorragies locales, sur les brûlures et les engelures, les plaies, les inflammations dermiques, les hémorroïdes et la transpiration excessive (**Alilou., 2012**).

En usage interne, elles sont utiles en cas de catarrhe intestinal, de diarrhée, d'affections de la vésicule, ainsi que comme l'antidote (contrepoison) lors d'empoisonnement par les alcaloïdes végétaux (Saihi., 2011)

2-6/ Les Coumarines :**2-6-1/ Définition :**

Les coumarines sont des molécules biologiquement actives, Substances naturelles aromatiques, la coumarine est utilisée en parfumerie. Son odeur se rapproche de la vanilline et du foin fraîchement coupé. On la retrouve dans plusieurs plantes différentes comme l'aspérule, la cannelle de Chine, le céleri, la fève tonka, la lavande vraie, le mélilot...etc. D'un point de vue médical, la coumarine était utilisée comme anti-oedémateux en raison de l'action qu'elle exerce sur le drainage lymphatique qu'elle facilite. Néanmoins, elle n'est plus employée en raison des troubles hépatiques qu'elle provoquait (**Anonyme 3**).

2-6-2/ Classification des Coumarine :**+ Coumarines simples :**

- ✓ Coumarine
- ✓ Ombelliferone

+ Coumarines prenylées :

- ✓ Rutaculine
- ✓ Osthol

+ Furanocoumarines :**❖ Furanocoumarines lineaires :**

- ✓ Bergaptene
- ✓ Imperatorine

❖ Furanocoumarines angulaires :

- ✓ Angelicine
- ✓ Pimpinéline

✚ **Pyranocoumarines :**

- ❖ **La visnadine**

✚ **Les coumarines peuvent également exister à l'état dimerique ou trimerique**

- ❖ **Dicoumarines(coumarines dimerique) :**

- ✓ Dicoumarol.

- ❖ **Tricoumarines**

- ✓ Triumbellattine (**Bouzid ., 2009**)

2-6-3/ Propriétés pharmacologiques des coumarines :

✚ Les coumarines se révèlent être des composés immunostimulantes provoquent l'augmentation des lymphocytes T dans la circulation sanguine (**Stefanova et al; 2007**).

✚ **l'activité antibactérienne** : les coumarines sont efficaces contre les bactéries à Gram positif (**Cottiglia et al., 2001; ; Khan et al., 2005 ; Laure, 2005**).

✚ En 1957, O'Neal et son équipe ont montré l'efficacité des coumarines pour bloquer le cancer induit chimiquement par les radiations ultraviolettes. Ces molécules sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxyde et peroxydes (**Anderson et al., 1996 ; Hu et al., 2005**).

2-7/ Les flavonoïdes :

2-7-1/ Définition :

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols, ils sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. À l'état naturel les flavonoïdes se trouvent le plus souvent sous forme d'hétérosides. Et du point de vue structurale, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules, en effet plus de 6400 structures ont été identifiées (**Boudjouref ., 2011**).

Plusieurs milliers des molécules ont été identifiées à ce jour. Ainsi nous en absorbons chaque fois que nous consommons un aliment d'origine végétale. Ils ont une origine biosynthétique commune et par conséquent, possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbones (2-phényl-1-benzopyrane), constitué de deux unités aromatiques, deux cycles en C6 (**A** et **B**), reliés par un cycle pyranique central **C**.

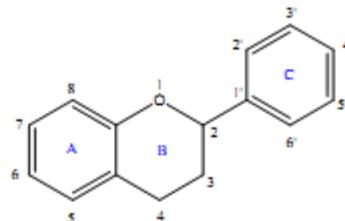


Figure 10 : Structure de base des flavonoïdes

2-7-2/ Voie de la biosynthèse des flavonoïdes :

La biosynthèse des flavonoïdes se fait à partir d'un précurseur commun, la 4,2',4',6'-tétrahydroxychalcone

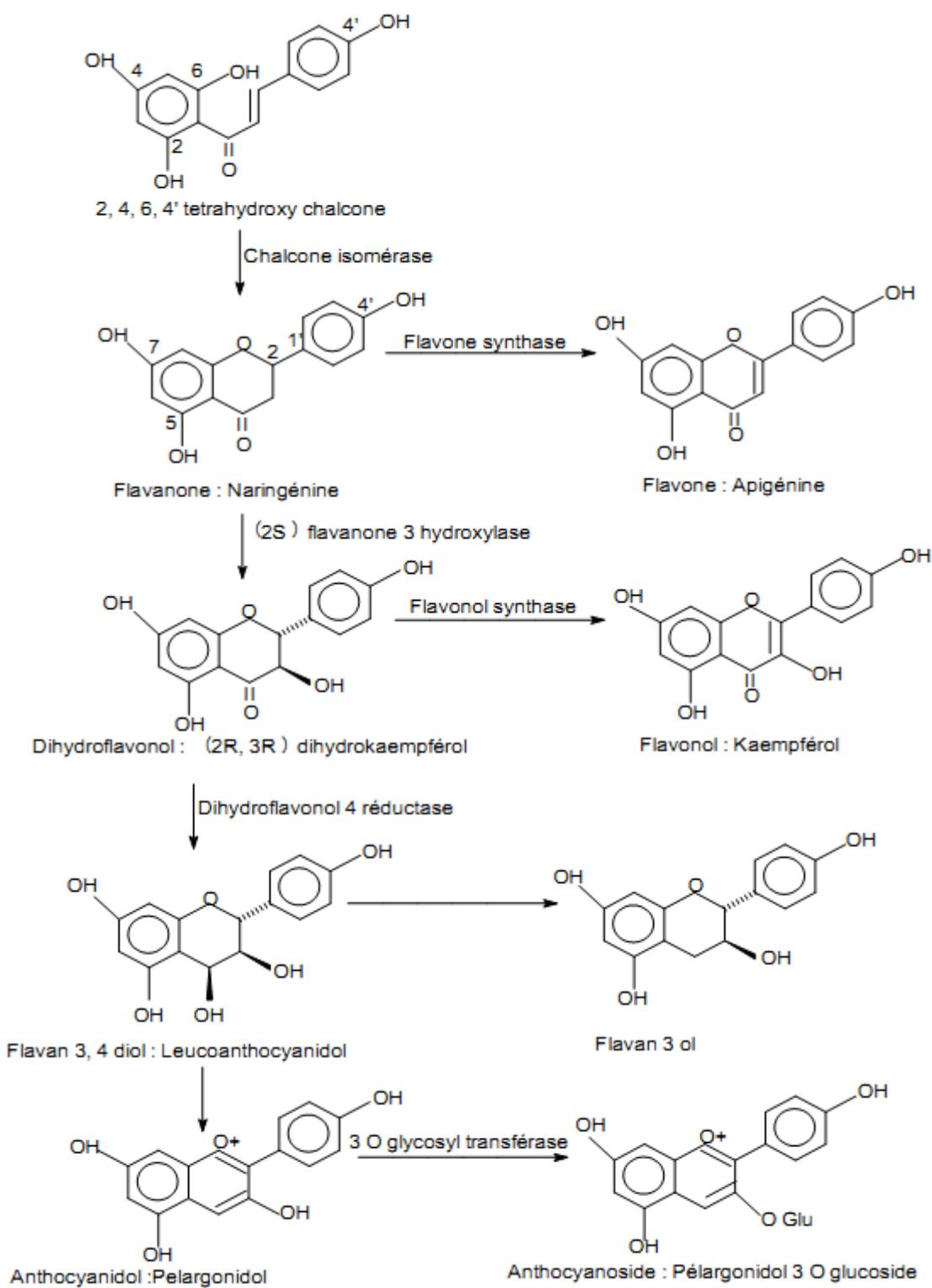


Figure 11: Voie de la biosynthèse des flavonoïdes (Zaghad., 2009)

2-7-3/ Classification des flavonoïdes :

2-7-3-1/ Flavones et flavonols :

Les flavones et les flavonols sont les composés flavoniques les plus répandus; en 2004, on dénombrait plus de 1100 génines de structure connue (530 flavones et 600 flavonols), et environ 1400 hétérosides de flavonols et 700 hétérosides de flavones (**Bruneton., 2009**).

Les flavones (*flavus* = jaune), c'est une classe de flavonoïdes sur la base du squelette de 2-phényl chromène-4-one. Les flavones se trouvent principalement dans les céréales et les herbes. Les flavones sont des composés biologiquement actifs. Par conséquent certain nombre de méthodes de synthèse ont été développés (**Kshatriya et al., 2013**).

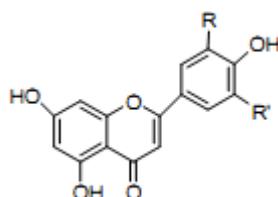


Figure 12 : Structure chimique des flavones

Les flavonols diffèrent des flavones par la présence d'un groupement hydroxyle **OH** en **C3**. Chez les flavonols, la position 3 de l'hétérocycle est toujours glycosylée, ainsi que fréquemment la position 7 du cycle A mais jamais la position 5 (**Macheix et al., 2006**). La teneur des flavonols est plus élevée dans la peau des fruits puisque la lumière en stimule la biosynthèse.

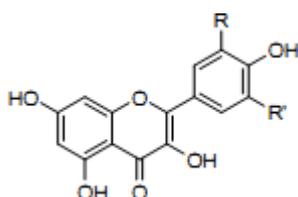


Figure 13 : Structure chimique des flavonols

2-7-3-2/ Flavanones et dihydroflavonols :

Les flavanones et dihydroflavonols sont caractérisés par l'absence de la double liaison entre le C2 et C3. Les dihydroflavonols se différencient des flavanones par la présence d'un groupement hydroxyle en position 3 (Chosson *et al.*, 1998 ; Bruneton., 2009).

Les flavanones se retrouvent surtout dans les agrumes et les tomates. La menthe constitue également une source abondante (Benbrook., 2005 ; Ignat., 2011).

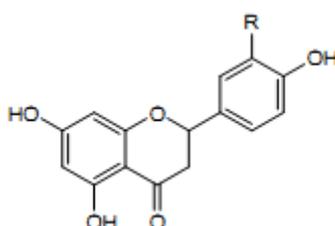


Figure 14 : Structure chimique des flavanones

2-7-3-3/ Les anthocyanes :

Les anthocyanes (du grec *anthos* : fleur et *kuanos* : bleu violet) sont des pigments hydrosolubles responsables des couleurs bleu, mauve, rouge ou rose de certaines parties végétales (fleurs, fruits, feuilles, racines,...) (Valls *et al.*, 2009).

Les anthocyanines sont des flavonoïdes porteurs d'une charge positive sur l'oxygène de l'hétérocycle C. Les anthocyanes se différencient par leur degré d'hydroxylation et de méthylation, par la nature et la position des oses liés à la molécule. L'aglycone ou anthocyanidine constitue le groupement chromophore du pigment (Khalfalleh., 2013).

Les anthocyanidines ne possèdent pas de groupe OH à la position 4 et ont une double liaison entre les positions 3 et 4. Les plus importants sont : pélargonidine, cyanidine, et peonidine.

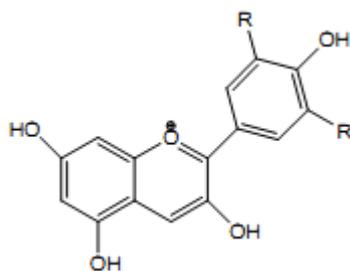


Figure 15 : Structure chimique des anthocyanes

2-7-3-4/ Les chalcones :

Les chalcones sont différents des autres types des flavonoïdes cités ci-dessus par l'ouverture du noyau pyranique central, elles sont constituées par deux unités aromatiques reliées par une chaîne tricarbonée, cétonique, α,β -insaturée. Le noyau B est assez fréquemment non substitué, alors que les substitutions sur le cycle A sont identiques à celles des autres flavonoïdes (**Hammoud., 2009**).

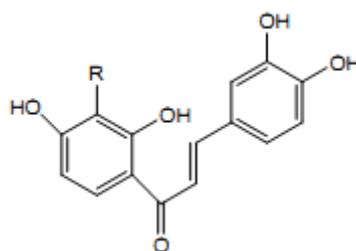


Figure 16 : Structure chimique des chalcones

2-7-3-5/ Les aurones :

Les aurones sont caractérisées par une structure de 2-benzylidène coumaranone. Pour ces deux types de molécules, la numération des positions est différente des autres flavonoïdes décrits précédemment. Ces composés sont extrêmement fréquents dans les fleurs sous forme de pigments contribuant à la couleur jaune (**Smara., 2014**).

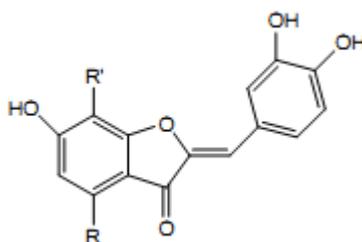


Figure 17 : Structure chimique des aurones

2-7-4/ Les propriétés biologiques des flavonoïdes :

La principale propriété initialement reconnue aux flavonoïdes est d'être "veino-actifs", c'est-à-dire capables de diminuer la perméabilité des capillaires sanguins et de renforcer leur résistance (Bruneton, 1999).

2-7-4-1/ Activité antioxydante :

Les flavonoïdes ont été découverts dans les années 30 par Albert Szent-Gyorgyi, lauréat prix Nobel, en tant que des composés avec l'activité antioxydante prononcée (Hodek *et al.*, 2002). Les flavonoïdes expriment les propriétés anti-oxydantes par : Le piégeage direct des espèces réactives de l'oxygène (ERO), La suppression de la formation des ERO par l'inhibition de quelques enzymes ou par chélation des ions métalliques, impliqués dans leur production, La protection des systèmes de défense antioxydants de l'organisme (Boudiaf, 2006).

2-7-4-2/ Propriétés pro-oxydantes :

Nous avons décrit précédemment les propriétés antioxydantes des flavonoïdes mais il ne faut pas négliger leurs propriétés pro-oxydantes. Parfois les flavonoïdes jouent un rôle de pro-oxydants. En effet, plusieurs d'entre eux ont été décrits comme responsables d'auto-oxydation et de la génération de radicaux oxygénés actifs, comme le peroxyde d'hydrogène. En définitive, certains flavonoïdes pourraient accélérer la survenue de l'atteinte oxydative de l'ADN, des protéines et des glucides *in vitro*. Alors, le potentiel pro-oxydant de ces composés ne doit pas être négligé dans le mécanisme d'action des flavonoïdes (Milane, 2004).

2-7-4-3/ Inhibition enzymatique :

En règle générale, les flavonoïdes sont *in vitro*, des inhibiteurs enzymatiques de l'histidine-décarboxylase par le quercétol ou la naringénine; l'élastase; l'hyaluronidase, par les flavones et surtout par les proantho-cyanidols; la phosphodiésterase de l'AMPc; l'aldose-réductase par le quercétiroside, ainsi que par des méthoxyflavones; la protéine-kinase, notamment par le lutéolol; plusieurs flavonoïdes (cirsiliol, hypolaetine, etc.) sont de puissants

inhibiteurs de la 5-lipoxygénase. Quant à (lutéolol, apigénol, chrysine, etc.) inhibent la cyclo-oxygénase (**Bruneton, 1999**).

Quelques flavonoïdes sont des inhibiteurs efficaces de la biosynthèse des prostaglandines. Cet effet est dû à l'inhibition de certains enzymes (lipoxygénase, phospholipase, cyclo-oxygénase) impliquées dans leur biosynthèse.

L'activité anti-tumorale de plusieurs flavonoïdes (pinostrobin, quercétine, morine myricétine,) est attribuée à leur efficacité d'inhiber la topoisomérase I et II (**Hodek et al., 2002**).

Beaucoup d'efforts ont été fait pour la recherche des inhibiteurs efficaces de la tyrosinase, l'enzyme clef dans la biosynthèse de la mélanine. Les flavonoïdes présentent le groupe le plus étudié des polyphénols. Les résultats des travaux de Gao, et ses collaborateurs (2007) ont montré que les 5, 6,7-trihydroxy-flavones sont utiles en tant qu'agents de dépigmentation. Plus rarement, les flavonoïdes peuvent stimuler une activité enzymatique : c'est le cas de la proline-hydroxylase (**Bruneton, 1999**).

2-7-4-4/ Activité anti-tumorale :

La plupart des flavonoïdes sont *in vitro*, antimutagènes ; au contraire, quelques flavonols sont sur les mêmes modèles mutagènes et un petit nombre d'entre eux sont anticarcinogènes et inhibiteurs de la croissance des cellules tumorales *in vitro* (**Bruneton, 1999**). Les effets anti-carcinogènes de la quercétine et d'autres flavonoïdes deviennent de plus en plus évidents (**Hollman et al., 1996**).

(**Tieppo et al., 2007**) ont démontré que la quercétine n'était pas génotoxique et en revanche elle a augmenté la stabilité génomique chez les rats ayant une cirrhose biliaire induit par la ligature cholagogue. En plus de l'activité anti-oxydante (**Li et Jiang., 2007**) ont observé une activité anticancéreuse, pour l'épicatéchine, procyanidine B2, procyanidine B4 de la fraction d'acétate d'éthyle des extraits du litchi.

2-7-4-5/ Effets cardiovasculaires :

Récemment, beaucoup d'études se sont concentrées sur les effets cardiovasculaires des flavonoïdes. Les rapports épidémiologiques ont démontré que les gens peuvent avoir une incidence plus limitée en maladies du cœur, s'ils ont une ingestion diététique élevée en flavonoïdes (**Xu et al., 2007**). Parmi les 17 flavonoïdes examinés par **Xu** et ses collaborateurs (**2007**), les agents de relaxation vasculaires les plus efficaces sont l'apigénine, lutéoline, kaempferol et la génisteine. Cette relaxation est attribuée à l'action directe des flavonoïdes sur le muscle lisse vasculaire.

2-7-4-6/ Autres propriétés :

Des flavonoïdes ayant une activité antivirale ont été identifiés depuis 1940, mais des tentatives ont été faites récemment, pour faire des modifications synthétiques pour améliorer leur activité antivirale.

La quercétine, morine, rutine, dihydroquercétine, dihydrofisetine, leucocyanidine, apigénine, catéchine, hespéridine et la naringine possèdent une activité antivirale contre 11 types de virus. L'activité antivirale semble être associée aux composés non glycosylés et l'hydroxylation en position 3 est apparemment nécessaire à cette activité (**Middleton et al., 2000**). Les flaviènes et quelques dihydroflavonols empêchent la croissance du *Streptococcus mutans* et *Streptococcus sobrinus*.

Lahouel et ses collaborateurs, (**2004**) ont évalué l'effet des flavonoïdes donnés par voie orale pendant 14 jours, vis-à-vis la toxicité hématologique et hépatique du cyclophosphamide et de la vinblastine, ainsi que la toxicité hépatique du paracétamol. Chez les rats prétraités par les flavonoïdes il apparaît une nette amélioration dans les effets toxiques.

La quercétine et la rutine une fois administrée oralement aux souris hyper-uricémique induits par l'oxonate de potassium, réduisent les niveaux d'acide urique dans le sérum, mais avec un profil pharmacologique partiellement différent de celui de l'allopurinol. Ces effets hypo-uricémiques sont partiellement dus à l'inhibition des activités de laxanthine déshydrogénase et la xanthine oxydase XDH/XO (**Zhu et al., 2004**).

Selon (Tieppo *et al.*, 2007) la quercétine et les flavonoïdes protègent contre les cataractes diabétiques, empêchent l'agrégation plaquettaire et l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (LDL). Les flavonoïdes peuvent être des : antispasmodiques, hypocholestéro lémiants, diurétiques, (Bruneton, 1999), analgésiques (Gonzalez-Trujano *et al.*, 2007).

Quelques flavonoïdes montrent également une variété d'effets biologiques tels qu'anti-inflammatoire, antiallergique, ainsi que la capacité de stimuler le système immunitaire (Merken et Beecher, 2000). Cependant, tous les flavonoïdes n'ont pas des activités nécessairement intéressantes. Quelques flavonoïdes ont des effets mutagènes et / ou pro-oxydant (Hodek *et al.*, 2002).

2-7-5/ Rôles des flavonoïdes chez les plantes

Les flavonoïdes sont des pigments quasiment universels des végétaux. Ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Quand ils ne sont pas directement visibles, ils contribuent à la coloration par leur rôle de co-pigments.

Dans certains cas, la zone d'absorption de la molécule est située dans le proche ultraviolet : la coloration n'est alors perçue que par les insectes qui sont ainsi efficacement attirés et guidés vers le nectar et donc contraints à assurer le transport du pollen (Bruneton., 1994). On peut également noter que les flavonoïdes, en repoussant certains insectes par leur goût désagréable, peuvent jouer un rôle dans la protection des plantes.

Les flavonoïdes montrent d'autres propriétés intéressantes dans le contrôle de la croissance et du développement des plantes en interagissant d'une manière complexe avec diverses hormones végétales de croissance. Certains d'entre eux jouent également un rôle de phytoalexines, c'est -à-dire des métabolites que la plante synthétisent en grande quantité pour lutter contre une infection causée par des champignons ou par des bactéries (Marfak., 2003).

De plus ils sont impliqués dans la photosensibilisation, la morphogenèse, la détermination sexuelle, la photosynthèse et la régulation des hormones de croissance des plantes (Lhuillier., 2007).

2-7-6/ Emplois thérapeutiques des flavonoïdes :

Une étude clinique a permis de montrer une activité anticancéreuse de la quercétine, administrée par voie intraveineuse chez des patients atteints du cancer. Le resveratrol est actuellement en phase I, d'étude clinique pour son utilisation dans le traitement du sida. Il est également en phase d'études préclinique et clinique pour son utilisation dans le traitement de divers cancers (**Martin et Andriantsitohaina, 2002**).



Chapitre 03 : Matériels et méthodes

1/ Matériel végétal :

L'aubépine monogyne ou *Crataegus monogyna* est une plante médicinale utilisée en phytothérapie et inscrite à la pharmacopée pour ses propriétés sédatives, vasoconstrictrices et antioxydantes (Bahorun, 1997). Les parties végétales utilisées dans cette étude sont les feuilles et les fleurs de *Crataegus monogyna*. Nous avons choisi cette plante car d'après la littérature, elle est très reconnue par sa richesse en composés phénoliques et flavonoïdes. Les feuilles ont été récoltées en janvier 2015 tandis que les fleurs ont été cueillies durant la période de floraison en Avril 2015 à l'université constantine-1, les feuilles ont été séchées à l'abri de la lumière solaire et à une température ambiante alors que les fleurs ont été séchées dans l'étuve à 40 °C pendant 20 heures.

2/ Le screening phytochimique :

Ce sont des techniques qui permettent de déterminer les différents groupes chimiques contenus dans un organe végétal. Ce sont des réactions physicochimiques qui permettent d'identifier la présence des substances chimiques (Hamidi., 2012).

Un poids bien déterminé de la matière végétale sèche (feuilles et fleurs) a été broyé grossièrement dans un moulin électrique.

2-1/ L'extrait végétal hydro-alcoolique :

✚ On met dans deux erlenmeyers (le 1^{ier} pour les fleurs et le 2^{ème} pour les feuilles) :

- ❖ 7g du matériel végétal.
- ❖ Extrait méthanolique, 100 ml de MeOH/eau (70/30).
- ❖ Filtration de l'extrait méthanolique après 24 h.

2-1-1/ Le screening phytochimique des flavonoïdes :

2-1-1-1/ Test de bate-smith (test de flavan3, 4diols):

✚ On met dans quatre tubes 2 ml de l'extrait hydro-alcoolique (hydro-méthanolique) dont :

- ❖ Dans le 1^{ier} tube on met **2 ml** de l'extrait hydro-méthanolique des fleurs (Témoin -).
- ❖ Dans le 2^{ème} tube on met **2 ml** de l'extrait hydro-méthanolique des fleurs.
- ❖ Dans le 3^{ème} tube on met **2 ml** de l'extrait hydro-méthanolique des feuilles et on note (Témoin -).
- ❖ Dans le 4^{ème} tube on met **2 ml** de l'extrait hydro-méthanolique des feuilles.
- ❖ Additionner dans les tubes **2 et 4** l'HCl concentré (**0,5ml**).
- ❖ Porter au bain marie pendant **30** minutes.
- ❖ L'apparition d'une coloration rouge dénote la présence de Leucoanthocyanes qui sont des dérivés des flavan-3,4-diols (**Bruneton., 1993**).

2-1-1-2/ Test de Wilstater (test de flavonols et flavanones) :

- ✚ On met dans les **4** tubes **2.5 ml** de l'extrait hydro-méthanolique dont :
 - ❖ Dans le 1^{ier} tube met **2.5 ml** de l'extrait hydro-alcoolique des fleurs (Témoin -).
 - ❖ Dans le 2^{ème} tube on met **2.5 ml** de l'extrait hydro-alcoolique des fleurs.
 - ❖ Dans le 3^{ème} tube on met **2.5 ml** de l'extrait hydro-alcoolique des feuilles (Témoin -).
 - ❖ Dans le 4^{ème} tube on met **2.5 ml** de l'extrait hydro-alcoolique des feuilles.
 - ❖ Dans les tubes **2 et 4** on met **0.5 ml** de l'HCl concentré.
 - ❖ On ajoute tout doucement quelques fragments de magnésium, on laisse agir sous la hotte.
 - ❖ L'apparition d'une couleur qui vire vers le rouge pourpre (Flavonols) ou le rouge violacées (Flavonones et Flavonols) confirme l'existence des flavonoïdes (**Bruneton., 1993**).

2-1-2/ Le screening phytochimique des Tannins :

- ✚ On met dans les huit tubes **2 ml** de l'extrait hydro-méthanolique dont :

Série « 01 » :

- ❖ Dans le 1^{ier} tube on met **2 ml** de l'extrait hydro-méthanolique des fleurs (Témoin -).
- ❖ Dans le 2^{ème} tube on met **2 ml** de l'extrait hydro-méthanolique des fleurs.
- ❖ Dans le 3^{ème} tube on met **2 ml** de l'extrait hydro-méthanolique des feuilles (Témoin -).

- ❖ Dans le 4^{ème} tube on met **2 ml** de l'extrait hydro-méthanolique des feuilles.

Série « 02 » :

- ❖ Dans le 1^{ier} tube on met **2 ml** de l'extrait hydro-méthanolique des fleurs (Témoin -).
- ❖ Dans le 2^{ème} tube on met **2 ml** de l'extrait hydro-méthanolique des fleurs.
- ❖ Dans le 3^{ème} tube on met **2 ml** de l'extrait hydro-méthanolique des feuilles (Témoin -).
- ❖ Dans le 4^{ème} tube on met **2 ml** de l'extrait hydro-méthanolique des feuilles.
- ❖ Additionner **4 à 5** gouttes de gélatine à **1%** dans les tubes **2 et 4 de la Série « 01 »**.
- ❖ Additionner **4 à 5** gouttes de (FeCl₃ en solution méthanolique) dans les tubes **2 et 4 de la série Série « 02 »**.
- ❖ La couleur vire au bleu noir en présence de tanins galliques et au brun verdâtre en présence de tanins catéchiques (**Dohou et al., 2003**), avec précipitation dans les tests **de gélatine**.

2-2/ L'extrait végétal étherique :

- ✚ On met dans deux erlenmeyers (le 1^{ier} pour les fleurs et le 2^{ème} pour les feuilles) :
- ❖ **7g** du matériel végétal (Broyée).
- ❖ **30 ml** éther de pétrole.
- ❖ Filtration de l'extrait étherique après **24 h**.

2-2-1/ Le Screening phytochimique des Quinones :

- ✚ On met dans les **4** tubes **2 ml** de l'extrait étherique dont :
- ❖ Dans le 1^{ier} tube on met **2 ml** de l'extrait étherique des fleurs (Témoin -).
- ❖ Dans le 2^{ème} tube on met **2 ml** de l'extrait étherique des fleurs.
- ❖ Dans le 3^{ème} tube on met **2 ml** de l'extrait étherique des feuilles (Témoin -).
- ❖ Dans le 4^{ème} tube on met **2 ml** de l'extrait étherique des feuilles.
- ❖ On a ajouté NaOH **10%** dans les tubes **2 et 4**.
- ❖ Après agitation, l'apparition d'une coloration qui vire au jaune, rouge ou violet de la phase aqueuse confirme la présence des quinones (**Ribérreau,, 1968**).

2-2-2/ Le Screening phytochimique des coumarines :

- ❖ 5ml d'extrait éthérique obtenu après une macération pendant 24 heures, après évaporation à l'air libre
- ❖ Le résidu a été repris avec 2 ml d'eau chaude.
- ❖ La solution est partagée entre 2 tubes à essai.
- ❖ La présence de coumarines est révélée après ajout dans l'un des tubes de 0.5ml

- ❖ NH₄OH à 25% et observation de la fluorescence sous une lampe UV à 366 nm.

Une fluorescence intense dans le tube où il a été ajouté l'ammoniaque indique la présence de coumarines (Bouزيد., 2009).

2-3/ L'extrait végétal chloroformique :

- ✚ On met dans deux erlenmeyers (le 1^{ier} pour les fleurs et le 2^{ème} pour les feuilles) :

- ❖ 4g du matériel végétal (Broyée).
- ❖ 50 ml chloroforme et éther de pétrole (40/10).
- ❖ Filtration de l'extrait chloroformique après 24 h.

2-3-1/ Screening phytochimique des Anthraquinones :

- ✚ On met dans les 4 tubes 2 ml de l'extrait chloroformique dont :

- ❖ Dans le 1^{ier} tube on met 2 ml de l'extrait chloroformique des fleurs (Témoin -).
- ❖ Dans le 2^{ème} tube on met 2 ml de l'extrait chloroformique des fleurs.
- ❖ Dans le 3^{ème} tube on met 2 ml de l'extrait chloroformique des feuilles (Témoin -).
- ❖ Dans le 4^{ème} tube on met 2 ml de l'extrait chloroformique des feuilles.
- ❖ On ajoute KOH 10% dans les tubes 2 et 4.

- ❖ Après agitation, la présence des Anthraquinones est confirmée par un virage de la phase aqueuse en rouge (Rizk., 1986).

2-4/ L'extrait végétal de l'acide sulfurique :

✚ On met dans deux erlenmeyers (le 1^{ier} pour les fleurs et le 2^{ème} pour les feuilles) :

- ❖ 0,2 g du matériel végétal (Broyée).
- ❖ 10 ml de l'acide sulfurique.
- ❖ Agitation pendant 2 minutes, et filtration.

2-4-1/ Screening phytochimique des Alcaloïdes :

✚ On met dans les 4 tubes 2 ml de l'extrait végétal de l'acide sulfurique dont :

Série « 01 » :

- ❖ Dans le 1^{ier} tube on met 2 ml de l'extrait de l'acide sulfurique des fleurs (Témoin -).
- ❖ Dans le 2^{ème} tube on met 2 ml de l'extrait de l'acide sulfurique des fleurs.
- ❖ Dans le 3^{ème} tube on met 2 ml de l'extrait de l'acide sulfurique des feuilles (Témoin -).
- ❖ Dans le 4^{ème} tube on met 2 ml de l'extrait de l'acide sulfurique des feuilles.

Série « 02 » :

- ❖ Dans le 1^{ier} tube on met 2 ml de l'extrait de l'acide sulfurique des fleurs (Témoin -).
- ❖ Dans le 2^{ème} tube on met 2 ml de l'extrait de l'acide sulfurique des fleurs.
- ❖ Dans le 3^{ème} tube on met 2 ml de l'extrait de l'acide sulfurique des feuilles (Témoin -).
- ❖ Dans le 4^{ème} tube on met 2 ml de l'extrait de l'acide sulfurique des feuilles.
- ❖ Dans le 2^{ème} et le 4^{ème} tube on met 5 gouttes de réactif de Mayer. (série 1)
- ❖ Dans le 2^{ème} et le 4^{ème} tube on met 5 gouttes de réactif de Dragendorff. (série 2)
- ❖ La présence des alcaloïdes est constatée par des réactions de précipitation avec les révélateurs généraux

- ✓ Blanc jaunâtre dans le premier tube.
- ✓ Orange dans le deuxième tube (Chenni., 2010).

3/Extraction :

Les extraits éthanoliques ont été obtenus par trois macérations successives et agitation du matériel végétal dans un mélange éthanol/eau (**80/20 : v/v**) avec renouvellement du solvant chaque **24h** à une température ambiante. Le rapport solvant/matériel végétal utilisé était de **10/1 (ml/g)**. Après une décantation de **24h**, la phase aqueuse limpide a été ensuite récupérée, filtré et évaporé à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif à 40°C et le résidu sec est repris dans **100 ml** d'eau distillée bouillante. La solution hydroalcoolique obtenue après filtration a subi une extraction liquide-liquide avec les solvants organiques suivants :

- ✓ **Affrontement par Ether de pétrole « 1 »**
- ✓ **Affrontement par Ether di éthylique « 2 »**
- ✓ **Affrontement par Acétate d'éthyle « 3 »**



« 1 »



« 2 »



« 3 »

Figure 18 : Les affrontements dans les ampoules à décanter

Ces affrontements se font dans des ampoules à décanter, la phase aqueuse et le solvant (v/v) sont mélangés énergiquement en laissant sortir à chaque fois les gaz des produits, après un repos d'une demi heure on récupère séparément la phase aqueuse et le solvant utilisé chargé de ses composés spécifiques. La phase chargée des molécules spécifiques sont récupérées séparément et les différentes phases récupérées (Ether diéthylique, Acétate d'éthyle, phase eau résiduelle) sont évaporées a sec puis reprises par **10 ml** du méthanol, les extrait obtenus sont ensuite stockés a une température ambiante jusqu'à leur utilisation pour le diagnostic chromatographique, pour la réalisation des dosages et la détermination des activités biologiques notamment l'activité antioxydante (Zeghad., 2009).

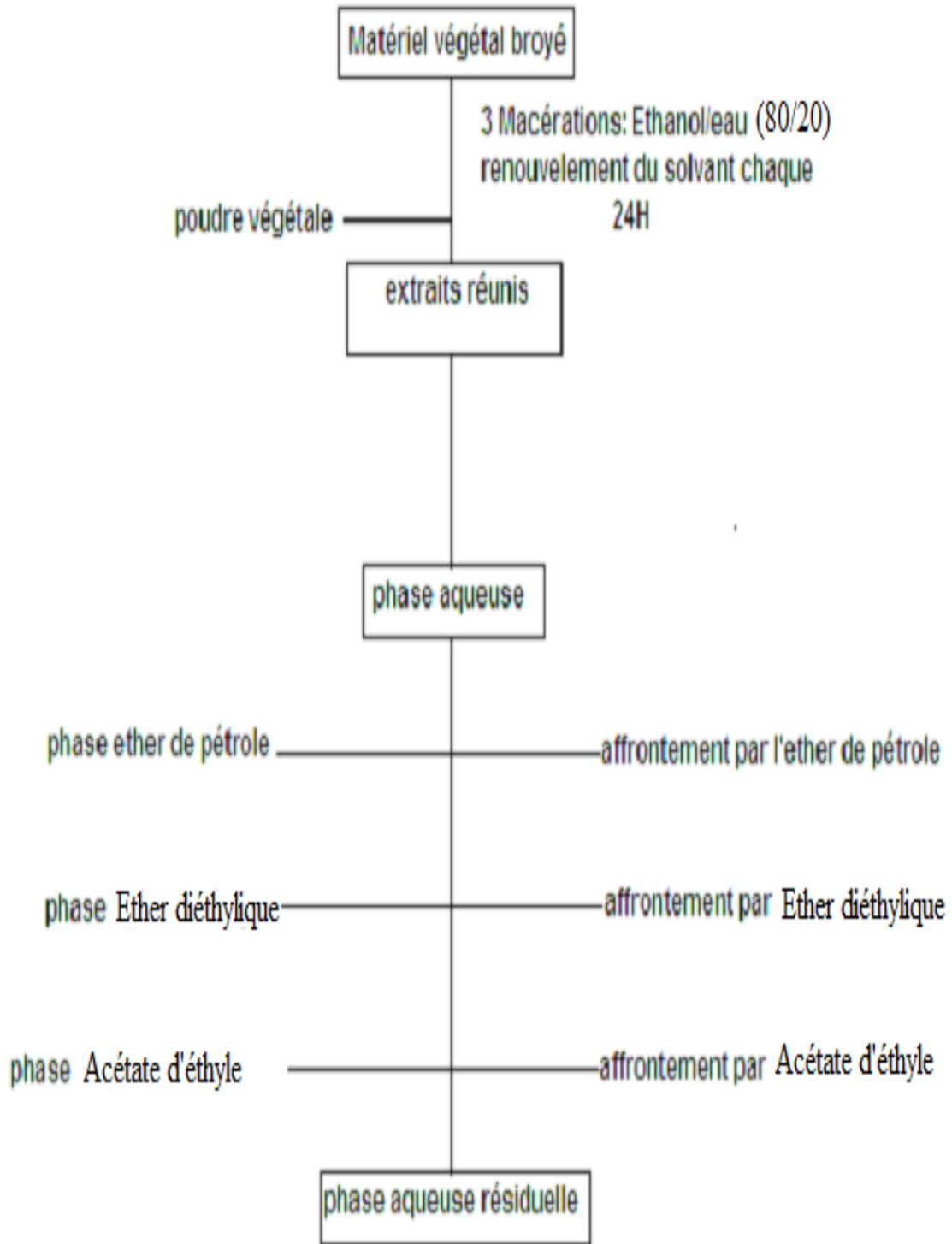


Figure 19 : Protocole d'extraction des flavonoïdes

4/Chromatographie analytique sur couche mince :

4-1/ Principe :

Cette méthode se repose sur la séparation des différents constituants d'un extrait selon leur force de migration dans la phase mobile qui est en général un mélange de solvants adaptés au type de séparation recherché, et leur affinité vis-à-vis la phase stationnaire qui peut être un gel de polyamide ou de silice. Elle nous permet d'avoir les empreintes du contenu polyphénolique et/ou flavonique de l'extrait (**Mahdjar., 2013**).

4-2/ Protocole :

La fraction est déposée sous forme de bande fine sur la plaque, qui sera placée par la suite dans une cuve muni d'un support, contenant la phase mobile. Le système solvant utilisé (**butanol / acide acétique /eau**) (**40/10/10**) est choisi après plusieurs essais. Après le développement et le séchage du chromatogramme, les bandes séparées sont marquées et délimitées dans une chambre noire sous la lumière UV à **254** et **365 nm**.

5/ Dosage des composés phénoliques :

Le dosage des polyphénols totaux à été effectué avec le réactif colorimétrique de folin-ciocalteu.

5-1/ Principe :

La teneur polyphénolique totale est habituellement déterminée colorimétriquement avec spectrophotomètre UV-VIS en utilisant d'essai de folin-demis ou généralement folin-ciocalteu. Ces essais sont basés principalement sur la réduction du réactif acide phosphotungstique phosphomolybdique (réaction de folin) dans une solution alcaline (**Vuorela., 2005**).

Brièvement des extraits ont été ajoutés à de réactif de folin-ciocalteu dilué, les solutions ont été mélangées et incubées pendant quelques minutes. Après une incubation, une solution de Bicarbonate de Sodium Na_2CO_3 a été ajoutée. Le mélange final a été secoué et puis incubé pendant 2 heures dans l'obscurité à température ambiante. L'absorbance de tous les extraits a été mesurée par un spectrophotomètre UV-Vis.

5-2/Protocol :

Le contenu des composés phénoliques de nos extraits est estimé par la méthode de Folin ciocalteu (**Adesegun et al., 2007**).

- ❖ 1ml d'extrait de l'échantillon
- ❖ 5ml du réactif de Folin ciocalteu (dilué dix fois)
- ❖ 4ml d'une solution de bicarbonate de sodium (0.7M)
- ❖ Agiter vigoureusement
- ❖ Incuber pendant 2h à une température ambiante
- ❖ Lire l'absorbance à 765 nm, le total des composés phénoliques est déterminé selon

l'équation suivante $T=C.V/M$

T : Représente le total des composés phénoliques (g Equivalent Acide Gallique / 100 g de matière sèche de la plante)

C : Concentration d'extrait éthanolique équivalente à l'acide tannique, obtenue à partir de la courbe d'étalonnage (mg/ml)

V : le volume d'extrait éthanolique (ml)

M : poids de la matière sèche de la plante (g).

5-3/ Expression des résultats :

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage, établie avec le standard étalon l'acide gallique et exprimée en microgrammes d'équivalents d'acide gallique par gram d'extrait sec de la plante ou 100 g de la matière sèche de la plante.

6/ Dosage des flavonoïdes :

La méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans nos extraits.

6-1/ Protocole du dosage des flavonoïdes par AlCl_3 :

Les flavonoïdes contenus dans les extraits éthanoliques du (*Crataegus monogyna*) sont estimés par la méthode d' AlCl_3 (Ayoola *et al.*, 2008).

- ❖ 1ml d'une solution éthanolique d' AlCl_3 (2%) est rajouté à 1ml de l'extrait de la plante.
- ❖ Après 30 minutes d'incubation à une température ambiante, l'absorbance du mélange est lue à 420 nm, la quercétine est utilisée comme un standard, la quantité des flavonoïdes est estimée en g Equivalent Quercétine /100g de matière sèche de la plante.

6-2/ Expression des résultats :

La quantification des flavonoïdes a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y=ax+b$) réalisé par standard étalon la quercétine à différentes concentrations (0.01-0.1 mg/ml) dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en g d'équivalent de quercétine par 100 grams de matière sèche de la plante.

7/ Activité antioxydante des extraits hydroalcoliques

Les antioxydants naturels sont présents dans l'alimentation ; pour la plupart se sont des composés phénoliques qui possèdent au moins un noyau aromatique, contenant un ou plusieurs substituants, en effet cette propriété antioxydante est en relation directe avec la structure de ces molécules (Cosio *et al.*, 2006). La surproduction des radicaux libres dans l'organisme et le déficit du système de défense endogène peuvent engendrer de diverses pathologies ; cancer, vieillissement....etc.

Actuellement, La recherche vise à renforcer ces défenses endogènes par des substances naturelles issues des plantes, qui sont douées des propriétés antiradicalaires. Le radical libre DPPH a permis l'estimation de l'activité antioxydante des composés isolés et identifiés, dont le DPPH est un radical synthétique de couleur violette qui vire vers le jaune quand il est capté par les produits flavoniques testés. L'intensité de la couleur jaune reflète la capacité antiradicalaire de la molécule, et dépend de la nature, la concentration et la puissance de cette molécule. (Madi., 2010).

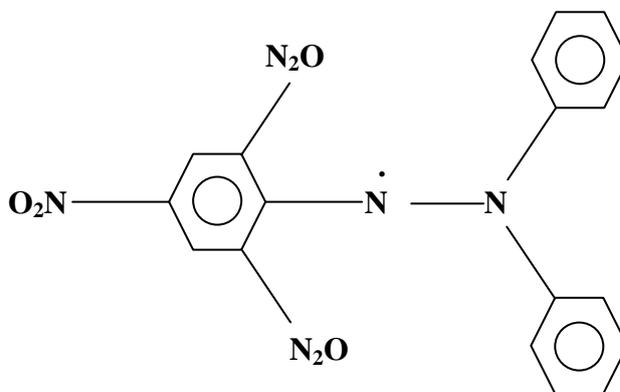
7-1/ Test au DPPH :

C'est une activité du balayage des radicaux libre qui a été mesurée en employant le radical libre stable DPPH ($C_{18}H_{12}N_5O_6$), c'est l'un des principaux essais employés pour explorer l'utilisation des extraits d'herbe comme antioxydants (Markowicz *et al.*, 2007).

7-2/ Principe :

En présence des piègeurs de radicaux libre, le DPPH 2.2 diphenyl 1 picryle hydrazyl de couleur violette se réduit en 2.2 diphenyl 1 picryl hydrazine de couleur jaune (Maataoui *et al.*, 2006).

Forme libre du DPPH



Forme réduite du DPPH

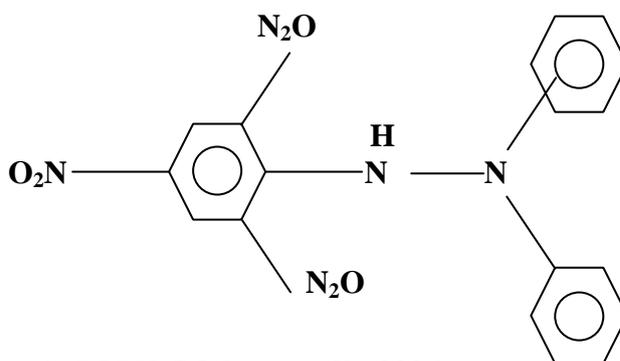
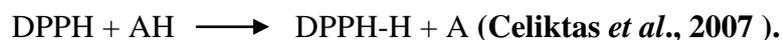


Figure 20 : Forme réduite et libre du DPPH (Mohammedi., 2006)



L'activité antiradicalaire de ces extraits est mesurée selon la méthode décrite par (ES –Safi et al., 2007).

- 2.5ml de l'extrait à tester
- 2.5ml d'une solution méthanolique de DPPH (0.004%)
- La densité optique DO est mesurée par le spectrophotomètre SHIMADZU à 517 nm, après 30 minutes d'incubation à une température ambiante et à l'obscurité, la décroissance de l'absorbance est convertie en pourcentage d'activité Scavenger selon l'équation suivante :

$$\text{Activité Scavenger (\%)} = (\text{A contrôle} - \text{A échant} / \text{A contrôle}) \times 100$$

A contrôle : Absorbance du contrôle

A échant : Absorbance des flavonoïdes testés



Chapitre 04 : Résultats et discussions

1/ Les résultats du screening phytochimique

Les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles de composés existantes dans les feuilles et les fleurs de *Crataegus monogyna* par des réactions qualitatives. La détection de ces composés chimiques est basée sur des réactions de précipitation et de turbidité, un changement de couleur spécifique ou un examen sous la lumière ultraviolette. Les tests de caractérisation phytochimique, réalisés sur les différents extraits contenant des substances naturelles, ont donné les résultats que nous présentons dans le tableau et les figures ci-dessous.

Tableau 09 : Résultats des réactions de caractérisation des principaux métabolites secondaires contenus dans les feuilles et les fleurs de *Crataegus monogyna*

Composés recherchés	Feuilles de <i>Crataegus monogyna</i>		Fleurs de <i>Crataegus monogyna</i>	
	Présence/absence	Coloration	Présence/absence	Coloration
Flavonoides (flavan3,4diols)	++	Rouge	+++	Rouge pourpre
Flavonoides (flavonols et flavanone)	+++	Rouge violacée	+++	Rouge pourpre
Tannins (test de Gélatine)	+++	Forte précipitation	+	Précipitation
Tannins (test de FeCl₃)	+++	Vert noir	++	Vert
Quinones	-	/	-	/
Coumarines	++	Bleue	+++	Bleue
Anthraquinones	-	/	-	/
Alcaloïdes (test de Mayer)	+	Jaune orangée + précipitation	++	Blanche jaune + précipitation
Alcaloïdes (test de Dragendroff)	++	Orange + précipitation	+++	Orange + précipitation

(-) Résultat négatif, (+) Résultat faiblement positif, (++) Résultat positif, (++++) Résultat fortement positif.

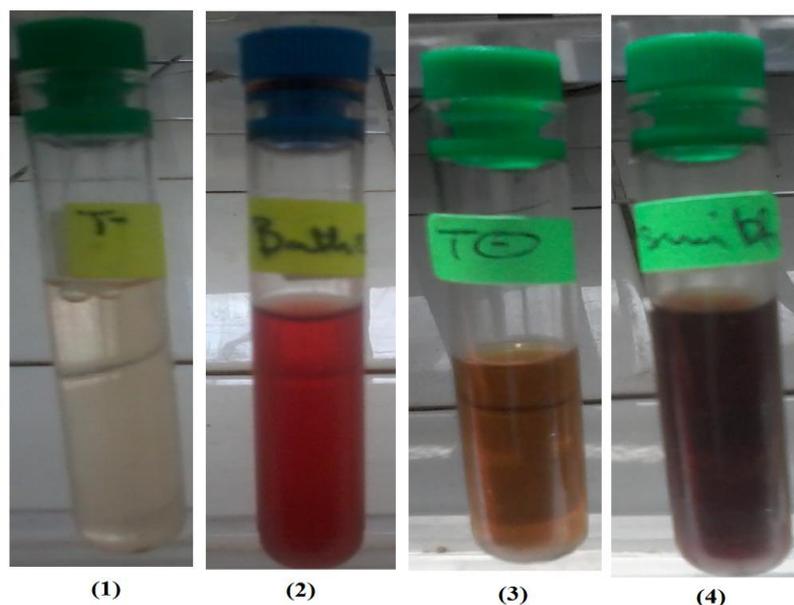


Figure 21 : Résultats de screening phytochimique des flavonoïdes (test de Bath-Smith) type, flavan3,4 diols chez les feuilles et les fleurs de *Crataegus monogyna*. (1) : témoin négatif, (2) : extraits hydroalcoolique de fleurs, (3) : témoin négatif, (4) : extrait hydroalcoolique de feuilles.

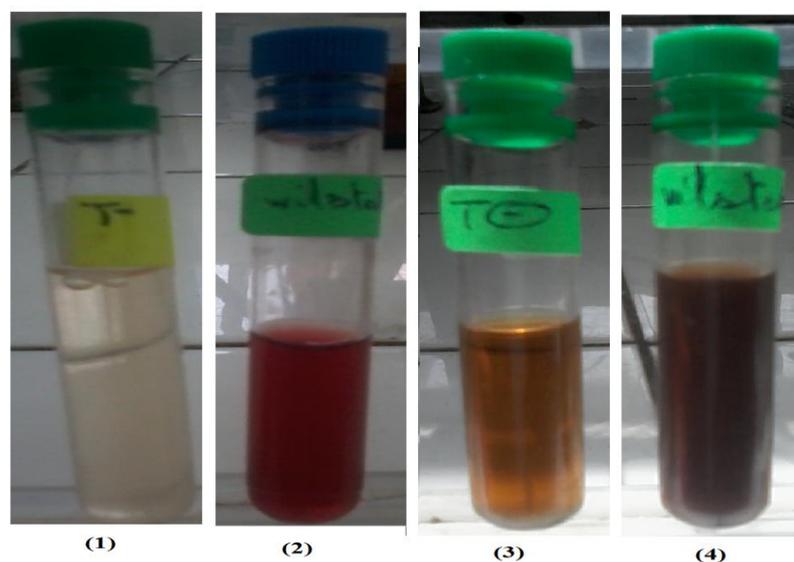


Figure 22 : Résultats de screening phytochimique des flavonoïdes (test de Wilstater) type, flavonols et flavanones chez les feuilles et les fleurs de *Crataegus monogyna*. (1) : témoin négatif, (2) : extraits hydroalcoolique de fleurs, (3) : témoin négatif, (4) : extrait hydroalcoolique de feuilles.

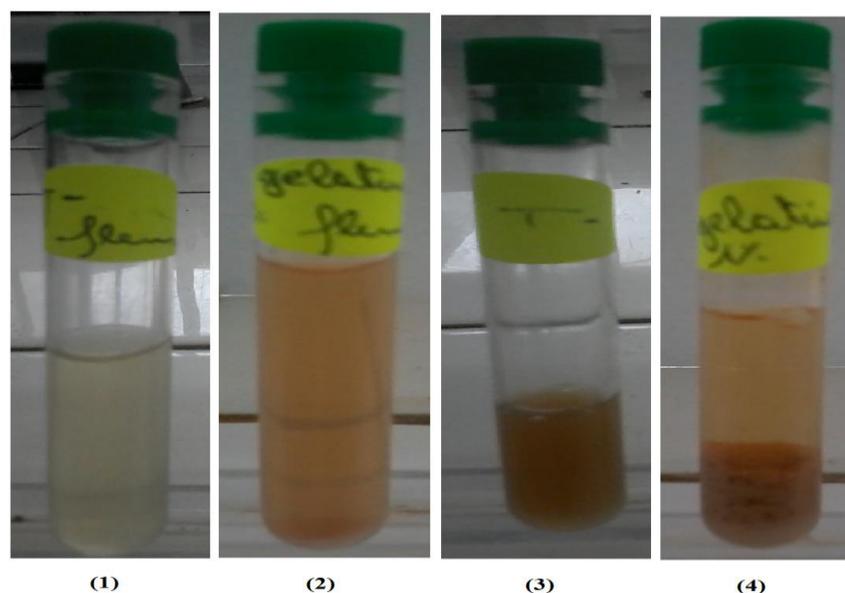


Figure 23 : Résultats de screening phytochimique des tannins (test de Gélatine 1%) chez les feuilles et les fleurs de *Crataegus monogyna*. (1) : témoin négatif, (2) : extraits hydroalcoolique de fleurs, (3) : témoin négatif, (4) : extrait hydroalcoolique de feuilles.

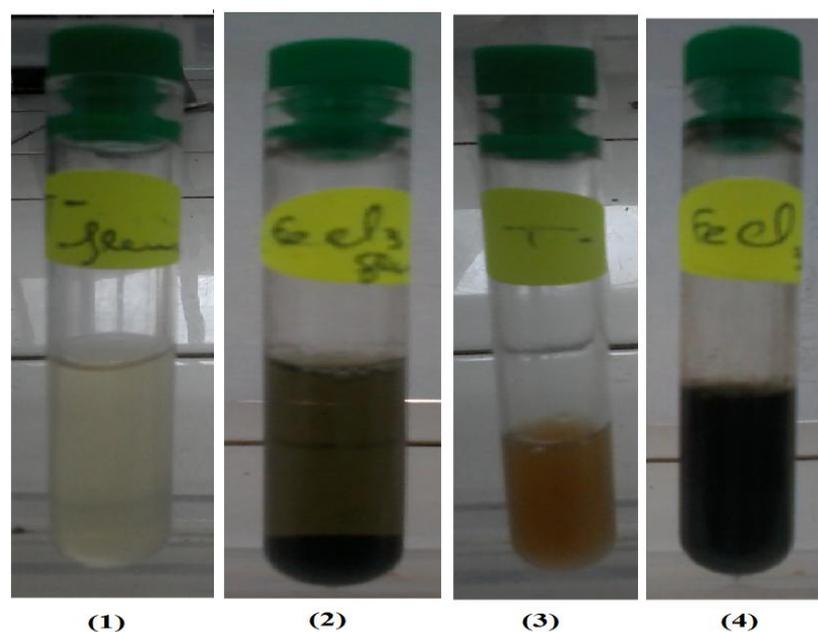


Figure 24 : Résultats de screening phytochimique des tannins (test de FeCl_3) chez les feuilles et les fleurs de *Crataegus monogyna*. (1) : témoin négatif, (2) : extraits hydroalcoolique de fleurs, (3) : témoin négatif, (4) : extrait hydroalcoolique de feuilles.

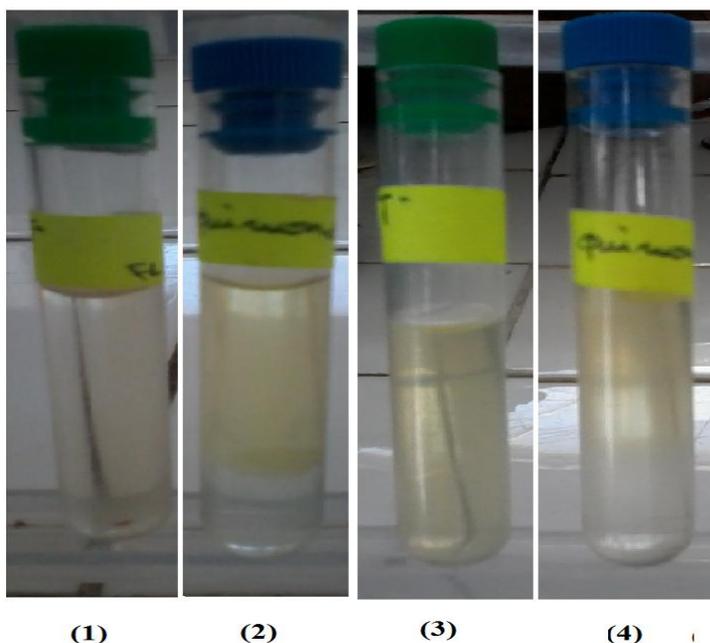


Figure 25 : Résultats de screening phytochimique des quinones chez les feuilles et les fleurs de *Crataegus monogyna*. (1) : témoin négatif, (2) : extraits étherique de fleurs, (3) : témoin négatif, (4) : extrait de feuilles.

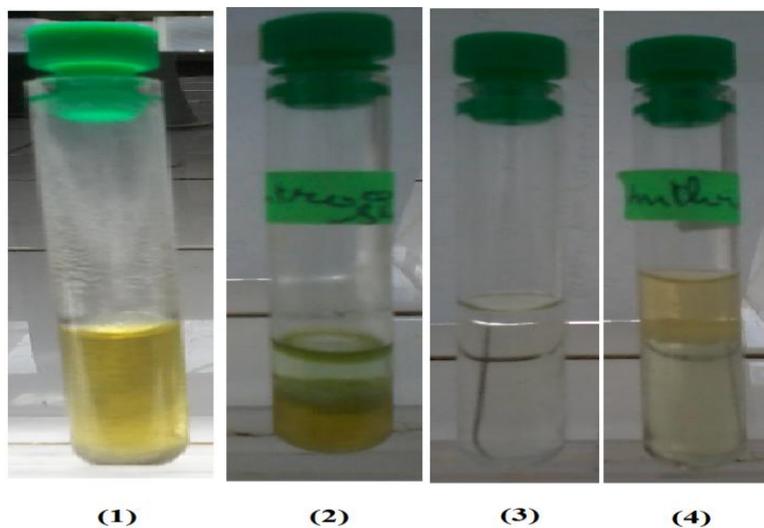


Figure 26 : Résultats de screening phytochimique des anthraquinones chez les feuilles et les fleurs de *Crataegus monogyna*. (1) : témoin négatif, (2) : extraits Chloroformique de fleurs, (3) : témoin négatif, (4) : extrait Chloroformique de feuilles.

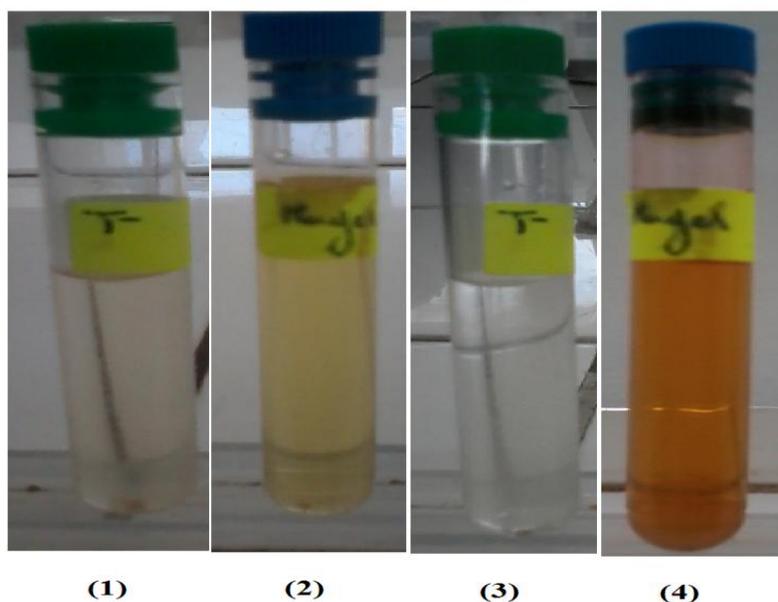


Figure 27 : Résultats de screening phytochimique des alcaloïdes (test de Mayer) chez les feuilles et les fleurs de *Crataegus monogyna*. (1) : témoin négatif, (2) : extrait sulfurique de fleurs, (3) : témoin négatif, (4) : extrait sulfurique de feuilles.

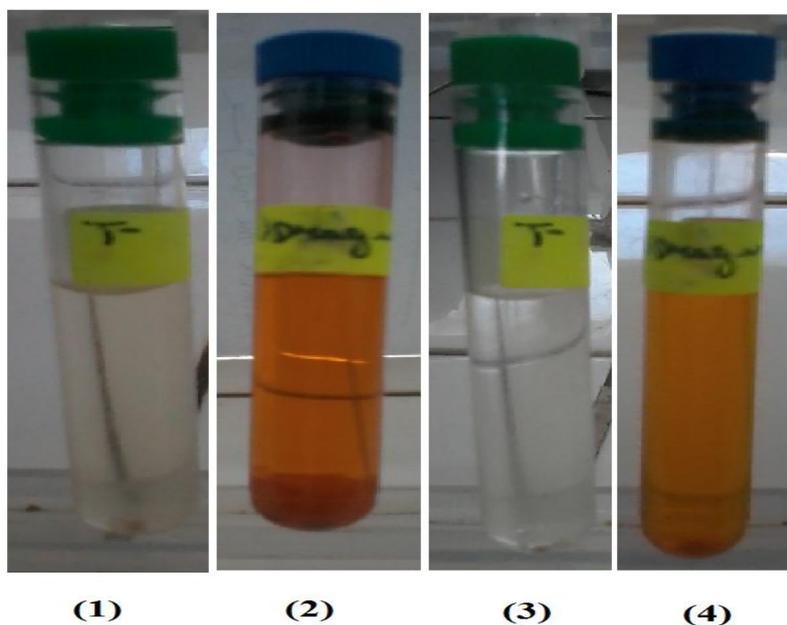


Figure 28 : Résultats de screening phytochimique des tannins (test de Dragendorff) chez les feuilles et les fleurs de *Crataegus monogyna*. (1) : témoin négatif, (2) : extraits sulfurique de fleurs, (3) : témoin négatif, (4) : extrait sulfurique de feuilles.



Figure 29 : Résultats du screening phytochimique des coumarines sur la plaque de Silice.

D'après les résultats du screening phytochimique nous constatons que :
Aucun de nos extraits ne contient ni de quinones ni d'anthraquinones, tandis que ces même extraits des feuilles et des fleurs de *Crataegus monogyna* contiennent des flavonoïdes types flavan3,4diols, flavonols, flavanones, des tannins et des coumarines en quantités très importantes par rapports aux autres métabolites secondaires. Nous avons aussi noté la présence des alcaloïdes en quantités importantes dans l'extrait des fleurs plutôt que dans celui des feuilles. Ces résultats confirment que les substances chimiques détectées dans les extraits hydroalcooliques des feuilles et des fleurs de *Crataegus monogyna* sont conformes aux travaux de (Bouzid., 2009) qui ont constaté la présence des flavonoïdes, des tanins et des coumarines dans cette plante.

2/ Extraction :

La présente étude a pris les feuilles et les fleurs de *Crataegus monogyna* comme matériel végétal, après une macération, extraction, évaporation, les macéras sont soumis à une décantation à froid pour les partitions entre solvants. Les fractions aqueuses sont soumises à des affrontements par l'éther de pétrole, l'éther diéthylique, acétate d'éthyle, après évaporation à sec on a obtenu les phases suivantes :

- ❖ **Phase Ether de pétrole** : l'intérêt de l'utilisation de l'éther de pétrole est d'éliminer les pigments chlorophylliens, caroténoïdes et les lipides ; et tous les composés non phénoliques ainsi que toutes les impuretés.
- ❖ **Phase Ether diéthylique** : permet de retenir les composés phénoliques simples tels que les acides phénols et les flavones lipophyles.
- ❖ **Acétate d'éthyle** : entraîne les aglycones, les mono-O-glycosides et partiellement les di-O-glycosides.

Les extraits des trois phases des feuilles et des fleurs de *Crataegus monogyna* sont repris avec un petit volume du méthanol pour le diagnostic du CCM, et pour l'étude d'une activité biologique importante ; activité antioxydante vis-à-vis du radical libre DPPH.

3/ La chromatographie sur couche mince (CCM) :

Les extraits des phases acétate d'éthyle, éther diéthylique et aqueuse ont été choisis car ils soutiraient plus de flavonoïdes, les chromatogrammes contenant les différents spots visualisés sous UV à 254 nm et 365 nm et leurs Rf sont présentés dans les figures et les tableaux ci-dessous.

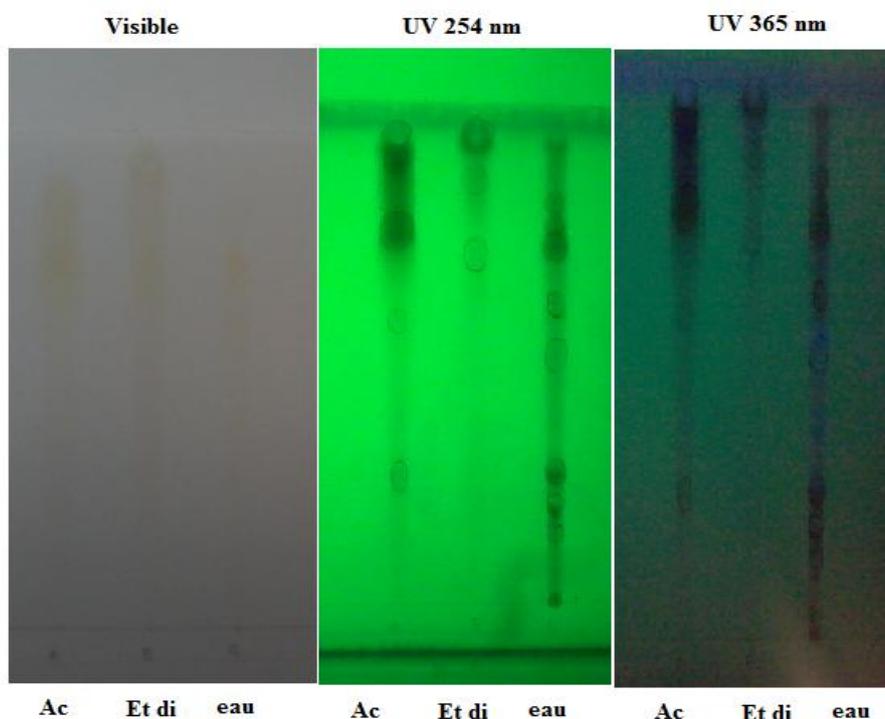


Figure 30 : CCM analytique représentative des flavonoïdes des feuilles de *Crataegus monogyna* développée dans le système solvant (**butanol / acide acétique /eau**) (40/10/10) ml Ac : Phase acétate d'éthyle, Et di : Phase Ether diéthylique, Eau : Phase eau.

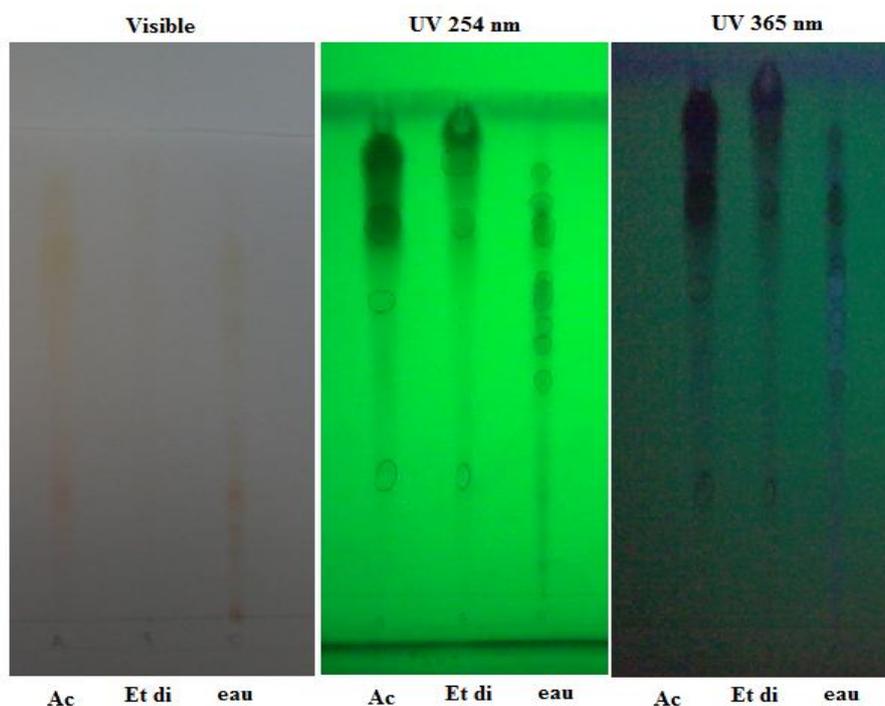


Figure 31: CCM analytique représentative des flavonoïdes des fleurs de *Crataegus monogyna* développée dans le système solvant (**butanol / acide acétique /eau**) (40/10/10) ml. Ac : Phase acétate d'éthyle, Et di : Phase Ether diéthylique, Eau : Phase eau.

Tableau 10 : comportement chromatographique des phases Acétate d'éthyle, Ether diéthylique, aqueuse des feuilles et des fleurs de *Crataegus monogyna* sur plaque de Silice dans le système solvant (**butanol / acide acétique /eau**) (40/10/10) ml .

Feuilles					
Phase Acétate d'éthyle		Phase Ether diéthylique		Phase aqueuse	
Coloration de spot à 365nm	Rf	Coloration de spot à 365nm	Rf	Coloration de spot à 365nm	Rf
/	-	/	-	Noir	0,13
/	-	/	-	Noir	0,19
Gris	0,25	/	-	Noir	0,25
Gris	0,55	/	-	Bleu violacé	0,49
/	-	/	-	Bleu	0,59
/	-	Gris	0,69	/	-
/	-	/	-	Gris	0,71
Noir	0,74	Gris	0,84	Violet	0,75

Noir	0,94	Aubergine	0,93	noir	0,79
Fleurs					
Phase Acétate d'éthyle		Phase Ether diéthylique		Phase aqueuse	
Coloration de spot à 365nm	Rf	Coloration de spot à 365nm	Rf	Coloration de spot à 365nm	Rf
Gris	0,23	Gris	0,22	Gris	0,42
/	-	/	-	Bleu	0,49
/	-	/	-	Bleu	0,53
Gris	0,57	/	-	Bleu	0,59
/	-	/	-	Bleu	0,62
Noir	0,73	Gris	0,73		0,72
Noir	0,84	/	-		0,77
Violet	0,92	Noir	0,87	Gris	0,83
Aubergine	0,93	Aubergine	0,93	/	-

Rf : rapport frontale qui correspond au rapport de la distance parcourue par une molécule sur la distance parcourue par la phase mobile c'est-à-dire le front du solvant.

Cette technique nous informe sur le contenu en polyphénols et en particulier en flavonoïdes des phases analysées, dont les extraits correspondants sont analysés par la CCM sur plaque de Silice en présentant sous UV à 254 nm et 365nm des taches sombres de couleur allant du bleu, violet ou violet aubergine, ce qui dévoile la richesse de nos extraits en composés phénoliques et particulièrement en flavonoïdes. La couleur violette-sombre (Aubergine) nous permet de supposer que ce sont principalement des flavonoïdes de type flavones (Lahouel., 2004).

Selon Paris et Moysé en 1976, dans le système BAW (butanol/acide acétique/eau) (40/10/10), les spots dont les Rf sont inférieurs à 0,5 pourraient être des flavonoïdes. Et comme nous avons utilisé le système solvant BAW on peut dire que les feuilles et les fleurs de *Crataegus monogyna* sont riches en flavonoïdes

4/ Dosage des polyphénols totaux :

L'estimation quantitative des polyphénols totaux en équivalent d'acide gallique, des extraits hydroalcooliques des feuilles et des fleurs de *Crataegus monogyna* a été réalisée par la méthode de Folin Ciocalteu (Adesegun *et al*, 2007). L'acide gallique a été utilisé comme

standard pour tracer une courbe d'étalonnage à des concentrations allant de 0 à 0.1 mg/ml. Les quantités des polyphénols correspondantes ont été rapportées en gram équivalent de l'étalon utilisé par 100 gramme de la matière sèche de la plante (g Equivalent Acide Gallique / 100 g de matière sèche de la plante) déterminés par l'équation de type $y = ax+b$.

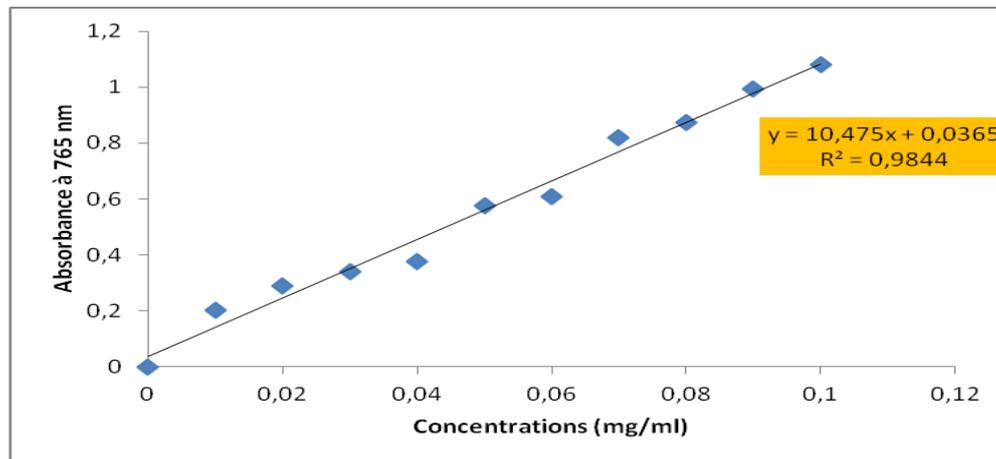


Figure 32: La courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Selon les résultats on distingue que les extraits hydroalcooliques des feuilles et des fleurs de *Crataegus monogyna* sont très riches en composés polyphénoliques dont les teneurs obtenus sont :

- ✓ 0.146± 0,033 g équivalent acide gallique/100 g de matière sèche des fleurs de la plante pour l'extrait hydroalcoolique des fleurs de *Crataegus monogyna*.
- ✓ 1.01± 0,010 g équivalent acide gallique/100 g de matière sèche de feuilles de la plante pour l'extrait hydroalcoolique de *Crataegus monogyna*.

En effet, la teneur en polyphénols n'est pas stable, et se diffère d'une plante à une autre et aussi entre les fleurs et les feuilles de la même plante, ce qui est le cas de *Crataegus monogyna*. Le contenu polyphénolique varie qualitativement et quantitativement d'une plante à une autre et d'un organe à un autre, cela peut être dû à plusieurs facteurs : facteurs climatiques, patrimoine génétique, le stade de développement de la plante et son degré de maturation, la période de sa récolte, la durée de stockage, la méthode d'extraction et la méthode de quantification des composés d'intérêt biologique (Aganga, 2001 ; Pedneault *et al.*, 2001 ; Fiorucci, 2006).

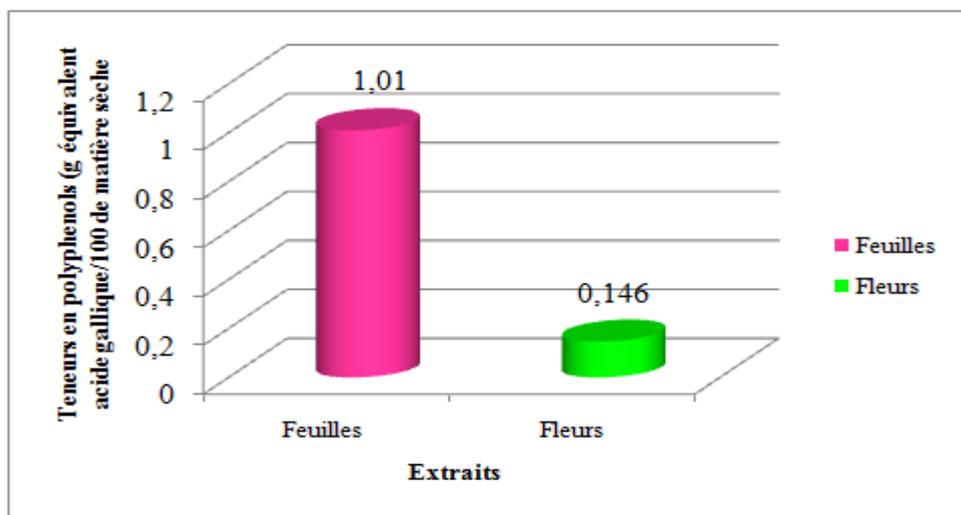


Figure 33 : Teneur en polyphénols des extraits hydroalcooliques des feuilles et des fleurs de *Crataegus monogyna*.

5/ Dosage des flavonoïdes :

Le dosage des flavonoïdes totaux a été réalisé selon la méthode au trichlorure d'aluminium (Ayoola *et al.*, 2008). Les quantités des flavonoïdes correspondantes ont été rapportées en gramme équivalent de Quercétine par 100 gramme de matière sèche de la plante (g Eq Q/100 g) déterminées par l'équation de type $y = ax + b$.

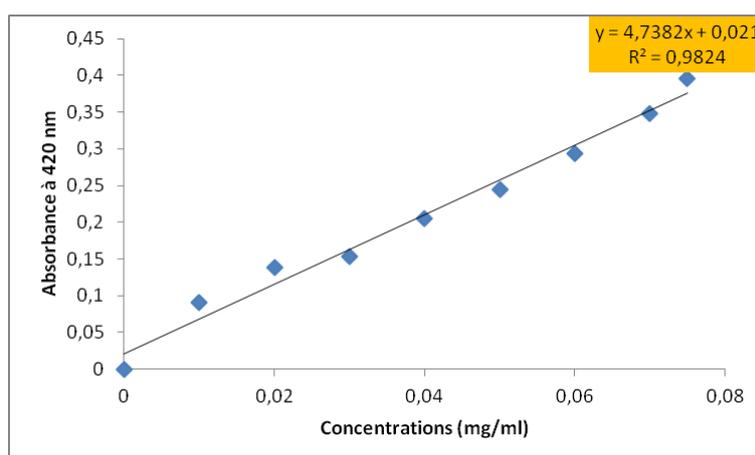


Figure 34 : La courbe d'étalonnage de la quercétine.

La teneur en flavonoïdes des extraits hydroalcooliques des feuilles et des fleurs de *Crataegus monogyna* en terme de Quercétine équivalent est de $(0.028 \pm 0,001 \text{ g EqQ} / 100\text{g})$ pour les fleurs et de $(0.68 \pm 0,011 \text{ g Eq} / 100\text{g})$ pour les feuilles. D'après ces résultats on

constate que les feuilles de *Crataegus monogyna* sont plus riches en composés polyphénoliques et en flavonoïdes que les fleurs de la même plante. La faible spécificité du réactif de Folin-Ciocalteu est l'inconvénient principal du dosage colorimétrique, cependant Nazck et Shahidi, 2004 explique que le réactif du Folin ciocalteu est un réactif non spécifique est extrêmement sensible à la réduction de tous les groupes d'hydroxyles non seulement celles des composés phénoliques, mais également de certains sucres, protéines et même des acides organiques. (Ali *et al*, 2014)

La teneur de flavonoïdes de l'extrait hydroalcoolique des feuilles de *Crataegus pinnatifida*, rapporté par (Yoo *et al*, 2008) In (Bouزيد, 2009) est équivalent à 4.07 mg Eq/g sont plus faibles par rapport à nos résultats, toutefois il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie car l'utilisation de différentes méthodes d'extraction réduit la fiabilité d'une comparaison entre les études.

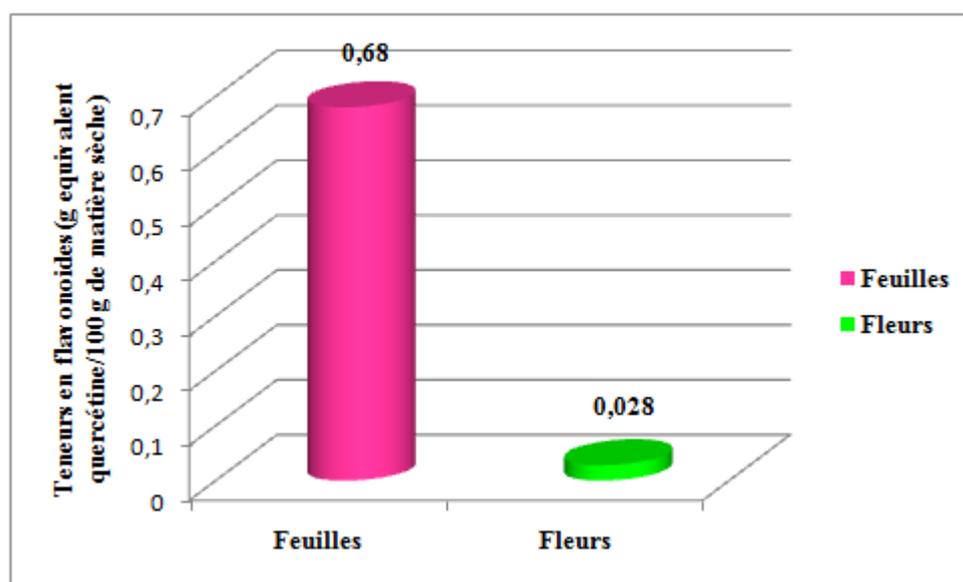


Figure 35 : Teneur en flavonoïdes des extraits hydroalcooliques des feuilles et des fleurs de *Crataegus monogyna*.

6/ Test de l'activité antiradicalaire :

L'activité antioxydante de *Crataegus monogyna* vis-à-vis du radical libre DPPH a été évaluée spectrophotométriquement à 517 nm en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune. Les résultats du pourcentage de l'activité antioxydantes des phases Ether diéthylique (ED) et Acétate d'éthyle (AE) des feuilles et des fleurs de *Crataegus monogyna* vis - à - vis du radical libre DPPH sont illustrés dans le tableau et les figures ci-après :

Tableau 11 : Pourcentage de l'activité antioxydante des phases Ether diéthylique (ED) et Acétate d'éthyle (AE) des feuilles et des fleurs de *Crataegus monogyna* vis - à - vis du DPPH.

Concentrations	ED (fleur)	AE (Fleur)	ED (Feuille)	AE (Feuille)
1mg/ml	87,18 %	76,30 %	73,17 %	72,42 %
5mg/ml	89,26 %	87,91 %	80,04 %	98,59 %

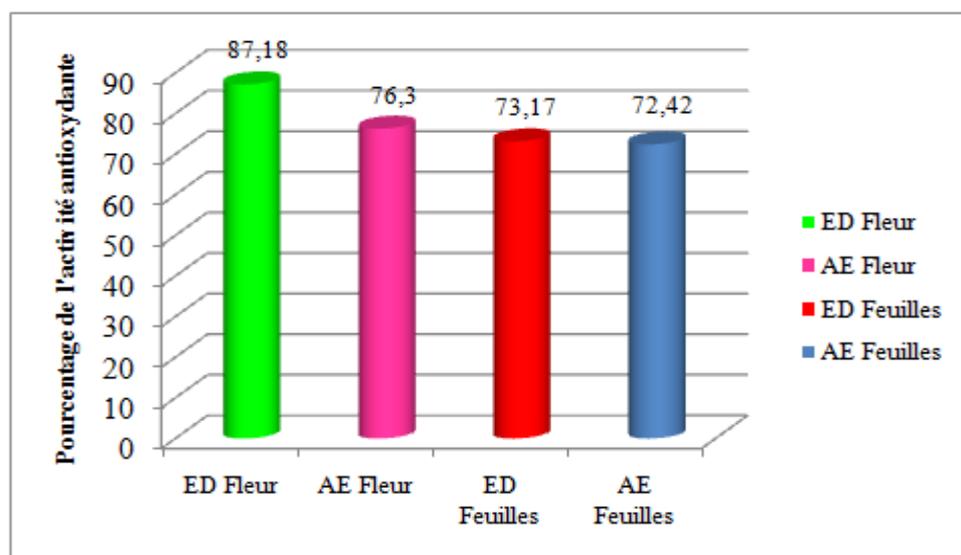


Figure 36 : Pourcentage de l'activité antioxydante des phases Ether diéthylique (ED) et Acétate d'éthyle (AE) à une concentration de 1 mg/ml des feuilles et des fleurs de *Crataegus monogyna* vis - à - vis du DPPH.

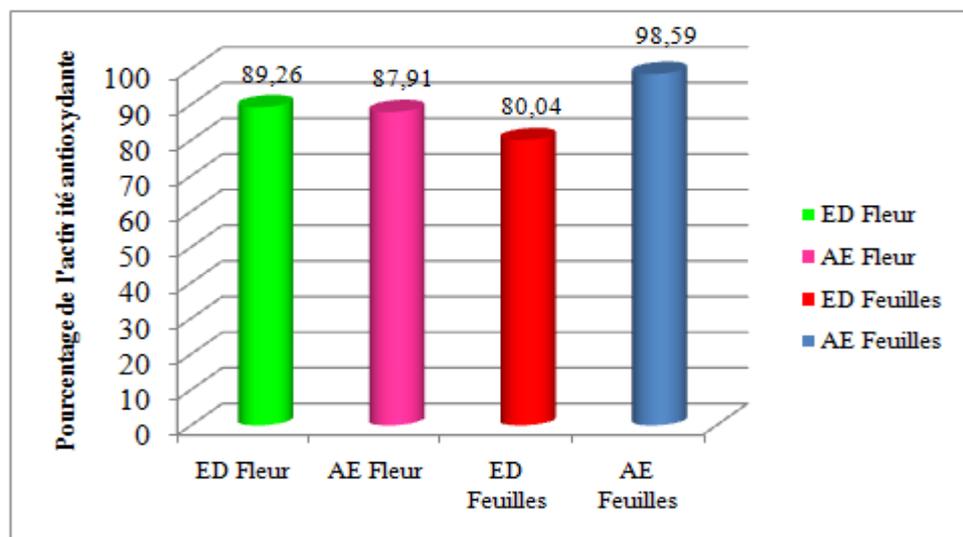
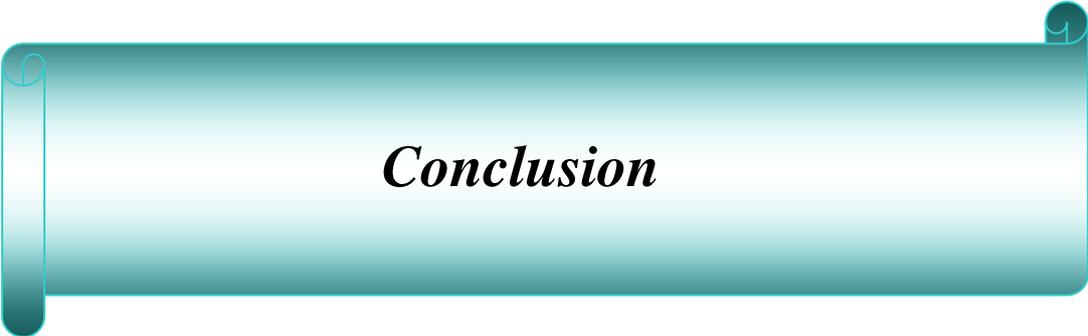


Figure 37 : Pourcentage de l'activité antioxydante des phases Ether diéthylique (ED) et Acétate d'éthyle (AE) à une concentration de 5 mg/ml des feuilles et des fleurs de *Crataegus monogyna* vis - à - vis du DPPH.

Les résultats de l'activité antioxydante ont montré que les phases Ether diéthylique (ED) et Acétate d'éthyle (AE) des feuilles et des fleurs de *Crataegus monogyna* avaient montrés de hautes valeurs de l'activité antioxydante : allant de 89 % à 87 % pour la concentration des fleurs et de 80% à 98% pour la concentration des feuilles, on suppose que les extraits présentant plus d'activité antioxydante sont plus riches en composé flavoniques doués d'une activité de piégeage des radicaux libres dont cette activité est strictement liée à la structure du composé flavonique lui-même dont de nombreuses études ont établi la relation entre la structure et l'activité antiradicalaire des flavonoïdes (**Amic et al.,2003 ; Marfak, 2003 ; Sokol-Letowska, 2007**) cette structure nécessite trois critères :

- 1/ La structure ortho-dihydroxy sur le cycle B
- 2/ La double liaison C2-C3 en conjugaison avec la fonction 4-oxo
- 3/ La présence du groupement OH en position 3 et 5 en combinaison avec la double liaison C2-C3 qui donne une activité antiradicalaire maximale.



Conclusion

Conclusion :

Les substances naturelles occupent de plus en plus une place importante de choix en thérapeutique. En effet, les plantes médicinales constituent de véritables usines chimiques dont il faut tirer le maximum de profit.

Le présent travail a porté sur l'étude qualitative, quantitative et biologique des extraits hydroalcooliques des feuilles et des fleurs de *Crataegus monogyna* (Aubépine monogyne). Le criblage phytochimique basé sur des tests spécifiques a permis de caractériser les flavonoïdes, les tanins, les coumarines, les alcaloïdes et les anthraquinones, ces métabolites secondaires ont de grandes valeurs thérapeutiques. L'analyse qualitative des extraits par CCM suppose la présence probable des flavonoïdes type flavonols, ces molécules sont considérées comme les composés antioxydants les plus actifs de la famille des flavonoïdes. L'estimation quantitative des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux dans les extraits analysés montre que sont les plus riches en ces métabolites.

L'activité antioxydante des extraits hydroalcooliques des feuilles et des fleurs de *Crataegus monogyna*, vis-à-vis du radical libre DPPH révèle que les organes sélectionnés de cette plante possèdent un grand pouvoir antioxydant.

Ces résultats restent préliminaires, il serait donc intéressant de poursuivre les investigations sur cette plante d'intérêt en se focalisant sur la phase Acétate d'éthyle et la phase Ether diéthylique, les plus riches en composés polyphénoliques et flavoniques, et de faire le fractionnement et l'isolement des substances qui peuvent être responsables de diverses activités détectées. De plus, il est indispensables de réaliser des études complémentaires et plus approfondies concernant l'identification des composés polyphénoliques en général et des flavonoïdes en particulier, par l'utilisation des méthodes plus performantes comme HPLC, MS.....ect, et de déterminer de nouvelles molécules bioactives naturelles ayant la capacité de répondre aux différents problèmes de la santé et d'être un alternatif des médicaments synthétiques.



Les références bibliographiques

1. **Adesegun S.A., Fajana A., Orabueze C.I., Coker H.A.B.** Evaluation of Antioxidant Properties of *Phaulopsis Fascisepsepala* CBCI (*Acantaceae*). **2007**. *Oxford Journal*. 6 : 227-213.
2. **Aganga A.A., Mosase K.W.** Tannins content, nutritive value and dry matter digestibility of *Lonchocarpus capussa* , *Ziziphus mucropata*, *Sclerocarya birrea*, *Kirkia acuminata* and *Rhus lancea* seeds. **2001**. *Animal Feed Science and Technology*. 91: 107-113.
3. **Ali N.A.A., Julish W.D., Kusunick C., Lindesquist U.** Screening of yamani medicinal plant for antibacterial and cytotoxic activities. **2001**. *Journal of Ethnopharmacology*. 74:173-179
4. **Alilou H.** Etude phytochimique et antifongique de deux plantes du sud du maroc : *Asterisus graveleolens* sub sp . *Odorus* (Schousb.) Greutter et *Asteriscus imbricatus* (Cav.) DC. **2012**. Thèse de doctorat. Université d'Agadir.
5. **Amic D., Davidic-Amic D., Beslo D., Trinajstic.** Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids. **2003**. *CROATICA CHEMICA ACTA CCACAA*. 76 (1) : 55-61.
6. **Anderson C.M., Hallberg A., Hogberg T.** Advances in the developpement of pharmaceutical antioxidant drug. **1996**. *Food Chemistry*. 28: 65-180.
7. **Anonyme 1** https://en.wikipedia.org/wiki/Crataegus_monogyna.
8. **Anonyme 2** <http://www.tela-botanica.org/bdtfx-nn-19472-nomenclature>.
9. **Anonyme 3** <https://fr.wikipedia.org/wiki/Coumarine>.
10. **Ayoola GA., Coker HAB., Adesegun SA., ADepeoju-Bello K Obaweya., Ezennia EC ., Atangbayila To.** Phytochemical Screening and Antioxidant Activities of some selected Meedicinal plants used For Malaria Therapy in southwestern Nigeria. **2008**. *Tropical journal of pharmaceutical research*. 7(3) : 1019-1024.

11. **Babar Ali M., Hahn E.J., Paek K.Y.** Methyl Jasmonate and Salicylic Acid Induced Oxidative Stress and Accumulation of Phenolics in *Panax ginseng* Bioreactor RootSuspension Cultures. **2007.** *Molecules.* 12: 607 -621.
12. **Bahorun T.** Substances naturelles actives, la flore mauricienne, une source d’approvisionnement potentielle. **1997.** *Food and Agricultural Research.* Conseil Mauritus, Amas.
13. **Bahorun T., Grinier B., Trotin F., Brunet G., Pin T., Luncky M., vasseur J., Cazin M .,Cazin C et Pinkas M.** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from Hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. **1996.** *Arzneimittel-Forschung.* 46(11):1086-1089.
14. **Baricevic D., Sosa S., Della L.R., Tubaro A., Simonovska B., Krasna A., Zupancic A.** Topical anti-inflammatory activity of *Salvia officinalis* L. leaves: the relevance of ursolic acid. **2001.** *Journal of Ethnopharmacology.* 75:125–132.
15. **Benayache S., Benaissa O., Amrani A., Bicha S., Zama D., Benayache F., Marchioni E.** Free radical scavenging action of phenolic compounds from *Limonium Bonuelli* (Plumbaginaceae). **2013.** *Scholars Research Library Der Pharmacia Lettre.* 5(5):234-240.
16. **Benbrook C. M.** Elevating Antioxidant Levels in Food Through Organic Farming and Food Processing. **2005.** The Organic Center.
17. **Benkhadimalleh R et Kismoun S.** Etude phytochimique et biologique de la plante *stureja calamintha*. **2014.** Mémoire du Master Université de constantine-1.
18. **Bensalah F.** Contribution à l’étude Phytochimique et l’effet hémolytique de l’extrait brut hydroalcoolque de la partie aérienne de *Marrubium vulgare L.* **2014.** Mémoire de Master University Abou Bakr Belkaid -Tlemcen.
19. **Bloor Bloor, J.M.G.** Effects of light on the performance of shade - tolerant tropical rainforest tree seedlings. **2001.** PhD thesis. University of Cambridge, Cambridge.

- 20. Boudiaf K.** Etude des effets anti-xanthine oxydoreductase et anti-radicalaires des extraits des graines de *Nigella sativa*. **2006.** Mémoire de magister –Université de Sétif.
- 21. Boudjouref.** Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. **2011.** Mémoire de magister Université Farhat Abbes - Sétif.
- 22. Boudraa S.** Etude de la fraction minérale et vitaminique des fruits de *Celtis australis* L., *Crataegus azarolus* L., *Crataegus monogyna* Jacq., *Elaeagnus angustifolia* L. et *Ziziphus lotus* L. **2008.** Mémoire de magister. Université el Hadj Lakhdar. Batna.
- 23. Bourgaud F., Gravot A., Milesi S., Gontier E.** Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. **2001.** *Plant Science.* 161:839-851
- 24. Bouzid W.** Etude de l'activité Biologique des extraits du fruit de *Crataegus monogyna jacq.* **2009.** Mémoire de Magister. Université Elhadj Lakhder -Batna.
- 25. Bruneton J.** Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales. **1993.** 2ème édition Tec et Doc (Ed) Paris. p 914.
- 26. Bruneton J.** Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales. **1999.** 3ème édition, Tec et Doc (ED) Paris, 658p.
- 27. Bruneton J.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. **2009.** 4 ème ed., revue et augmentée, Paris France : T Tec 1 Doc – Editions médicinales internationales. 1288 p.
- 28. Bruneton J.** Pharmacognosie, phytochimie des plantesmédicinales. **1999.** 3ème édition, Tec et Doc (ED). Paris, 658p.
- 29. Celiktas O.Y., Hames Kocabas E.E., Bedir E., Verdard Sucan., Ozekt., Baser K.H.C.** Antimicrobial activities of methanolic extract and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. **2007.** *Food Chemistry.* 100:553-559.

30. **Chen J.D., Wu Y.Z., Tao Z.L., Chen Z.M., Liu X.P.** Hawthorn (shan zha) drink and its lowering effect on blood lipid levels in humans and rats. **1995.** *World Review of Nutrition and Diet.* 77: 147-154.
31. **Chenni M.** Contribution à l'étude chimique et biologique de la racine d'une plante Médicinale : Bryonia dioica Jacq. **2010.** Mémoire de Magister . Université Es-senia -Oran.
32. **Chosson E. Chabond A. Chulia A . J. Raynaud, J.** Dihydroflavonol Glycosides from Rhododendron Ferrugineum. **1998.** *Phytochemistry.* 49: 1431-1433.
33. **Cosio C ., Vollenweider P., Catherine C.** Localization and effects of cadmium in leaves of a cadmium - tolerant willow (*Salix viminalis*L.) I. Macrolocalization and phytotoxic effects of cadmium. **2006.** *Environmental and Experimental Botany.* 58 (2006) : 64–74.
34. **Cottiglia F., Loy G., Garau D., Floris C., Casu M., Pompei R., Bonsignore L.** Antimicrobial evaluation of coumarins and flavonoids from the stems of *Daphne gnidium* L. **2001.** *Phytomedicine.* 8: 302–305.
35. **Dahmani S.** Utilisation des Extraits du café, du thé et la farine du caroubier pour l'obtention des nanoparticules de divers métaux. **2013.** Mémoire du Master .Université Abou Bekr Belkaid -Tlemcen.
36. **Davies J.R .** Hawthorn element books limited. **2000.** Boston, MA.
37. **Degenring F. H., Suter A., Weber M., Saller R.** 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. **2003.** *Phytomedicine.* 10 : 363–369.
38. **Dinesh K., Vikrant A., Zulfi qar A.B., Nisar A K., Deo N.P.** The genus Crataegus: chemical and pharmacological perspectives Revista Brasileira de Farmacognosia. **2012.** *Brazilian Journal of Pharmacognosy.* The genus Crataegus: chemical and Aop05712 .ISSN 0102-695X

- 39. Djahra A.B.,** Etude phytochimique et activité antimicrobienne, antioxydante, antihépatotoxique du Marrube blanc ou *Marrubium vulgare* L. **2014.** Thèse de Doctorat, Université' Annaba.
- 40. Dohou N., YamniK., Gmiran., Idrissi Hassani L.M.** Etude de polyphénols des feuilles d'une endémique ibéro Marocaine, *Thymelaea lychroides*. **2003.** *Acta Botanica Malacitana.* 29:233-239.
- 41. Es-safi R.I., Sadok A., Khalaf N., Fathallah D.M.** A strategy for high -level expression of soluble and functional human interferon alpha as a GST-fusion protein in *E. coli*. **2007.** *Protein Eng Des Sel.* 20: 201–209.
- 42. Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M., Abdelly C.** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biologicalactivities . **2008.** *C. R. Biologies.* 331: 372 -379.
- 43. Fiorucci S.** Activités biologiques de composés de la famille de flavonoïdes : approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire. **2006.** Thèse de doctorat. Université de Nice. P 211.
- 44. Fong H.s., Bauman J.L.** Hawthorn. **2002.** *Journal of Cardiovascular Nursing.* 16(4):1-8.
- 45. Ghazi.** Essai de synthèse d'un conjugué acide gallique-inuline et étude *in vitro* de leurs activités anti-oxydante et prébiotique. **2014.** Mémoire de magister. Université Mouloude Mammeri- Tizi-ouzou.
- 46. Gomez-Caravaca A.M., Gomez - Romero M., Arraez - Roman D., Segura - Carretero A., Fernandez- Gutierrez A.** Advances in the analysis of phenolic compound in products derived from bees. **2006.** *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* 41: 1220 -1234.
- 47. Gonzalez - Trujano M.E., Pena E.I., Martinez A.L., Moreno J., Guevara - Fefer P., Deciga Campos M., Lopez - Munoz F.J.** Evaluation of the antinociceptive effect of *Rosmarinus officinalis* L. using three different experimental models in rodents. **2007.** *Journal of Ethnopharmacology.* 111: 476 -482.

- 48. Guignard J.L., Cosson L., et Henry M.** Abérgé de phytochimie. **1995.** Ed Masson. Paris. Pp 138.
- 49. Hager T., Howard L.** Berry fruit phytochemicals. Berry Fruit, **2009.** CRC Press.
- 50. Hamidi A.** Etude phytochimique et activité biologique de la plante *Limoniastrum guyonianum*. **2012.** Mémoire de Magistère. Université Kasdi Merbah Ouargla.
- 51. Hammoud L.** Recherche et détermination structurale des métabolites secondaires de *Centaurea nicaeensis* ALL.Var Walliana M. (Actreraceae). Etude de la phase acétate d'ethyle de l'extrait hydro alcoolique. **2009.** Mémoire de Magister Université Mentourie -Constantine.
- 52. Harbone B.** 'Phytochemical methods: A guide to moderntechnique of plant analysis'. **1998.** Champman and Hall, London.
- 53. Hodek P., Trefil P., Stiborova M.** Flavonoids -potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. **2002.** *Chemico-Biological Interactions*. 139: 1-21.
- 54. Hollman P.C.H., Hertog M.G.L., Katanc M.B.** Analysis and health effects of flavonoids. **1996.** *Food chemistry*. 51: 43 -46.
- 55. Hu Z. Z., Narayanaswamy M., Ravikumar K. E., Vijay-Shanker K. and Wu C.H.** Literature mining and database annotation of protein phosphorylation using a rule-based system. **2005.** p 2759–2765
- 56. Huang M.T., Ferraw T.** Phenolic coumpoud in food and cancer prevention. **1991.** *Phenolic coumpounds in food and their effects on health*. 3:83.
- 57. Ignat.** Issus des alcohols : formation de depsides. **2011.** Thèse de doctorat. 220p.
- 58. Ju L.Y.** *Crataegus oxyacantha* (aubepine) in the use as herb medicine in France. **2005.** *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. 30(8): 634-640.
- 59. Kalish D.** Expression phytochimique des plantes (cas Fabaceae) face aux stress écologiques. **2014.** Thème de Licence. University de Ouargla.

- 60. Kar., Kartal N., Sokme M., Tepe B., Daferera D., Polissiou M., Sokmen A.,** Investigation of the antioxidant properties of *Ferula orientalis L.* using a suitable extraction procedure. **2007.** *Food Chemistry.* 100: 584-589.
- 61. Kashyap CP, Arya V., Thakur N.** Ethnomedicinal and phytopharmacological potential of *Crataegus* - A review. **2012.** *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine.* S 1194-S 1199
- 62. Khalfalleh A.** Etude comparative du contenu phénolique et du pouvoir antioxydant de quelques plantes médicinales et des céréales alimentaires. **2013.** Mémoire de Master. Université Constantine 1.
- 63. Khan I., Kulkari M.V., Gopal M., Shahabuddin.** Synthesis and biological evaluation of novel angularly fused polycyclic coumarins. **2005.** *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters.* 15: 3584-3587.
- 64. Kshatriya R.B., Shaikh Y.I., and Nazeruddin G.M.** Synthesis of Flavone Skeleton by Different Methods. **2013.** *Oriental Journal of Chemistry.* (4): 1475-1487
- 65. Lahouel M., Boulkour S., Segueni, N., Fillastre J.P.** The flavonoids effect against vinblastine, cyclophosphamide and paracetamol toxicity by inhibition of lipid- peroxydation and increasing liver glutation et concentration. **2004.** *Pathologie Biologie.* 52: 314-322.
- 66. Lakshmi P.B., Mahesh M., Deepthi.** Development and Validation of Nabumetone by isocratic RP- HPLC method. **2012.** *International Research Journal of Pharmaceutical.* 2 (2): 92-98.
- 67. Laure F.** Etude de la composition chimique et de la biodiversité du *Calophyllum urophyllum* de Polynésie française. **2005.** Thèse de doctorat. Université de Nice.
- 68. Laurent E.** Eléments minéraux in : Technique d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires. **1991.** Lavoisier (Ed). Paris, pp78-98.
- 69. Li H.B., Cheng K. W., Wong C.C., Fan K.W., chen F., Tian Y.** Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fraction of selected microalgae. **2007.** *Food Chimestry.* 102:771-776.

- 70. Li J., Jiang Y.** Litchi Flavonoids: Isolation, Identification and Biological Activity. **2007.** *Molecules*. 12: 745-758.
- 71. Maataoui B.S., Hunyeur A., Hilalis.** Activités antiradicalaires d'extraits de jus de fruits du Figuier de Barbarie (*Opuntia Ficus Indica*). **2006.** *Lebanese Science Journal*. 7(1) : 3-8.
- 72. Macheix J.J., Flieriet., A et Christian A. 2005.** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaire d'importance économique. PPTUR Lausanne.
- 73. Madi A.** Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et Sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques. **2010.** Thèse de Magister de l'Université de Constantine.
- 74. Mahdjar S.** Contribution à l'Etude de la composition chimique de la plante *Matricaria pubescens* et à l'évaluation de son activité antioxydante. **2013.** Mémoire de master. Université de Ouargla.
- 75. Manach C., Scalbert A., Morand C, Remesy C., Jimenez L.** Polyphenols: food sources and bioavailability. **2004.** *American Journal of Clinical Nutrition*. 79(5): 727 – 747.
- 76. Marfak A.** Radiolyse Gamma des flavonoides, étude de leur réactivité avec les radicaux. **2003.** Thèse de doctorat. Université de Limoges.
- 77. Maria A., Vera V., Juan A., Monotoya S., Calva G., Emma G., Raminrez R.,** Extraction, thermal stability and kenetic behavior of pectin methylestearase from hawthorn (*Crataegus pubescens*) fruit. *LWT*. **2005.** 5:2-6.
- 78. Markowicz B. D. H., Saldanha, L.A., Catharino, R.R., Sawaya A.C.H. F., Cunha I B.S., Carvalho P. O. Eberlin M.N.** Phenolic Antioxidants Identified by ESI-MS from Yerba Maté (*Ilex paraguariensis*) and Green Tea (*Camelia sinensis*) Extracts. **2007.** *Molecules*. 12: 423-432.
- 79. Martin S., Andriantsitohaina R.** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaires des polyphénols au niveau de l'endothélium. **2002.** *Annales de cardiologie et d'angéiologie*. 51:304-315.

- 80. Merken H.M ., Beecher G.R.** Liquid chromatographic method for the separation and quantification of prominent flavonoid aglycones. **2000.** *Journal of Chromatography A.* 897: 177 -184
- 81. Middleton E., Kandaswami C., Theoharides T.C.** The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. **2000.** *Pharmacology Revision.* 52: 673 -751.
- 82. Milane H.,** La quercétine et ses dérivés : molécule à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres, études et applications thérapeutiques. **2004.** Thèse de doctorat. Université de Strasbourg.
- 83. Miller A.L.** Botanical influences on cardiovascular disease. **1998.** *Altern Med Rev.* (6): 422-431.
- 84. Mohammedi Z.** Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. **2006.** Mémoire de magister. Université de Tlemcen.
- 85. Nkhili.** Polyphénols de l'alimentation : Extraction, Interaction avec les ions Du fer et du Cuivre, oxydation et pouvoir antioxydant. **2009.** Thèse du doctorat. Université de Montpellier.
- 86. Pedneault K., Leonharts., Angenol., Gosselin A., Ramputh A., Arnason J. T.** Influence de la culture hydroponique de quelques plantes médicinales sur la croissance et la concentration en compose secondaires des organes végétaux. **2001.** *Texte de conférence.* Canada, 1-5.
- 87. Pereira N.** Biological Oxidations and Antioxidant Activity of Natural Products. **2012.** Thèse de doctorat Universidade Federal do Vale do São Francisco.
- 88. Ribérreau G.P.** Les composés phénoliques des végétaux. **1968.** Edition Dunod, Paris. p 254.
- 89. Rira M.** Effet des polyphénols et des tanins sur l'activité métabolique du microbiote ruminal d'ovins. **2006.** Thèse de Magistère Université de Constantine.
- 90. Rizk A.M.** Constituents of plants growing in Qatar. **1982.** *Fitoterapia.* 52 (2), 35-42.

91. **Saadoudi M.** Etude de la fraction glucidique des fruits de : *Celtis australis*L., *Crataegus azarolus* L., *Crataegus monogyna* Jacq., *Elaeagnus angustifolia* L. et *Ziziphuslotus* L. **2007.** Mémoire de magister. Université de Batna.
92. **Saihi Y.** Synthèse de réactivité d'allylétainpolaire. **2006.** Mémoire de Magistère. Université de Batna.
93. **Sayah H.** Le pouvoir antioxydant des polyphénols de l'espèce *pennisisetum glaucum* (millet) du sud d'Algérie. **2013.** Mémoire de master. université de Telemcen.
94. **Smara N.** Etude ethnobotanique et chimique d'*Euphorbia guyoniana* boiss. Et Reut. **2014.** Thèse de doctorat. University d'Annaba .
95. **Stefanova T., Nikolova N., Michailova A., Mitov I., Iancovii., Zlabinger g.I., Neychev H.** Enhanced resistance to Salmonella entericsero var typhimurium infection in mice after coumarin treatment. **2007.** *Microbes and infection.* 9: 7-14.
96. **Svedstroma U., Vuorela H., Kostianen R., Leak I., Hiltunen R.** Fractionation of polyphenols in hawthorn into polymeric procyanidins, phenolic acids and flavonoides prior to high performance liquid chromatography. **2006.** *Journal of Chromatography A.* 11(12):103-111.
97. **Tieppo J., Vercelino R., Dias A.S., Silva Vaz M.F., Silveira T.R., Marroni C.A., Marroni N.P., Henriques J.A.P., Picada J.N.** Evaluation of the protective effects of quercetin in the hepatopulmonary syndrome. **2007.** *Food and Chemical Toxicology.* 45: 1140-1146.
98. **Valls C., Vidal T., Roncero M.B.** The role of Xylanases and laccases in hexenuronic acid and lignin. **2009.** *Removal Process Biochemistry.* 45 : 425- 430
99. **Vuorela S.** Analysis, isolation, and bioactivities of rapeseed phenolics. **2005.** Helsinki.
100. **Xu Y.C., Leung S.W.S., Yeung D.K.Y., Hu L.H., Chen G.H., Che C.M., Man, R.Y.K.** Structure-activity relationships of flavonoids for vascular relaxation in porcine coronary artery. **2007.** *Phytochemistry.* 68: 1179 -1188
101. **Yoo K.M., Lee H.C., Lee H., Moon B., Lee C.Y.** Relative antioxidant and cytoprotective activities of common herbs. **2008.** *Food Chemistry.* 106: 929-936.

- 102.** Zeghad N. Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêts économiques (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. **2009**. Mémoire de Magister. Université de Constantine.
- 103.** Zhang D.L., Zhang Y.T., Yin J.J., zhao B.L. Oral administration of Crataegus flavonoids protects against ischemia reperfusion brain damage in gerbils. **2004**. *Journal of Neurochemistry*. 90:211-219.

Résumé , Summary , ملخص

Résumé

L'aubépine monogyne ou *Crataegus monogyna* est une plante médicinale utilisée depuis l'antiquité en médecine traditionnelle, reconnue par ses vertus thérapeutiques. Dans ce contexte, le présent travail porte sur une étude phytochimique des polyphénols et des flavonoïdes majoritaires contenus dans les fleurs et les feuilles de cette plante, et une évaluation de leurs activité antioxydante.

Le criblage préliminaire basé sur des tests spécifiques a confirmé la présence de substances ayant de grandes valeurs thérapeutiques notamment les flavonoïdes, les tannins, les coumarines, les anthraquinones et les alcaloïdes. L'analyse qualitative des extraits par chromatographie sur couches minces « CCM » a révélé la présence d'un certain nombre des composés phénoliques.

L'estimation quantitative des polyphénols totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu, et des flavonoïdes totaux par la méthode au trichlorure d'aluminium $AlCl_3$ a montré la richesse des fleurs et des feuilles de l'aubépine monogyne par ces composés.

L'évaluation du pouvoir piègeur des extraits hydroalcooliques vis-à-vis du DPPH confirme que les feuilles et les fleurs de *Crataegus monogyna* possèdent un pouvoir antioxydant considérable.

Mots clés : *Crataegus monogyna*, Polyphénols, flavonoïdes, Activité antioxydante, DPPH.

Summary

Hawthorn or *Crataegus monogyna* is a medical plant used since ancient times in traditional medicine is recognized by its therapeutic properties. In this context, this work deals with a study of phytochemical polyphenols and flavonoids in flowers and leaves of this plant, and an evaluation of their antioxidant activity.

The preliminary screening based on specific tests confirmed the presence of substances having great therapeutic values such as: flavonoids, tannins, coumarins, anthraquinones and alkaloids. Qualitative analysis of extracts by thin layer chromatography « TLC » revealed the presence of many phenolic compounds.

The quantitative estimation of total polyphenols by the Folin-Ciocalteu method, And total flavonoids by the method of Aluminium chloride “AlCl₃” showed that the flowers and leaves are very rich in these compounds.

The evaluation of the power scavenging hydroalcoholic extracts by using the DPPH confirms that the leaves and flowers of *Crataegus monogyna* possess a great antioxidant power.

Keywords: *Crataegus monogyna*, polyphénols, flavonoïdes, DPPH, antioxidant scavenging.

الزعرور الشائك أو زعرور أحادي المدقة هو نبات طبي يستخدم منذ العصور القديمة في الطب التقليدي ومعروف بخصائصه العلاجية. وفي هذا السياق، يتناول هذا العمل دراسة كيميونباتية لكل من مادة البوليفينول والفلافونويدات في الزهور وأوراق هذا النبات، وتقييم نشاطها المضاد للأكسدة

التدقيق الأولي على أساس اختبارات محددة وأكد وجود مواد علاجية كبيرة مثل: مركبات الفلافونويد والثانينات والكومارينات، الانثراكوينونات والقلويدات. وكشف التحليل النوعي للمقتطفات التي كتبها طبقة الفصل الكروماتوغرافي وجود العديد من المركبات الفينولية

أظهر التقدير الكمي للمركبات الفينولية باستعمال طريقة الفولين سيوكالتيو والفلافونويدات باستعمال طريقة كلوريد الألومنيوم أن الأوراق والأزهار غنية جداً بهذه المركبات

تقدير قوة المضادة للأكسدة بطريقة الكبح للمركبات الكحولية يؤكد أن أوراق وأزهار الزعرور أحادي المدقة تمتلك قوة كبيرة ضد الأكسدة

كلمات البحث: زعرور أحادي المدقة، بوليفينول، الفلافونويدات، طريقة الكبح

Nom et Prénom : BENHAMAMA Loukmane

Mémoire pour l'obtention du diplôme de : MASTER

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : biologie physiologie végétale

Option : Métabolisme secondaire et molécules bioactives

**Thème : Contribution à l'étude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante de la Plante
médicinale *Crataegus monogyna*.**

Résumé :

L'aubépine monogyne ou *Crataegus monogyna* est une plante médicinale utilisée depuis l'antiquité en médecine traditionnelle, reconnue par ses vertus thérapeutiques. Dans ce contexte, le présent travail porte sur une étude phytochimique des polyphénols et des flavonoïdes majoritaires contenus dans les fleurs et les feuilles de cette plante, et une évaluation de leurs activité antioxydante.

Le criblage préliminaire basé sur des tests spécifiques a confirmé la présence de substances ayant de grandes valeurs thérapeutiques notamment les flavonoïdes, les tannins, les coumarines, les anthraquinones et les alcaloïdes. L'analyse qualitative des extraits par chromatographie sur couches minces « CCM » a révélé la présence d'un certain nombre des composés phénoliques.

L'estimation quantitative des polyphénols totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu, et des flavonoïdes totaux par la méthode au trichlorure d'aluminium $AlCl_3$ a montré la richesse des fleurs et des feuilles de l'aubépine monogyne par ces composés.

L'évaluation du pouvoir piégeur des extraits hydroalcooliques vis-à-vis du DPPH confirme que les feuilles et les fleurs de *Crataegus monogyna* possèdent un pouvoir antioxydant considérable.

Mots clés : *Crataegus monogyna*, Polyphénols, flavonoïdes, Activité antioxydante, DPPH.

Jury d'évaluation :

Président du jury : KARA youcef

(Pr - UFM Constantine).

Rapporteur : ZAGHAD Nadia

(MAA- UFM Constantine).

Examineurs : BOUZID salha

(MAA- UFM Constantine).

Année universitaire : 2014/2015