

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



UNIVERSITÉ DE TLEMCEM
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de
l'Univers

Département de Biologie



Laboratoire de recherche

« Antibiotiques, Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique »

MEMOIRE

Présenté par

M^{elle} **Benbouziane Fatima Zohra**

En vue de l'obtention du Diplôme de MASTER

Domaine : SNV

Filière Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Thème

**Recherche de l'effet inhibiteur des extraits des
feuilles et des fruits de *Crataegus monogyna*
vis-à-vis de l' α -amylase**

Soutenu le 29/06/2020, devant le jury composé de :

Présidente	M ^{elle} Benariba N.	MCA	Université de Tlemcen
Encadreur	M ^{me} Belkacem N.	MCB	Université de Tlemcen
Examinatrice	M ^{me} Benmansour M.	MCB	Université de Tlemcen

Année universitaire 2019/2020



Remerciements

En premier lieu, je remercie Allah le tout puissant de m'avoir donné la volonté, la santé et le courage pour réaliser ce travail.

J'exprime d'abord mes profonds remerciements, ma vive reconnaissance et ma sincère gratitude à **M^{me} BELKACEM N.**, maître de conférences au Département de Biologie, Université Abou Bekr Belkaïd de Tlemcen pour avoir accepté de diriger ce travail, pour son aide, ses encouragements, sa patience et ses précieux conseils qu'elle n'a cessé de m'apporter tout au long de la réalisation de ce mémoire.

J'adresse mes sincères remerciements et mon profond respect à **M^{elle} Benariba N.**, maître de conférences au Département de Biologie, Université de Tlemcen et responsable de la formation « Biochimie Appliquée » pour l'honneur qu'elle me fait de présider le jury.

J'exprime également mes vifs remerciements à **M^{me} Benmansour M.**, maître de conférences au Département de Biologie, Université de Tlemcen pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Mes sentiments de reconnaissance et mes remerciements vont également à tous les doctorants en biochimie pour leurs aides, leurs soutiens, surtout leurs gentillesse.

C'est un grand merci que j'adresse à tous les membres du laboratoire Antibiotiques, Antifongiques, Physico-chimiques, Synthèse et activité biologique de l'Université de Tlemcen pour leurs gentillesse et leurs aides.

Enfin, je remercie gracieusement toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.



Dédicace

Avec l'aide de Dieu tout puissant j'ai pu achever ce modeste travail, que j'ai le plus grand plaisir de le dédier à :

Mes très chers parents, qui m'avaient dirigés et suivi pendant toutes mes années d'études, pour leurs sacrifices dans tous les instants, leurs patiences sans limites et l'éducation qui m'ont donnée. Je les remercie beaucoup.

À mes chères sœurs : Amina, Asma et Hadjar.

À mon chère frère Abderazek,

À mes chères neveux : Youness, Mouad, Zaid, Yasser.

À tous mes chères amies.

À tous ceux qui m'aiment et m'ont donné du service et l'aide par une idée ou par un mot de motivation et d'incitation.

Fatima Zohra

Liste des abréviations

CI₅₀ : Concentration inhibitrice de 50% de l'activité enzymatique.

DNSA : Acide 3,5-dinitrosalicylique.

Da : Dalton.

EAG/gE : Equivalent acide gallique par gramme d'extrait.

EQC/gE : Equivalent catéchine par gramme d'extrait.

H₃PMo₁₂O₄₀ : Acide phosphomolybdique.

H₃PW₁₂O₄₀ : Acide phosphotungstique.

LDL : Low density lipoprotein.

MeOH : Méthanol.

MS : Matière sèche.

m/v : Masse/volume.

N: Normal.

v/v : volume/volume

ssp : synonyme de l'espèce.

Liste des figures

Figure n° 01 : (a) Complexe acarbose-amylase, (b) Site actif (acides aminés catalytiques en rouge) de l' α -amylase en présence d'acarbose (en vert), les acides aminés de la boucle mobile (en violet), les acides aminés impliqués dans la liaison de l'inhibiteur (en jaune)	5
Figure n° 02 : Structure de base des flavonoïdes.	10
Figure n° 03 : Structures générales de tanins hydrolysables.....	12
Figure n° 04 : Structure de base des tanins condensés (Procyanidol).....	13
Figure n° 05 : Structure d'une lignine.....	13
Figure n° 06 : Fruit, fleurs et feuilles de <i>Crataegus monogyna</i> Jacq.....	16
Figure n° 07 : Feuilles de <i>C. monogyna</i> secs (A) et broyés (B).....	22
Figure n° 08 : Fruits de <i>C. monogyna</i> secs (A) et broyés (B).....	23
Figure n° 09 : Protocole d'extraction des feuilles et des fruits de <i>C. monogyna</i>	24
Figure n° 10 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.....	30
Figure n° 11 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes.	31
Figure n° 12 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés.	32

Liste des tableaux

Tableau n°01 : Effet inhibiteur de quelques plantes médicinales sur l'activité de l' α -amylase.....	7
Tableau n°02 : Quelques classes distinctes de flavonoïdes.....	11
Tableau n°03 : Classification taxonomique de l'espèce <i>C. monogyna</i> Jacq.....	17
Tableau n°04 : Noms vernaculaires de l'aubépine.....	17
Tableau n°05 : Les glucides du <i>C. monogyna</i>	18
Tableau n°06 : Composition minérale et vitaminique de la partie comestible des fruits de <i>C. monogyna</i>	18
Tableau n°07 : Principales composés phénoliques du <i>C. monogyna</i>	19
Tableau n°08 : Rendements (%) et caractéristiques des différents extraits des feuilles et des fruits de <i>C. monogyna</i>	28
Tableau n°09 : Teneurs en polyphénols totaux dans les différents extraits des feuilles et des <i>C. monogyna</i>	30
Tableau n°10 : Teneurs en flavonoïdes dans les différents extraits des feuilles et des fruits de <i>C. monogyna</i>	31
Tableau n°11 : Teneurs en tanins condensés dans les différents extraits des feuilles et des fruits de <i>C. monogyna</i>	33

Sommaire

Introduction	1
Partie 1 : Etude bibliographique	
Chapitre 1 : Régulation de l'hyperglycémie postprandiale	
1. Notions générales sur l' α -amylase.....	3
2. Contrôle de l'hyperglycémie postprandiale.....	4
3. Hyperglycémie postprandiale et plantes médicinales.....	6
Chapitre 2 : Les Composés phénoliques	
1. Généralité.....	8
2. Structure chimique.....	9
3. Classification des polyphénols.....	9
3.1. Les acides phénoliques.....	9
3.2. Les flavonoïdes.....	9
3.3. Les tanins.....	12
3.4. Les lignines.....	13
3.5. Les coumarines.....	14
3.6. Les stilbènes.....	14
4. Propriétés pharmacologiques des composés phénoliques.....	14
Chapitre 3 : <i>Crataegus monogyna</i>	
1. Définition.....	16
2. Description botanique.....	16
3. Classification botanique.....	17
4. Dénominations vernaculaires.....	17
5. Aires de répartition.....	17
6. Composition Chimique.....	18
6.1. Composition en métabolites primaires.....	18
6.2. Composition en métabolites secondaires.....	19
7. Propriétés thérapeutiques.....	20

Partie 2 : Partie expérimentale

Chapitre 1 : Matériel et méthodes

1. Matériel végétal.....	22
1.1. Préparation du matériel végétal.....	22
1.2. Extraction du matériel végétal.....	23
2. Dosage des composés phénoliques.....	25
2.1. Dosage des polyphénols totaux.....	25
2.2. Dosage des flavonoïdes.....	25
2.3. Dosage des tanins condensés.....	26
2.4. Expression des résultats.....	26
3. Evaluation de l'activité inhibitrice de l' α -amylase.....	27
3.1. Principe de la méthode de Bernfeld (1955).	27
3.2. Mode opératoire décrite par Thalapaneni <i>et al.</i> , (2008).....	27

Chapitre 2 : Résultats et interprétation

1. Calcul des rendements d'extraction.....	28
2. Teneurs en composés phénoliques.....	29
2.1. Teneurs en polyphénols totaux.....	29
2.2. Teneurs en flavonoïdes	31
2.3. Teneurs en tanins condensés.....	32
Discussion	34
Conclusion et perspectives	37
Références bibliographies	38

Résumé

Ce travail est consacré à l'extraction et le dosage de quelques composés phénoliques contenus dans les deux parties aériennes « feuilles » et « fruits » de la plante *Crataegus monogyna*.

Les feuilles et les fruits de cette plante, ont été soumis à une extraction sous reflux dans un mélange eau/méthanol (30:70 ; v/v) pendant 1h. Les deux extraits bruts obtenus sont partagés successivement avec le dichlorométhane, l'acétate d'éthyle et le n-butanol avec une extraction liquide-liquide. Ainsi, la phase aqueuse résiduelle a été récupérée.

Le dosage quantitatif des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés au niveau des extraits préparés, donne des résultats qui montrent que les feuilles sont plus riches en composés phénoliques en comparaison avec les fruits.

Pour la partie « feuilles », l'extrait acétate d'éthyle renferme les taux les plus élevés en polyphénols totaux et en tanins condensés avec des taux de $449,02 \pm 0,04$ mg EAG/gE et $565,11 \pm 0,013$ mgEQC/gE, respectivement, alors que la teneur la plus élevée en flavonoïdes est enregistrée dans l'extrait brut avec une teneur de $143,75 \pm 0,07$ mgEQC/gE .

Pour la partie « fruits », l'extrait acétate d'éthyle renferme les taux les plus élevés en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés ($201,96 \pm 0,005$ mg EAG/gE, $240,30 \pm 0,003$ mgEQC/gE et $324,16 \pm 0,0046$ mgEQC/gE, respectivement). D'autre part, la phase aqueuse résiduelle renferme les taux les plus faibles en flavonoïdes et en tanins condensés pour les deux parties de la plante.

Les teneurs obtenues dans cette analyse quantitative, montrent la richesse de *C. monogyna* en composés phénoliques.

Mots clés : *Crataegus monogyna*, polyphénols totaux, flavonoïdes, tanins condensés.

Introduction

Introduction

Depuis la nuit du temps, des milliards de tonnes de matière vivante se créent chaque année à la surface de la terre, les propriétés biologiques des plantes et des substances naturelles qu'elles renferment, font actuellement l'objet de nombreux travaux. En effet, Les plantes sont considérées comme l'une des plus importantes sources de médicaments, Parmi les 2 50 000 espèces végétales les plus recensées dans le monde, plus de 80 000 espèces sont utilisées comme médicaments. Les plantes médicinales sont largement utilisées dans le monde entier et constituent non seulement une base de ressources majeure pour l'industrie traditionnelle de la médecine, mais elles assurent également des moyens de subsistance et de sécurité sanitaire à un large segment pour la population mondiale (**Jain, 1968 ; Pérez et al., 2003**).

Les plantes médicinales sont toutes les plantes qui contiennent une ou des substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques qui sont des précurseurs dans la synthèse de drogues utiles. En effet, une majorité de la population mondiale, plus particulièrement dans les pays en voie de développement, se soigne uniquement avec des remèdes traditionnels à base de plantes (**Amor, 2018**).

De nos jours, nous comprenons de plus en plus que les principes actifs des plantes médicinales sont souvent liés aux produits des métabolites secondaires. Ces derniers dépassent 200000 substances identifiées, et classées selon leurs structures chimiques et leurs origines de biosynthèse en composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes (**Ramawat et Merillon, 2008 ; Hamdaoui, 2018**).

Parmi les principales classes de ces métabolites secondaires, les plus importants en termes de nombre et de structures connus sont les composés phénoliques ou appelés aussi les polyphénols. En effet, ce sont des métabolites secondaires généralement impliqués dans l'adaptation des plantes aux conditions de stress environnemental dont différents facteurs biologiques, physiques et chimiques peuvent réguler leur synthèse et leur accumulation dans la plante (**Treutter, 2001 ; Farah et Donangelo, 2006**).

Les composés phénoliques sont des constituants des plantes supérieures et d'aliments végétaux communément consommés, comme les fruits, les légumes, les céréales ect. Ces composés présentent un certain nombre de propriétés bénéfiques pour la santé liées à leur activité antioxydante puissante ainsi qu'à leurs activités hépatoprotectrices, hypoglycémiques et antivirales.... (**Farah et Donangelo, 2006**).

Introduction

La teneur en composés phénoliques varie qualitativement et quantitativement d'une plante à une autre et d'un organe à un autre, et 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 (**Aganga, 2001 ; Pedneault et al., 2001**).

Parmi la flore Algérienne, nous nous sommes intéressés à une espèce très appréciée par la population algérienne. Il s'agit de l'aubépine monogyne (*Crataegus monogyna* Jacq.), plante médicinale appartenant à la famille des *Rosacées*, couramment utilisée en phytothérapie pour ses propriétés sédatives, vasculoprotectrices et antioxydantes (**Bahorun, 1997**).

Notre travail s'inscrit dans le cadre de la recherche de l'activité inhibitrice des extraits des feuilles et des fruits de *C. monogyna* sur l'activité de l' α -amylase. Il est réalisé selon le plan suivant :

- ✓ Extraction de la matière végétale à partir des feuilles et des fruits de *C. monogyna* ;
- ✓ Dosage de composés phénoliques au niveau des extraits préparés ;
- ✓ Evaluation de l'activité inhibitrice des extraits sur l'activité de l' α -amylase.

Partie 1 : Etude bibliographique

Chapitre 1 : Régulation de l'hyperglycémie
postprandiale

1. Notions générales sur l' α -amylase

L' α -amylase est une macromolécule appartenant à la classe des protéines globulaires, de type endoglycanases, de la classe des hydrolases, qui agit sur les liaisons α -(1 \rightarrow 4) de l'amidon (**Gupta *et al.*, 2008 ; Nouadri, 2011**).

Structurellement, les α -amylases sont considérées comme des glycoprotéines renfermant une seule chaîne polypeptidique de 512 acides aminés avec un poids moléculaire de 57,6 kDa répartis en trois domaines globulaires appelés A et B et C associés par une chaîne polypeptidique (**Abrams *et al.*, 1987 ; Sales *et al.*, 2012**).

L' α -amylase (E.C.3.2.1.1) est une endoenzyme qui hydrolyse au hasard, les liaisons osidiques de l'amylose, de l'amylopectine, de l'amidon, du glycogène et d'autres polysaccharides contenant plus de trois liaisons α -(1 \rightarrow 4) D-Glucose Elle conduit à la formation du D-glucose, de maltose et d'une petite quantité de maltodextrines (**Franco *et al.*, 2000 ; Nouadri, 2011**).

Le substrat naturel de l' α -amylase est l'amidon qui est un glucide complexe (polyoside) de formule chimique $(C_6H_{10}O_5)_n$, composée de deux fractions polysaccharidiques : l'amylose linéaire et l'amylopectine ramifiée. Il s'agit d'une molécule de réserve énergétique pour les végétaux supérieurs et un composant essentiel de l'alimentation des carnivores domestique et de l'homme (**Alais et Lindens, 1994 ; Pandey *et al.*, 2000**).

Dans la molécule d'amidon, les unités de glucose sont reliées par des liaisons osidiques α -(1 \rightarrow 4) en formant ainsi des chaînes hélicoïdales d'amylose, sur lesquelles de courtes chaînes de même constitution se branchent par des liaisons osidiques α -(1 \rightarrow 6) (**Mercier, 1985**).

Les α -amylases sont des métallo-enzymes à calcium. Ces ions sont nécessaires à l'activité enzymatique et au maintien de la stabilité de la structure en acides aminés d'enzyme qui varient d'une souche à une autre (**Fogarty et Kell, 2012**).

Le mécanisme d'action de l' α amylase dépend principalement du pH et de la température. Le pH du fait qu'il provoque la modification de la charge électrique des acides aminés présents sur le site catalytique, ce qui bloque les réactions de transferts d'atomes, nécessaires à la rupture des liaisons osidiques. Et la température favorise la formation du complexe enzyme-amidon (**Faively, 2010**).

À la suite de la fixation de l'enzyme par affinité à l'intérieur de la chaîne de l'amidon ou sur les extrémités réductrices. Les chaînes déformées par le complexe enzyme-substrat sont stabilisées par un grand nombre de liaisons hydrogènes. Ensuite, une coupure des liaisons $\alpha - (1 \rightarrow 4)$ par l'enzyme à partir de l'extrémité non réductrices, et à la fin il résultera la formation de glucose, de maltose, et surtout d' α dextrines (**Scriban, 1999 ; Faively, 2010**).

2. Contrôle de l'hyperglycémie postprandiale

Des données de plus en plus nombreuses suggèrent que l'état postprandial est un facteur contribuant au développement de l'athérosclérose. Dans le cas du diabète, la phase postprandiale est caractérisée par une augmentation rapide et importante du taux de glucose sanguin avec la possibilité que les pics hyperglycémiques postprandiaux puissent être pertinents pour le début des complications cardiovasculaires (**Ceriello, 2005**).

Si le contrôle de la glycémie à jeun dépend essentiellement de l'action de deux hormones, l'insuline et le glucagon, la valeur de la glycémie postprandiale dépend de nombreux autres paramètres complexes qui sont le repas lui-même, la vidange gastrique, les hormones gastro-intestinales, la digestion, la cinétique de la sécrétion de l'insuline, la production hépatique et l'utilisation périphérique du glucose. Ces derniers, permettent de maintenir dans des limites étroites l'amplitude et la durée de l'élévation de la glycémie en période postprandiale chez le sujet sain. Tandis que, l'élévation excessive de la glycémie postprandiale, qui caractérise l'intolérance au glucose, est la première anomalie observée chez les patients prédisposés au diabète de type 2 (**Brindisi et al., 2007**).

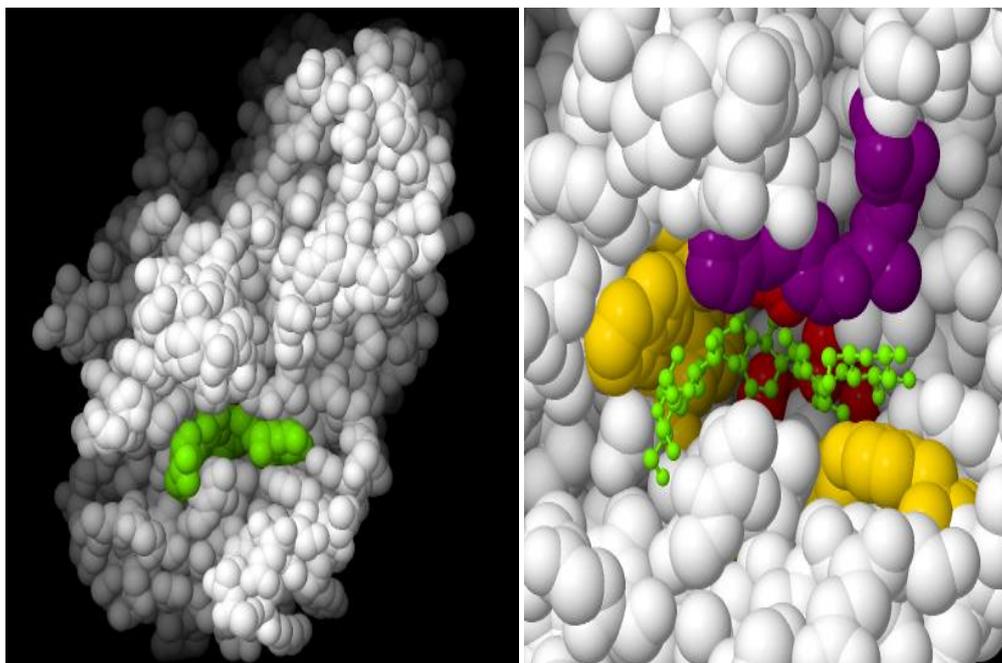
De plus, une stratégie intéressante pour contrôler la glycémie postprandiale est évoquée par l'inhibition des α -glucosidase et α -amylase (enzymes hydrolysant les hydrates de carbone dans les organes digestifs). La régulation de l'activité de ces enzymes peut être assurée par des composés appelés effecteurs (activateurs ou inhibiteurs), qui agissent directement ou indirectement sur le site actif de l'enzyme (**Garrett et Grisham, 2000 ; Akshatha et al., 2014**).

Beaucoup d'inhibiteurs sont des molécules de structure voisine du substrat de leur enzyme, mais qui, soit ne réagissent pas, soit réagissent beaucoup plus lentement que le substrat (**Garrett et Grisham, 2000**).

Chapitre 1 : Régulation de l'hyperglycémie postprandiale

Les inhibiteurs des amylases ont déjà montré leur utilité en aidant les diabétiques. Chez les patients diabétiques, les niveaux de glucose peuvent être contrôlés après des repas par l'administration d'un inhibiteur d'amylase tel que l'acarbose (**Machius *et al.*, 1996 ; Franco *et al.*, 2002**).

L'Acarbose est un pseudo-tétrasaccharide d'origine microbienne (*Actinoplanes* sp.). C'est un analogue structural des oligosaccharides alimentaires. Il ralentit leurs digestions en inhibant de manière compétitive et réversible les enzymes. L'incapacité des enzymes digestives à hydrolyser cette molécule est due à la présence d'un pont amine, qui est considéré le facteur déterminant de son effet inhibiteur (Fig. n°01). Il est le plus largement utilisé pour le traitement du diabète de type 2. Leurs effets secondaires ne sont pas inquiétants mais restent très gênants, essentiellement troubles intestinaux (flatulence, diarrhées, inconfort abdominal) (**Halimi *et al.*, 2000 ; Yanovski, 2002 ; Godbout et Chiasson, 2007**).



(a)

(b)

Figure n° 01 : (a) Complexe acarbose-amylase, (b) Site actif (acide aminés catalytiques en rouge) de l' α -amylase en présence d'acarbose (en vert), les acides aminés de la boucle mobile (en violet), les acides aminés impliqués dans la liaison de l'inhibiteur (en jaune) (**Qian *et al.*, 1994**).

3. Hyperglycémie postprandiale et plantes médicinales

Les plantes constituent une source première de médicaments pour l'être humain. Elles ont toujours servi à fournir à l'humanité, des remèdes thérapeutiques nouveaux et originaux. L'intérêt de l'utilisation des plantes médicinales a mené à la caractérisation et à l'identification de molécules majeures, et à l'isolation de composés chimiques actifs d'une importance thérapeutique incontestable (**Leduc, 2006**).

Plusieurs enquêtes ethnobotaniques réalisées au niveau mondial, ont montré que plus de 800 plantes grâce à leur grande richesse en molécules bioactives très variées sont utilisées traditionnellement pour le traitement du diabète sucré et ses complications, dont 410 espèces ont montré expérimentalement leur effet antidiabétique. Certaines sont à l'origine de la mise au point de médicaments antidiabétiques, la guanidine extraite pour la première fois à partir de *Galega officinalis*, a servi de modèle de synthèse de la metformine et d'autres médicaments antidiabétiques appartenant à la famille des biguanides, qui sont plus efficaces et moins toxiques (**Bedekar et al., 2010 ; Perla et Jayanty, 2013**).

Les plantes médicinales représentent un vaste domaine pour rechercher des agents hypoglycémisants oraux très efficaces avec des effets secondaires faibles ou négligeables. Dans le monde, plus de 1200 espèces végétales ont été prouvées expérimentalement leur effet hypoglycémiant. En outre, les inhibiteurs naturels de l' α -glucosidase et de l' α -amylase provenant du règne végétal offrent une stratégie attrayante pour le contrôle de l'hyperglycémie (**Tundis et al., 2010**) (Tabl. n°01).

Chapitre 1 : Régulation de l'hyperglycémie postprandiale

Tableau n°01: Effet inhibiteur de quelques plantes médicinales sur l'activité de l' α -amylase.

Plantes	Parties utilisées	Extraits	Activités inhibitrices	Références
Shirisha (<i>Albizia lebbek</i>), Nagarmotha (<i>Cyprus rotundus</i>) Kantakari (<i>Solanum xanthocarpum</i>).	Ecorce, Rhizome, Plante entière	Extrait éthanolique	CI ₅₀ =0,68 mg /mL	(Kajaria <i>et al.</i> , 2013)
<i>Phyllanthus amarus</i>	Plante entière	Extrait d'éthanol Extrait d'hexane	CI ₅₀ =36,05±4,01 µg/mL CI ₅₀ =48,92±3,43 µg/mL	(Tamil <i>et al.</i> , 2010)
<i>Linum usitatissimum</i>	Graines	Extrait d'isopropanol	CI ₅₀ =540 µg/mL	(Sudha <i>et al.</i> , 2011)
<i>Morus alba</i>	Feuilles		CI ₅₀ =1440 µg/mL	
<i>Ocimum tenuiflorum</i>	/		CI ₅₀ = 8,9 µg/mL	
<i>Cinnamomum Zeylanicum</i>	Feuilles	Extraits méthanolique	CI ₅₀ =130,55 µg/mL	(Nair <i>et al.</i> , 2013)
<i>Teucrium Polium</i>	/	Extrait hydroalcoolique	CI ₅₀ =3,63 mg/mL	(Dastjerdi <i>et al.</i> , 2015)
<i>Berberis vulgaris</i>	L'écorce des racines	Extrait méthanolique, Extrait aqueux	CI ₅₀ =0,68 mg/mL CI ₅₀ =0,7 mg/mL	(Boudjelthia <i>et al.</i> , 2017).
<i>Zygophyllum geslini</i>	Partie aérienne		CI ₅₀ =1,72 mg/mL CI ₅₀ =1,84 mg/mL	
<i>Morinda lucida</i>	Feuilles	Extrait aqueux	CI ₅₀ =2,30 mg/mL	(Kazeem <i>et al.</i> , 2013)
<i>Amaranthus caudatus</i> Linn	Plante entière	Extrait méthanolique	CI ₅₀ =19,23 µg/mL	(Kumar <i>et al.</i> , 2011)

Partie 1 : Etude bibliographique

Chapitre 2 : Les composés phénoliques

1. Généralité

Les composés phénoliques ou les polyphénols constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal. Ils sont des produits du métabolisme secondaire des plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Ce qui signifie qu'ils n'exercent pas de fonctions directes au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal, comme la croissance, ou la reproduction (**Scalbert et Williamson, 2000**).

Ces composés jouent un rôle essentiel chez les végétaux, car ils représentent 2 à 3% de la matière organique des plantes, et dans certains cas jusqu'à 10%. Ce sont une vaste classe de substances organiques cycliques très variées, d'origine secondaire qui dérivent du phénol C_6H_5OH qui est un monohydroxybenzène (**Walton et Brown, 1999 ; Maamri, 2008**).

Les composés phénoliques des végétaux sont issus de deux grandes voies d'élaboration de cycles aromatiques, la voie shikimate et la voie polyacétate, qui consiste en la condensation de molécules d'acétylcoenzyme A. 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 (**Achat, 2013**).

Ce sont des éléments importants de qualités sensorielles (couleurs et caractères organoleptiques) et nutritionnelles des végétaux, tels que les légumes, les fruits, les céréales ou les fruits secs, ainsi que dans les boissons, le café, le cacao ou le thé. Une alimentation équilibrée fournit à l'homme environ un gramme de polyphénols chaque jour, soit dix fois plus que de vitamine C, et 100 fois plus que de caroténoïdes ou vitamine E (**Walton et Brown, 1999 ; Scalbert et al., 2005**).

D'un point de vue thérapeutique, ces composés constituent la base des principes actifs trouvés dans les plantes médicinales. ils ont des propriétés bénéfiques pour la santé comme la prévention et le traitement de certains cancers, traitements des maladies inflammatoires, cardiovasculaires neurodégénératives, certains d'entre eux sont utilisés comme additifs pour les industries agroalimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques (**Visioli et al., 2000 ; Macheix et al., 2005 ; Terra et al., 2007 ; Bonfihhi et al., 2008 ; Burta et al., 2008 ; Yang et al., 2008**).

2. Structure chimique

Structuralement, les composés phénoliques comprennent un ou plusieurs noyaux aromatiques, qui possèdent un ou plusieurs groupements hydroxyles. Ils sont catégorisés en différents groupes en fonction du nombre de noyaux aromatiques qui les composent et des substituants qui les relient (**Manallah, 2012**).

3. Classification des polyphénols

Les composés phénoliques peuvent être regroupés en plusieurs classes dont la plupart ont des représentants chez de nombreux végétaux. Les premiers critères de distinction entre ces classes concernent le nombre d'atomes de carbone constitutifs et la structure de base du squelette carboné (**Bruneton, 1999**).

Parmi les principales classes des composés phénoliques on distingue :

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

3.1. Les acides phénoliques

Ce sont des composés organiques qui possèdent au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique (**Bruneton, 2008**).

Ces composés sont dérivés de deux sous-groupes distingués : Les acides hydroxycinnamiques, qui représentent une classe très importante dont la structure de base (C6-C3) dérive de celle de l'acide cinnamique grâce à des substitutions au niveau du cycle aromatique, les plus abondants sont l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide chlorogénique. Le second groupe sont les acides hydroxybenzoïques, qui sont dérivés de l'acide benzoïque et ils ont une formule de base de type C6-C1. Ce sont particulièrement représentés chez les gymnospermes et les angiospermes et généralement avec des concentrations très faibles chez les végétaux comestibles, dont les plus répandus sont l'acide salicylique et l'acide gallique. (**Macheix *et al.*, 2005 ; Laraoui, 2007**).

3.2. Les flavonoïdes

C'est une classe de composés polyphénoliques qui sont omniprésents dans le règne végétale. Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux, qui sont en partie

Chapitre 2 : Les Composés phénoliques

responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles (**Rice-Evans et Packer, 1998 ; Nabavi *et al.*, 2015**).

Ces diverses substances se rencontrent à la fois sous forme libre (aglycone) ou sous forme de glycosides. Elles se trouvent, d'une manière générale, dans toutes les plantes vasculaires, où elles peuvent être localisées dans divers organes : racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits, et elles jouent un rôle important dans la protection des plantes. Ainsi, des remèdes à base de plantes renfermant ces composés, sont utilisés en médecine traditionnelle à travers le monde entier (**Bruneton, 1993 ; Di Carlo *et al.*, 1999**).

Ces molécules ont un poids moléculaire faible, se présentant en 15 atomes de carbones arrangés comme suit : C6-C3-C6, elles sont composées de deux noyaux aromatiques A et B, liés par un pont de 3 carbones souvent sous forme d'un hétérocycle (Fig. n° 02) (**Ignat *et al.*, 2011**)

Les substitutions variées au sein de la molécule, donnent les différentes sous-classes des flavonoïdes : Les flavones, et les flavonols sont les plus connus grâce à leur pouvoir antioxydant élevé, et les plus divers sur le plan structural (**Zarrou, 2012**).

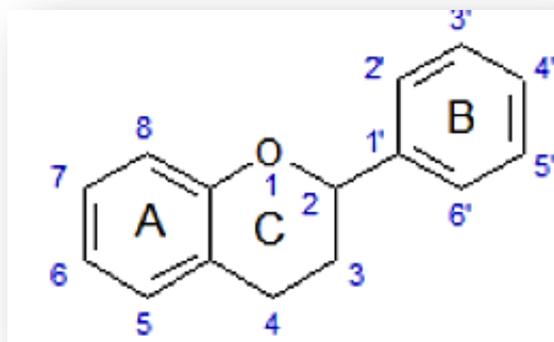
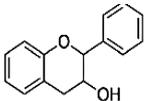
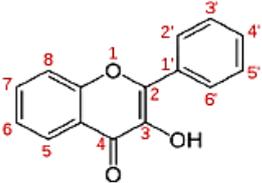
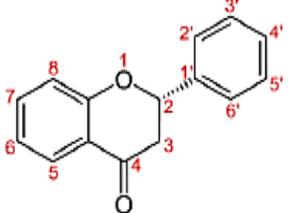
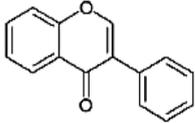
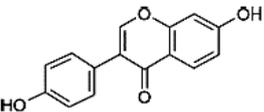


Figure n°02: Structure de base des flavonoïdes (**Dacosta, 2003**).

En basant sur leur squelette, les flavonoïdes peuvent être divisés en différentes classes qui sont indiquées dans le tableau n° 02.

Chapitre 2 : Les Composés phénoliques

Tableau n°02: Quelques classes distinctes de flavonoïdes (Bellebcir, 2008).

Classes	Formules	Sources	Propriétés
Flavanols		Raisins, Thé, Cacao	-Antioxydants naturels -anticancéreuses
Flavonols		Oignon, Pomme, Brocoli, Fruits rouges	- antihistaminique, anti-inflammatoire et antioxydante. - Isorhamnétine : propriétés antioxydante.
Flavanones		Agrumes : orange, citron, pamplemousse, mandarine, orange amère	- neutralisation des radicaux libres. - amélioration de l'absorption de la vitamine C. - la prévention des cancers de la peau.
Isoflavones		Soja	- phytoestrogéniques. - Source de phytoestrogènes.
Anthocyanes		Myrtille, Mûre, Raisin noir, Aubergine, Prune...	- la lutte contre le vieillissement cellulaire en améliorant l'élasticité et la densité de la peau. - Présente comme des couleurs brillants dans les fruits et les légumes. - antiseptiques urinaires.

3.3. Les tanins

Les tanins sont des composés phénoliques complexes, hydrosolubles ayant un poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Da. Ils peuvent former des complexes avec les protéines grâce à la présence de plusieurs groupements hydroxyles phénoliques. Ils sont présents dans plusieurs plantes fourragères avec des proportions différentes (**Kamra et al., 2006 ; Patra et Saxena, 2010**).

Selon leur nature chimique, ces composés sont divisés en deux classes: les tanins hydrolysables et les tanins condensés (**Cowan, 1999 ; Kamra, 2005**).

3.3.1. Les tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables sont des oligo- ou poly-esters d'un sucre et d'un nombre variable d'acides phénols. Le sucre est très généralement le D-glucose et l'acide phénolique est soit l'acide gallique dans le cas des gallotannins soit l'acide ellagique dans le cas des tanins classiquement dénommés ellagitannins. Ils sont facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique (Fig. n°03) (**Bruneton, 1993 ; Cowan, 1999 ; Ghazi, 2014**).

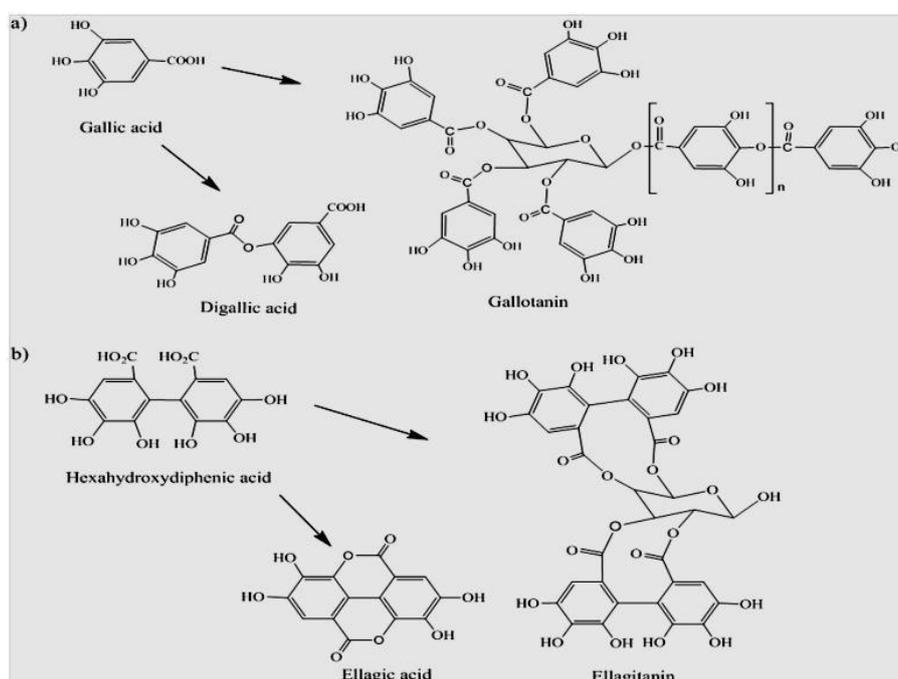


Figure n°03: Structures générales de tanins hydrolysables (**Dos Santos Grasel, 2016**).

a) La gallotannine et les monomères de l'acide gallique et de l'acide digallique.

b) La structure de l'ellagitanine et les monomères de l'acide hexahydroxydiphénique et de l'acide ellagique

3.3.2. Les tanins condensés

Différents des tanins hydrolysables, car ils ne possèdent pas de sucres dans leur molécule, et leur structure est voisine de celle des flavonoïdes. Il s'agit des produits de la polymérisation de flavan-3-ols (catéchines) et flavan-3,4-diols (leucoanthocyanidines), liées entre elles par des liaisons carbone-carbone, Ils sont désignés aussi sous le nom de «tanins catéchiques » et ne sont hydrolysables que dans des conditions fortement acides (Fig. n°04) (Bruneton, 1999 ; Sayah, 2013).

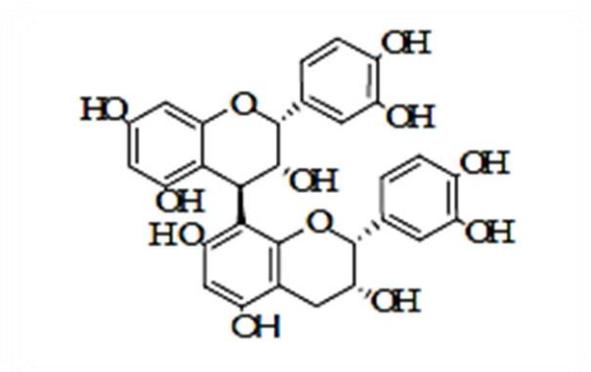


Figure n°04: Structure de base des tanins condensés (Procyanidol).

3.4. Les lignines

La lignine est le polymère naturel le plus abondant dans le monde après la cellulose. Sa biosynthèse au sein de la matière végétale est assurée par un couplage de trois monomères alcools phénylpropane différents : les alcools coumarylique, coniferylique, et sinapylique. (Fig. n°05) (Dalmes, 2011).

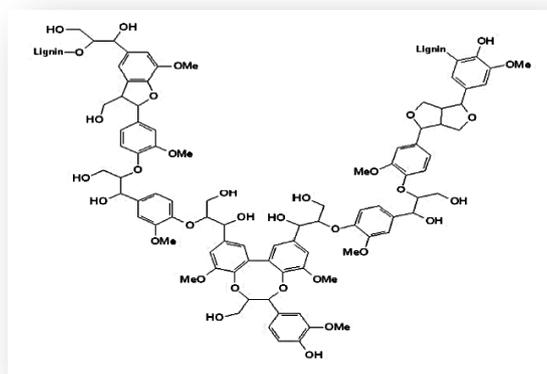


Figure n°05 : Structure d'une lignine.

3.5. Les coumarines

Les coumarines tirent leur nom de « coumarou », nom vernaculaire de fève tonka (*Dipterix odorata* Wild., Fabaceae), dont les fèves contiennent 1 à 3% de coumarine, d'où fut isolée en 1982. Le squelette de base des coumarines est constitué de deux cycles accolés avec neuf atomes de carbone (Bruneton, 1993 ; Ford *et al.*, 2001).

Les coumarines constituent une classe importante de produits naturels, elles donnent une odeur caractéristique semblable à celle du foin fraîchement fauché. A l'exception des algues, ces composés sont les constituants caractéristiques du règne végétal chlorophyllien. Les familles les plus riches en coumarines sont : *Légumineuses*, *Rutacées*, *Apiécées* et *Thymeleacées*. Elles se trouvent dans toutes les parties de la plante et notamment dans les fruits et les huiles essentielles des graines (Guignard, 1998 ; Deina *et al.*, 2003 ; Booth *et al.*, 2004).

Les coumarines ont des effets différents sur le développement des plantes suivant leur concentration et aussi selon l'espèce. Dans la cellule végétale elles sont principalement présentes sous forme glycosylées, cette glycosylation est une forme de stockage permettant d'éviter les effets toxiques de ces molécules. Elles sont considérées comme des phytoalexines, c'est-à-dire de métabolites, que la plante synthétise en grande quantité pour lutter contre une infection causée par des champignons ou par des bactéries (Hoffmann, 2003).

3.6. Les stilbènes

Les membres de cette famille possèdent la structure C6-C2-C6 comme les flavonoïdes. Ce sont des phytoalexines, composés produits par les plantes en réponse à l'attaque par les microbes pathogènes fongiques, bactériens et viraux. Les sources principales des stilbènes sont les raisins, les vins, le soja et les arachides (Crozier *et al.*, 2006).

4. Propriétés pharmacologiques des composés phénoliques

Les recherches effectuées sur les composés phénoliques en générale et les flavonoïdes en particulier sont très poussées, en raison de leurs diverses propriétés physiologiques. (Middelton *et al.*, 2000).

Les flavonoïdes sont des composés présentant de nombreuses activités : antioxydante, anti-inflammatoire, propriété antiallergique, et préventions des maladies cardiovasculaires. Pharmacologiquement les aglycones sont particulièrement efficaces (Sharma *et al.*, 2008).

Chapitre 2 : Les Composés phénoliques

Les acides phénols sont anti-inflammatoires, antiseptiques urinaire, antiradicalaires, hépatoprotecteurs et immunostimulants (**Bruneton, 1999**).

Les coumarines sont des molécules biologiquement actives, qui manifestent diverses activités: anti-agrégation plaquettaire, anti-inflammatoire, anticoagulante, antitumorale, diurétiques, antimicrobienne, antivirale et analgésique (**Bouزيد, 2009**).

Les tanins sont aussi des molécules biologiquement actives, douées d'activités pharmacologiques remarquables et des effets significatifs sur la santé humaine. La fixation des tanins avec les protéines provoque l'inhibition de plusieurs enzymes. Ils ont des grandes capacités antioxydantes dues à leurs noyaux phénol, ils sont 15 à 30 fois plus efficaces que les phénols simples, comme ils ont une action vasoconstrictrice sur les petits vaisseaux : cette propriété, explique leur emploi dans les hémorroïdes et les blessures superficielles (**Perret, 2001 ; Atefeibu, 2002 ; Okuda, 2005 ; Peronny, 2005**).

Partie 1 : Etude bibliographique

Chapitre 3 : *Crataegus monogyna*

Chapitre 3 : *Crataegus monogyna*

1. Définition

Crataegus monogyna (l'aubépine monogyne), aussi appelée Aubépine à un style, est un arbuste ou petit arbre épineux, touffu du genre *Crataegus* et de la famille des Rosacée. Cette famille est constituée de 100 genres dont 200 espèces de *Crataegus*, elle est très commune dans les bois clairs et les forêts de chênes (Crété, 1965 ; Domnez, 2004 ; Schauenberg et Paris, 2016).

2. Description botanique

Il s'agit d'un arbuste ou petite arbre épineux touffu, atteignant 8 m de haut, à écorce lisse gris pâle, puis brune et écailleuse. Les feuilles d'un vert brillant, caduques, profondément divisées en 3 à 5 lobes aigus et Écartés. Fleurs très abondantes en mai, blanches avec une odeur vive plutôt désagréable, disposées en cyme large ; un style. Les fruits (cenelles) ovoïdes (de 8 à 10 mm), ont une chaire farineuse et douceâtre, rouges clairs, avec une seule graine, lisse et luisante. Ils prennent une couleur rouge sombre à maturité (en Septembre) (Bruneton, 1993 ; Chevalier et Crouzet-Segarra, 2004 ; Schauenberg et Paris, 2016) (Fig. n°06).



Figure n°06 : Fruit, fleurs et feuilles de *Crataegus monogyna* Jacq.

(<https://futureforests.ie/products/crataegus-monogyna>)

(<https://www.crocus.co.uk/plants/crataegus-monogyna>)

Chapitre 3 : *Crataegus monogyna*

3. Classification botanique

Le tableau n°03 montre la classification de *C. monogyna* selon la systématique des plantes à fleurs de Cronquist, (1981).

Tableau n°03: Classification taxonomique de l'espèce *C. monogyna* Jacq.

Embranchement	Spermaphytes
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Rosidae.
Ordre	Rosales
Famille	Rosaceae
Genre	<i>Crataegus</i>
Espèce	<i>Crataegus monogyna</i> Jacq.

4. Dénominations vernaculaires

Plusieurs noms vernaculaires ont été attribués à l'aubépine dans différents pays du monde, et parfois même au sein de la même région (Tabl. n°04).

Tableau n°04: Noms vernaculaires de l'aubépine.

Langue	Nom vernaculaire	Références
Arabe	Zaarour Berri, Admam, Boumekhri, baba aajina, ain elbakra.	(Djerroumi et Nacef., 2004).
Berbère	Idhmim, atelmen, Zaarour	
Français	Épine blanche, Épine de mai, Valériane du cœur, Senellier	(Fabre <i>et al.</i> , 1992).
Indien	Vansaangli	(Kashyap <i>et al.</i> , 2012).
Anglais	Hawthorn, Quickthorn	(Zhang, 2002).

5. Aires de répartition

Au niveau mondial, *C. monogyna* occupe une aire très vaste comprenant toute l'Europe, l'Afrique du Nord et l'Asie occidentale jusqu'à l'Inde, et se trouve dans toute la France surtout le Midi (sud de la France) (Aymonin, 1993 ; Brosse, 2000 ; Koyuncu *et al.*, 2007).

Chapitre 3 : *Crataegus monogyna*

En Algérie, elle est commune dans les forêts et les maquis de l'Atlas Tallien, elle peut être confondue avec d'autres espèces (Temani, 1993 in Farhat, 2007).

6. Composition Chimique

6.1. Composition en métabolites primaires

Des études réalisées par différents chercheurs montrent que l'aubépine est une source riche en plusieurs constituants essentiels, ayant un effet positif sur la santé (Tabl. n°05 et n°06).

Tableau n°05 : Les glucides du *C. monogyna* (Saadoudi, 2008).

Métabolites	Teneurs (g/100 de matière sèche).
Sucres solubles	11,45
Sucres réducteurs	7,86
Saccharose	3,59
Cellulose	11,40
Pectines	1,60

Tableau n°06 : Composition minérale et vitaminique de partie comestible des fruits de *C.monogyna* (Boudraa et al., 2010).

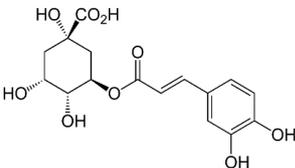
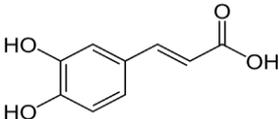
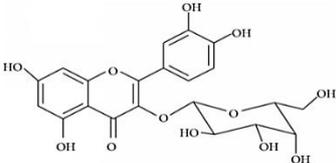
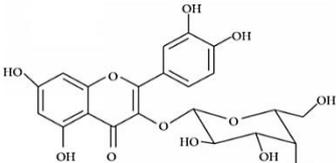
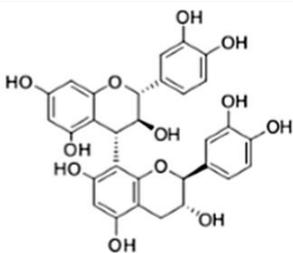
Fraction		Teneurs
Eléments minéraux (mg/100g de matière sèche)	Calcium	414,18
	Magnésium	156,52
	Potassium	1694,80
	Fer	4,09
	Manganèse	1,52
	Zinc	0,32
Vitamines (mg/100g de matière fraîche).	Tocopherol	0,79
	Carotène	1,37
	Vitamine C	4,07
	Thiamine B ₁	0,005

Chapitre 3 : *Crataegus monogyna*

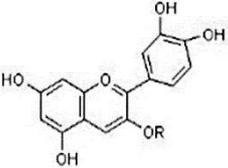
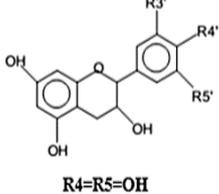
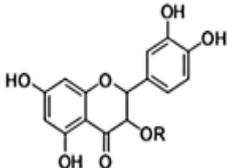
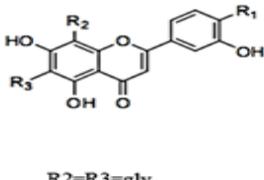
6.2. Composition en métabolites secondaires

C. monogyna est une source riche en métabolites secondaires principalement : les acides phénoliques (acide chlorogénique et acide caféique), les flavonoïdes (vitexin, quercétine, vitexine-2-rhamnoside, proanthocyanidine, épicatechine, apigénine-6,8, di-C-glycoside), les tanins, les coumarines, les triterpènes et acides triterpénique et les Huiles essentielles en trace (Bouزيد, 2009 ; Kumar *et al.*, 2012) (Tabl. n°07).

Tableau n°7 : Principaux composés phénoliques du *C. monogyna* (Kumar *et al.*, 2012).

Le nom	Molécules	Caractéristiques
Acide chlorogénique		Acide phénolique
Acide caféique		Acide phénolique
Hyperoside		Composé polyphénolique
Vitexine-2rhamnoside		Flavonoïdes
Proanthocyanidine		Flavonoïdes

Chapitre 3 : *Crataegus monogyna*

Anthocyanine		Flavonoïdes : glycosides des anthocyanidines.
Epicatéchine	 <p style="text-align: center;">R4=R5=OH</p>	Flavonoïdes : Flavones
Quercétine		Flavonoïdes : Flavonols
Apigenin-6,8-di-C-glycosides	 <p style="text-align: center;">R1=H</p> <p style="text-align: center;">R2=R3=gly</p>	Flavonoïdes : Flavones

7. Propriétés thérapeutiques

C. monogyna est une plante médicinale qui occupe une place importante en phytothérapie, comme elle est inscrite à la pharmacopée française en raison de ses actions sédatives, vasculoprotectrices et antioxydantes et de sa faible toxicité (**Bahorun, 1997**).

Bien que traditionnellement, les fruits de l'aubépine fussent employés 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 fleuries 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 neurosedatives, cardiosedatives, vasodilatatrices et antispasmodiques peuvent être utilisées dans les insomnies, le nervosisme, l'émotivité et le surmenage. Les fruits sont légèrement astringents et s'emploient en gargarisme contre les maux de gorge (**Beloued, 1998 ; Bouzid, 2009**).

Chapitre 3 : *Crataegus monogyna*

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 ; Vivar-Vera et al., 2007; Tahirović et Bašić, 2014**).

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 (**Chang et al., 2002 ; Zhang et al., 2006 ; 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 genre *Crataegus* augmente la concentration du α -Tocophérol et inhibe l'oxydation des LDL (Low Density Lipoprotein) humains (**Zhang et al., 2004**).

Des études cliniques ont mis en évidence que des extraits d'aubépine étaient efficaces dans le traitement des insuffisances cardiaques de stade I et II (**Zapfe, 2001; Pittler et al., 2003 ; Schroder et al., 2003**).

Les acides phénoliques de l'aubépine ; acide cratègique, acide chlorogénique, acide tartrique et l'acide triterpénique 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**).

D'autres études ont prouvé que les fleurs de *C. monogyna* sont très riches en acide corosolique, qui a la capacité d'inhiber les enzymes α -amylase et α -glucosidase, et réduire le taux de glucose plasmatique chez l'homme (**Caligiani et al., 2003**).

L'aubépine est aussi capable d'inhiber la lipase pancréatique et l' α -amylase pancréatique ce qui lui confère un effet antidiabétique (**Aierken et al., 2017**).

D'autre part, l'extrait méthanolique et l'extrait aqueux des feuilles et des fleurs de *C. oxycantha* (ssp. *C. monogyna*), ont montré une activité inhibitrice vis-à-vis de l' α -amylase avec des pourcentages d'inhibition de 63,2% et 39,8%, respectivement (**Buchholz et Melzig, 2016, Aksoy-Sagirili et al., 2017**).

Ainsi, le fruit de deux genres de *Crataegus* (*pinnatifida bunge* et *pinnatifida bunge* var. *typica* et *microphylla*) possède une activité inhibitrice vis-à-vis de l' α -glucosidase avec des CI_{50} =766,22±8,14 et 2126,65±12,33 μ g/mL, respectivement (**Li et al., 2010**).

Partie 2 : Partie Expérimentale

Chapitre 1 : Matériel et méthodes

Notre étude expérimentale a été effectuée au sein du laboratoire de recherche «Antibiotiques, Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique » (LAPSAB).

Cette étude consiste à quantifier les teneurs en composés phénoliques au niveau des différents extraits de *C. monogyna* et d'évaluer l'activité inhibitrice de ces extraits sur l'activité de l' α -amylase. Cependant, cette dernière partie n'a pas été réalisée à cause des conditions sanitaires et le confinement dû au Covid-19 qui touche le monde entier.

1. Matériel végétal

1.1. Préparation du matériel végétal

Le matériel végétal utilisé au cours de notre étude est constitué de feuilles et de fruits de *C. monogyna* (l'aubépine), cueillies au mois de Décembre (2019), au niveau de la commune d'Aïn El-kbira, wilaya de Tlemcen.

Le matériel végétal a été séché à l'abri de la lumière, dans un endroit bien aéré à l'abri de l'humidité, et à température ambiante, afin d'éviter toute modification ou dégradation des constituants présents. Après séchage, les feuilles et les fruits sont broyés à l'aide d'un mortier jusqu'à l'obtention d'une poudre fine qui a servi pour la préparation des extraits (Fig. n°07 et 08).



Figure n°07 : Feuilles de *C. monogyna* sèches (A) et broyées (B).

(Photo prise au laboratoire)



(A)

(B)

Figure n°08 : Fruits de *C. monogyna* secs (A) et broyés (B).

(Photo prise au laboratoire)

1.2. Extraction du matériel végétal

Les extraits étudiés au cours de notre travail sont préparés selon le mode d'extraction sous reflux (décoction) (Fig. n°09).

25 g de matière végétale en poudre sont mis en contact avec 500 mL d'un mélange eau/méthanol (30:70 ; v/v). La préparation est portée sous reflux pendant 1 h, sous agitation. Après filtration, l'extrait hydrométhanolique récupéré est concentré à l'aide d'un rotavapeur à 50°C. Ensuite, l'extrait brut obtenu est partagé successivement par une extraction liquide-liquide avec le dichlorométhane, l'acétate d'éthyle et le n- butanol.

L'extrait brut ainsi que les fractions organiques obtenues après extraction liquide-liquide sont évaporés à sec puis conservés jusqu'à leur utilisation.

Les extraits testés dans ce travail pour les deux parties de la plante sont :

- ✓ Extrait brut eau/méthanol ;
- ✓ Fraction dichlorométhane ;
- ✓ Fraction acétate d'éthyle ;
- ✓ Fraction n-butanol ;
- ✓ La phase aqueuse résiduelle.

Matériel et Méthodes

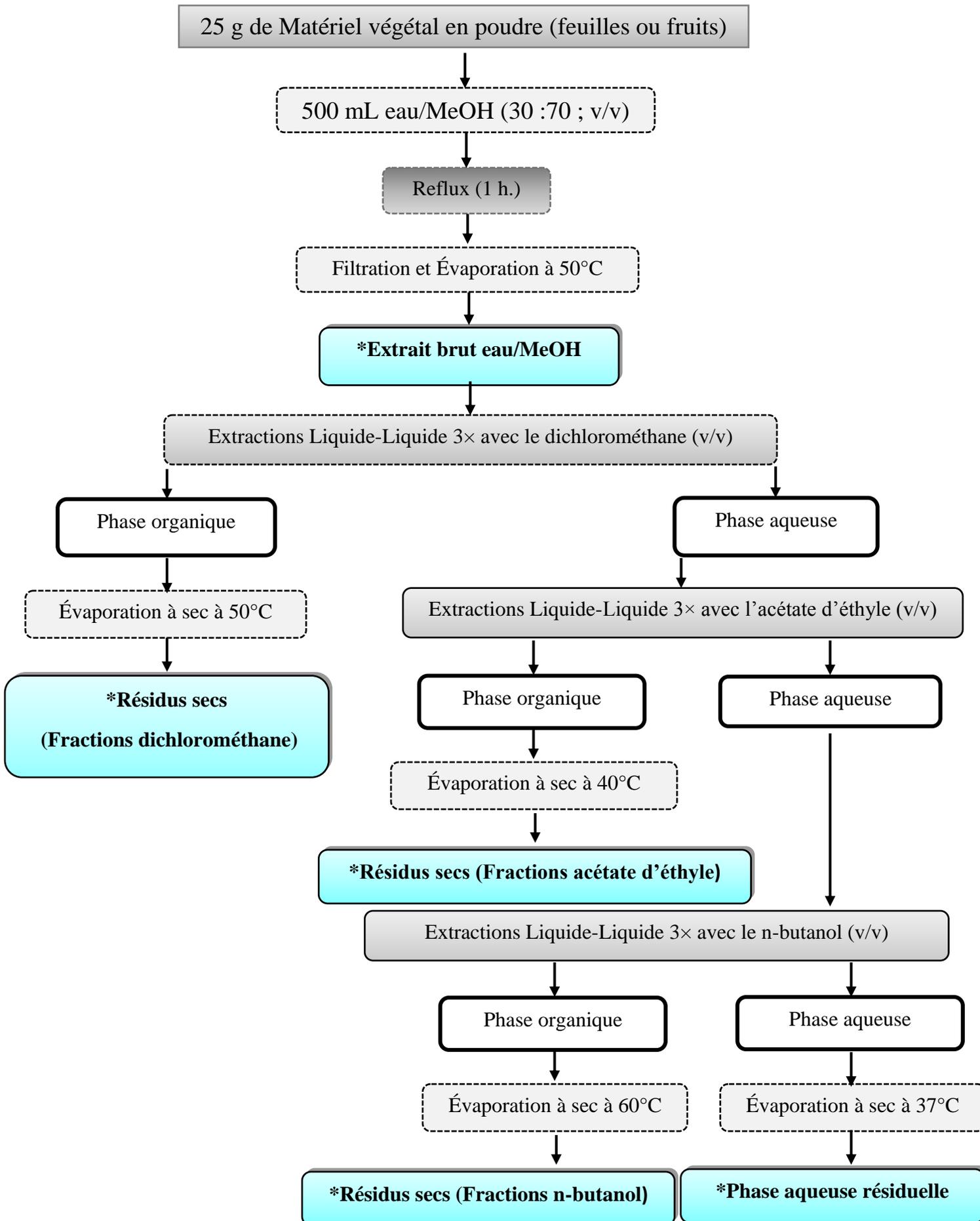


Figure n°09: Protocole d'extraction des feuilles et des fruits de *C. monogyna*.

2. Dosage des composés phénoliques

2.1. Dosage des polyphénols totaux

a) Principe

Le dosage des polyphénols totaux est effectué selon la méthode adaptée par Vermerius et Nicholson (2006), en utilisant le réactif de Folin–Ciocalteu. Ce dernier est constitué d'un mélange d'acides phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$), et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$) de couleur jaune. Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des composés phénoliques par ce réactif. Elle entraîne la formation d'un nouveau complexe molybdène-tungstène de couleur bleue qui absorbe à 725 nm.

b) Mode opératoire

0,1 mL de chaque extrait (1 mg/mL) est introduit dans des tubes à essai, suivi de l'addition de 2 mL d'une solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 2%, le tout est agité puis incubé pendant 5 min. Ensuite, un volume de 100 μ L de réactif de Folin-Ciocalteu (1N) est ajouté au mélange. Les solutions obtenues ont été incubées pendant 30 min à température ambiante. La lecture des densités optiques est effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre contre un blanc à 700 nm.

En parallèle, une courbe d'étalonnage est réalisée dans les mêmes conditions opératoires, en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif à différentes concentrations (0,05 ; 0,1 ; 0,2 ; 0,3 ; 0,4 ; 0,5 ; 0,6 mg/mL).

2.2. Dosage des flavonoïdes

a) Principe

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par la méthode spectrophotométrique décrite par Ardestani et Yazdanparast en 2007. Cette méthode est basée sur l'utilisation de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) qui forme un complexe jaune avec les flavonoïdes. L'addition de la soude ($NaOH$) rend le milieu alcalin, ce qui traduit par un changement de la couleur du complexe précédent à un complexe de couleur rose qui absorbe à 510 nm.

b) Mode opératoire

Dans des tubes à essai, 500 μ L de chaque extrait (1 mg/mL) sont dilués avec 2 mL d'eau distillée, suivis de l'addition de 150 μ L d'une solution de nitrite de sodium ($NaNO_2$) à 15 %. Après 6 min d'incubation à température ambiante, un volume de 150 μ L d' $AlCl_3$ à 10% est ajouté au mélange suivi d'une 2^{ème} incubation pendant 6 min à température ambiante.

Ensuite, 2 mL d'hydroxyde de sodium (NaOH) à 4% sont ajoutés immédiatement. Le volume total est ajusté à 5 mL avec l'eau distillée. Ensuite, les tubes sont agités puis incubés pendant 15 min. La lecture des densités optiques est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre contre un blanc à 510 nm.

Dans les mêmes conditions opératoires, une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle, en utilisant la catéchine comme contrôle positif à différentes concentrations (0,05 ; 0,1 ; 0,2 ; 0,3 ; 0,4 ; 0,5 ; 0,6 mg/mL).

2.3. Dosage des tanins condensés

a) Principe

Les tanins condensés contenus dans les différents extraits sont estimés en utilisant la méthode à vanilline. Dans un milieu acide, les tanins condensés se dépolymérisent, et par réaction avec la vanilline, se transforment en anthocyanidols de couleur rouge mesurables par spectrophotométrie à 500 nm (Sun *et al.*, 1998).

b) Mode opératoire

Dans des tubes à essai, un volume de 50 µL de chaque extrait (10 mg/mL) est mélangé avec 1500 µL de la solution vanilline/méthanol (4 %, m/v). Après agitation, 750 µL d'acide chlorhydrique concentré (HCl) sont additionnés. Le mélange est laissé réagir à température ambiante pendant 20 min. Ensuite, La lecture de l'absorbance est effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre contre un blanc à 550 nm.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires, en utilisant la catéchine comme contrôle positif à différentes concentrations (0,05; 0,2 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8 ; 1 mg/mL).

2.4. Expression des résultats

Les courbes d'étalonnages sont tracées à l'aide du logiciel Sigma plot (12.0) et les teneurs en polyphénols, flavonoïdes et tanins condensés, sont calculées selon la formule suivante :

$$T = a*f/b$$

T : Teneur en composé phénolique (polyphénols totaux ou flavonoïdes ou tanins condensés);
a : Concentration en composé phénolique déterminée à partir de la courbe d'étalonnage respective ;
f : Facteur de dilution ;
b : Concentration initiale de l'extrait.

3. Evaluation de l'activité inhibitrice de l' α -amylase

3.1.Principe de la méthode de Bernfeld (1955).

Le principe de cette méthode repose sur le dosage des groupements aldéhydes et cétones libre des sucres réducteurs libérés lors de l'hydrolyse de l'amidon par l' α - amylase.

En milieu alcalin et à chaud, l'oxydation de ces fonctions provoque simultanément la réduction de l'acide 3,5-dinitrosalicylique (DNSA) de couleur jaune orange en acide 3-amino 5-nitrosalicylique de couleur rouge orange qui absorbe à 540 nm. L'intensité de la coloration varie selon la quantité de sucres réducteurs présents dans le milieu réactionnel (**Bernfeld, 1955**).

3.2. Mode opératoire décrite par Thalapaneni *et al.*, (2008)

0,5 mL de chaque extrait (ou acarbose) à différentes concentrations sont ajoutés à 0,5 mL du tampon phosphate (0,02M ; pH=6) et 0,5 mL d'une solution d' α -amylase (1,3 UI/mL). Le mélange est pré-incubé pendant 10 min à 25°C, ensuite 0,5 mL d'une solution d'amidon à 1% est additionné.

Après avoir préparé les tubes précédents, les étapes suivantes sont procédées :

- ✓ Agitation des tubes puis incubation pendant 10 min à 25°C ;
- ✓ Addition de 1 mL de DNSA dans chaque tube ;
- ✓ Incubation dans un bain mari bouillant pendant 5 min ;
- ✓ Refroidissement dans un bain d'eau glacée (choc thermique);
- ✓ Dilution avec 10 mL d'eau distillée ;
- ✓ Lecture des absorbances à 540 nm contre les tubes blancs.

a. Réaction enzymatique en absence d'inhibiteur

- Tube contrôle négatif : 0,5 mL de tampon phosphate + 0,5 mL solution enzymatique + 0,5 mL amidon
- Tube blanc : 1 mL de tampon phosphate + 0,5 mL amidon.

b. Réaction enzymatique en présence des extraits ou d'acarbose à différentes concentrations

- Tube expérimental : 0,5 mL de solution d'extrait (ou acarbose) + 0,5 mL solution enzymatique + 0,5 mL amidon.
- Tube blanc: 0,5 mL de solution d'extrait (ou acarbose) + 0,5 mL solution tampon + 0,5 mL d'amidon.

Chapitre 2 : Résultats et interprétation

Résultats et interprétation

1. Calcul des rendements d'extraction

Le pourcentage de rendement des différents extraits est calculé par rapport à 25 g du matériel végétal sec et broyé selon la formule suivante :

$$\text{Rendement \%} = (m0/m1) \times 100$$

% : Pourcentage

m0 : Masse en gramme de l'extrait sec obtenu après évaporation ;

m1 : Masse en gramme de la matière végétale initiale sèche

Les différents extraits préparés à partir des feuilles et des fruits de la plante *Crataegus monogyna* présentent des rendements et des caractéristiques différents (aspects, couleurs, solubilité), (Tabl. n°08).

Tableau n°08 : Rendements et caractéristiques des différents extraits des feuilles et des fruits de *C. monogyna*.

Partie de la plante	Extraits	Rendements (%)	Aspect	Couleur	Solubilité
Feuilles	Extrait brut	23,00	Pâte	Marron foncée	Éthanol
	Fraction Dichlorométhane	4,40	Pâte	Marron verdâtre	Éthanol
	Fraction Acétate d'éthyle	6,00	Pâte	Marron foncée	Éthanol
	Fraction n-butanol	3,50	Pâte	Marron foncée	Eau/ Éthanol
	Phase aqueuse résiduelle	14,60	Pâte	Marron foncée	Eau/Éthanol
Fruits	Extrait brut	23,40	Pâte	Marron foncée	Eau/ Éthanol
	Fraction Dichlorométhane	0,80	Pâte	Marron verdâtre	Eau/ Éthanol
	Fraction Acétate d'éthyle	20,00	Pâte	Marron foncée	Eau/ Éthanol
	Fraction n-butanol	19,20	Pâte	Marron foncée	Eau/ Éthanol
	Phase aqueuse résiduelle	9,56	Pâte	Marron foncée	Eau distillée

D'après les résultats du tableau n°08, on remarque que tous les extraits récupérés des deux parties de la plante « feuilles et fruits » possèdent le même aspect « pâte », avec une couleur marron foncée à l'exception de la fraction dichlorométhane qui présente une couleur marron verdâtre.

L'extrait brut ainsi que les fractions dichlorométhane et acétate d'éthyle récupérés à partir des « feuilles » sont solubles dans l'éthanol. Alors que la fraction n-butanol et la phase aqueuse résiduelle de la même partie sont solubles dans le mélange eau/éthanol. Par contre, tous les extraits obtenus à partir des « fruits » sont solubles dans le mélange eau/éthanol à l'exception de la phase aqueuse résiduelle qui est soluble dans l'eau distillée.

D'autre part, on note que les rendements d'extractions varient d'un extrait à un autre dans un intervalle de 0,8% jusqu'à 23,4%.

Les plus rentables sont les extraits bruts eau/méthanol des deux parties « feuilles » et « fruits » avec un pourcentage de 23% et 23,4%, respectivement, suivi de la fraction d'acétate d'éthyle (20%) et de n-butanol (19,20%) de la partie fruits. De plus, les phases aqueuses résiduelles récupérées des deux parties « feuilles et fruits », enregistrent des rendements relativement importants de 14,6% et 9,56%, respectivement.

On note aussi que les fractions dichlorométhane, acétate d'éthyle et n-butanol issues des « feuilles », présentent les rendements les plus faibles qui sont respectivement 4,4 % ; 6% et 3,5%. Cependant, la fraction dichlorométhane récupérée de la partie « fruits » montre un rendement très faible de 0,8%.

2. Teneurs en composés phénoliques

2.1. Teneurs en polyphénols totaux

L'estimation quantitative des polyphénols totaux en équivalent acide gallique, dans les différents extraits de *C. monogyna* a été réalisée par la méthode de Folin-Ciocalteu.

La quantité des polyphénols totaux correspondante à chaque extrait a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage établie avec l'acide gallique, et elle est exprimée en mg équivalent acide gallique par gramme d'extrait (mgEAG/gE) (Fig. n°10). Les résultats relatifs à ces teneurs sont regroupés dans le tableau n°09.

Résultats et interprétation

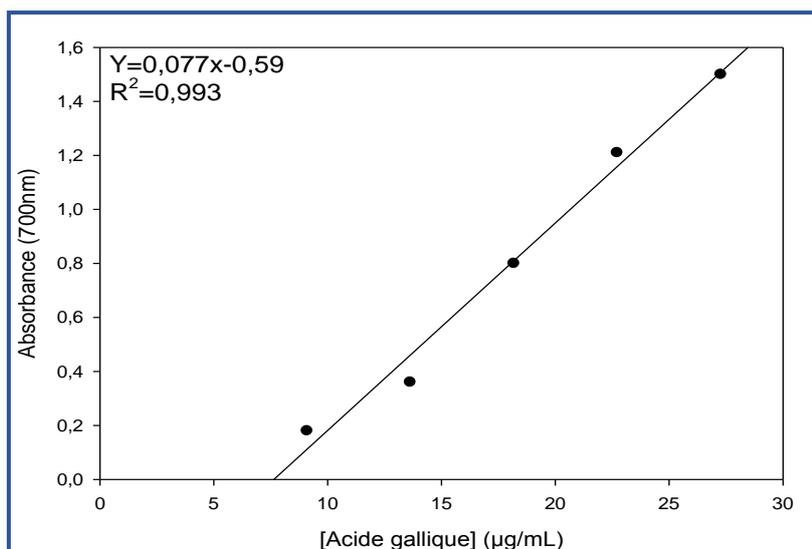


Figure n°10: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

Tableau n°09 : Teneurs en polyphénols totaux dans les différents extraits des feuilles et des fruits *C. monogyna*.

Extraits		Extrait brut	Fraction Dichlorométhane	Fraction Acétate d'éthyle	Fraction n-butanol	Phase aqueuse résiduelle
Teneurs en polyphénols Totaux (mgEAG/gE)	Feuilles	276,98±0,028	209,88±0,015	449,02±0,04	223,08±0,047	189,64±0,007
	Fruits	186,12±0,004	78,57±0,03	201,96±0,005	193,82±0,024	174,90±0,005

Chaque valeur représente la moyenne ± Ecartype (n=3)

Selon les résultats obtenus, les teneurs en polyphénols totaux dans les différents extraits de *C. monogyna* montrent une différence entre les deux parties « feuilles et fruits ».

On remarque que les différents extraits issus des feuilles sont très riches en composés polyphénoliques par rapport à ceux issus des fruits.

En effet, la fraction acétate d'éthyle récupérée des « feuilles » enregistre la teneur la plus élevée polyphénols totaux avec un taux de 449,02±0,04 mg EAG/gE, suivie de l'extrait brut et la fraction n-butanol de la même partie avec des teneurs de 276,98±0,028 et 223,08±0,047 mg EAG/gE, respectivement.

Résultats et interprétation

Pour la partie « fruits », la fraction acétate d'éthyle enregistre la teneur la plus élevée en polyphénols totaux de $201,96 \pm 0,005$ mg EAG/gE, suivie de la fraction n-butanol et l'extrait brut avec des teneurs de $193,82 \pm 0,024$ et $186,12 \pm 0,004$ mg EAG/gE, respectivement. Alors que, la fraction dichlorométhane présente la teneur la plus basse en de l'ordre de $78,57 \pm 0,03$ mg EAG/gE.

2.2. Teneurs en flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes dans les différents extraits des « feuilles » et des « fruits » de *C. monogyna* ont été estimées selon la méthode au trichlorure d'aluminium. La catéchine est utilisée comme contrôle positif, qui a permis de réaliser une courbe d'étalonnage (Fig. n°11), avec laquelle on calcul la teneur en flavonoïdes au niveau de nos extraits (Tabl. n°10).

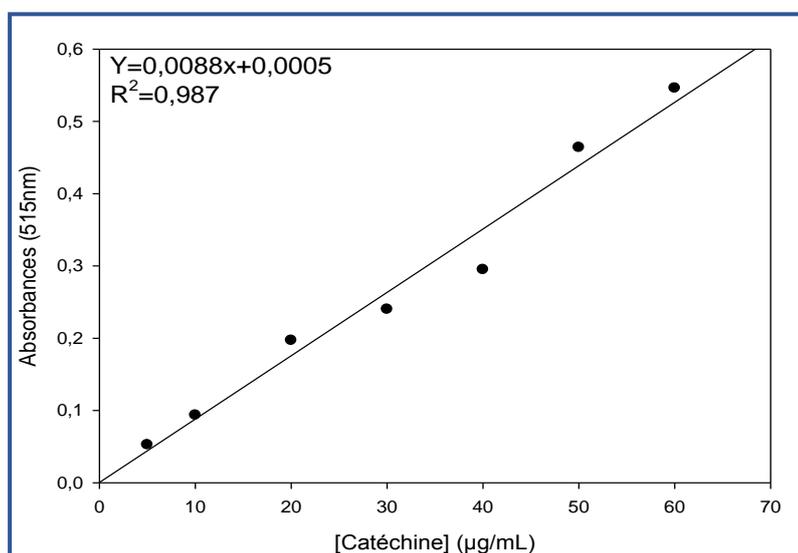


Figure n°11 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes.

Tableau n°10 : Teneurs en flavonoïdes dans les différents extraits des feuilles et des fruits de *C. monogyna*

Extraits		Extrait brut	Fraction Dichlorométhane	Fraction Acétate d'éthyle	Fraction n- butanol	Phase aqueuse résiduelle
Teneurs en flavonoïdes (mgEQC/gE)	Feuilles	$143,75 \pm 0,07$	$126,70 \pm 0,055$	$131,20 \pm 0,041$	$70,45 \pm 0,037$	$59,66 \pm 0,020$
	Fruits	$109,66 \pm 0,002$	$187,05 \pm 0,142$	$240,30 \pm 0,003$	$132,40 \pm 0,003$	$36,90 \pm 0,0031$

Chaque valeur représente la moyenne \pm Ecartype (n=3)

Selon les résultats du dosage quantitatif des flavonoïdes (Tabl. n°10), on observe que ces teneurs varient d'un extrait à un autre. On note que la fraction qui donne la plus grande teneur en flavonoïdes est celle d'acétate d'éthyle issue des « fruits » ($240,30 \pm 0,003$ mgEQC/gE), suivie de la fraction dichlorométhane et n-butanol ($187,05 \pm 0,142$ et $132,40 \pm 0,003$ mgEQC/gE, respectivement) de la même partie.

Par contre, les teneurs les plus faibles sont marquées dans la fraction n-butanol des « feuilles » et les phases aqueuses résiduelles récupérées des deux parties « feuilles et fruits » avec des taux de : $70,45 \pm 0,037$; $59,66 \pm 0,020$ et $36,90 \pm 0,0031$ mgEQC/gE, respectivement.

Le reste des extraits renferment des taux relativement importants en flavonoïdes dans les deux parties entre $109,66 \pm 0,002$ et $143,75 \pm 0,07$ mgEQC/gE.

2.3. Teneurs en tanins condensés

La quantification des tanins condensés dans les différents extraits des feuilles et des fruits de *C. monogyna* a été effectuée par la méthode de vanilline. Une courbe d'étalonnage est réalisée en utilisant la catéchine comme référence et les quantités des tanins correspondantes ont été exprimées en milligramme équivalent catéchine par gramme d'extrait (mgEQC/gE) (Fig. n°12). Les résultats quantitatifs des tanins condensés sont résumés dans le tableau n°11.

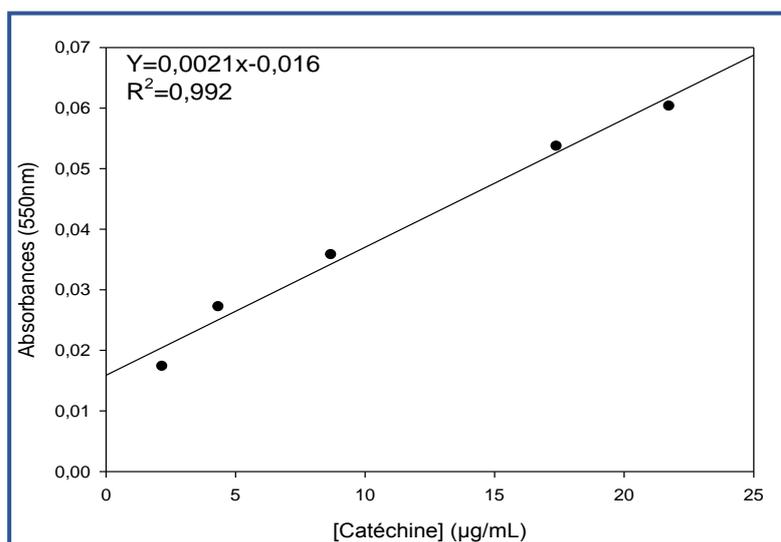


Figure n°12 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés.

Résultats et interprétation

Tableau n°11 : Teneurs en tanins condensés dans les différents extraits des feuilles et des fruits de *C. monogyna*

Extraits		Extrait brut	Fraction Dichlorométhane	Fraction Acétate d'éthyle	Fraction n-butanol	Phase aqueuse résiduelle
Teneurs en tanins condensés (mgEQC/gE)	Feuilles	210,26±0,015	118,26±0,016	565,11±0,013	127,05±0,02	67,89±0,019
	Fruits	78,84±0,022	116,19±0,014	324,16±0,0046	124,84±0,0065	10,95±0,0003

Chaque valeur représente la moyenne ± Ecartype (n=3)

Les résultats du tableau n°11, révèlent que la fraction acétate d'éthyle des « feuilles » de *C. monogyna* renferme la teneur la plus élevée en tanins condensés avec une valeur de 565,11±0,013 mgEQC/gE. Elle est suivie de la même fraction des « fruits » et l'extrait brut des feuilles avec des teneurs de 324,16±0,0046 et 210,26±0,015 mgEQC/gE, respectivement.

En outre, les fractions n-butanol et les fractions dichlorométhane des deux parties de la plante, présentent des teneurs rapprochées. Tandis que, les phases aqueuses résiduelles récupérées des deux parties « feuilles » et « fruits », représentent les teneurs les plus faibles en tanins condensés de l'ordre de 67,89±0,019 et 10,95±0,0003 mgEQC/gE, respectivement.

Discussion

Les polyphénols ou composés phénoliques, sont des molécules spécifiques du règne végétal. Cette appellation générique désigne un vaste ensemble de substances aux structures variées qu'il est difficile de définir simplement (**Bruneton, 1993**).

Ces composés possèdent un large éventail d'effets biologiques, y compris les effets antibactériens, anti-inflammatoires, antiallergiques, hépatoprotecteurs, antithrombotiques, antiviraux, anticarcinogènes, cardioprotecteurs et vasodilatatoires... (**Wong et al., 2006**).

Une des caractéristiques des composés phénoliques qu'ils partagent généralement avec l'ensemble des métabolites secondaires, est de montrer une répartition très inégale chez les différentes espèces végétales et pour une même espèce, selon la variété et le stade d'évolution physiologique (**Macheix et al., 1990 ; Fleuriet et Macheix, 2003**).

Le genre *Crataegus* regroupe plusieurs espèces connues par leurs richesses en composés phénoliques. En effet, de nombreux composés phénoliques ont été détectés chez l'espèce *C. monogyna* (**Aksoy-Sagirli et al., 2017 ; Nabavi et al., 2015**).

Dans ce travail, l'extraction et le dosage quantitatif de quelques composés phénoliques dans les différents extraits des feuilles et des fruits de *C. monogyna* donne des résultats qui méritent d'être discutés.

Dans un premier temps, la préparation de l'extrait brut eau/méthanol par décoction et ses fractions : dichlorométhane, acétate d'éthyle et n-butanol par extraction liquide-liquide ainsi que la dernière phase aqueuse des deux parties de la plante, donnent des rendements variables d'un extrait à un autre. En effet, les extraits les plus rentables sont les extraits bruts avec des pourcentages très proches de 23 et 23,4% pour les deux parties « feuilles et fruits », respectivement, suivie des extraits acétate d'éthyle et n-butanol de la partie « fruits » avec des pourcentages presque égaux de 20% et 19,2%, respectivement. Ainsi, la phase aqueuse résiduelle des « feuilles » a enregistré un rendement plus moins important de 14,6%.

En comparant ces résultats avec ceux reportés par Bouzid *et al.* (2011), qui trouvent un rendement de 40% d'extrait méthanolique des fruits de *C. monogyna*, ce résultat est nettement supérieur par rapport à ceux obtenus dans notre étude. Dans le même travail, les auteurs trouvent des rendements assez faibles de 0,6 % ; 0,18% et 6% pour les extraits préparés dans l'éther de pétrole, le dichlorométhane et l'eau, respectivement.

Les résultats de dosage quantitatif effectué sur les différents extraits de *C. monogyna*, montrent que pour la partie « feuilles », l'extrait d'acétate d'éthyle referme les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux et tanins condensés (449,02±0,04 mg EAG/gE et

565,11±0,013 mgEQC/gE, respectivement), alors que la teneur la plus élevée en flavonoïdes est donnée par l'extrait brut (143,75±0,07mgEQC/gE). Pour la partie « fruits », l'extrait acétate d'éthyle renferme les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux, flavonoïdes, et en tanins condensés avec des taux de 201,96±0,005 mg EAG/gE ; 240,30±0,003 mgEQC/gE ; 324,16±0,0046 mgEQC/gE, respectivement.

Ces résultats restent différents par rapport à ceux reportés par Bahorun *et al.* (1993) où les teneurs en polyphénols dans l'extrait acétate d'éthyle étaient de l'ordre de 1625 mg/100g MS et 1707 mg/100g MS pour les feuilles et les fruits, respectivement. Alors que le taux en flavonoïdes dans l'extrait acétate d'éthyle de la partie feuilles donne une valeur de 830 mg/100g MS. Tandis que l'extrait aqueux des fruits renferme un taux de 757,15±2,56 µMQE, résultat obtenu par Kiselova *et al.* (2006). D'autre part, l'extrait éthanolique de cette même partie renferme un taux de polyphénols de 182±4,0 mg/100mL d'après Bernatoniene *et al.* (2008).

La teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes au niveau des fruits de *C. monogyna* donne une teneur de 12,8 mgEAG/g de MS et 1,5 mg équivalent rutine/g de MS, respectivement dans le travail de Froehlicher *et al.* (2009).

Par rapport à nos résultats, les teneurs obtenus par Bouzid *et al.* (2011), en polyphénols, flavonoïdes et tanins condensés des différents extraits des fruits de *C. monogyna* sont très basses. La teneur la plus élevée en polyphénols est de 21,72±6,10 µg EAG/mgE au niveau de l'extrait méthanolique obtenu par macération successive, suivi de l'extrait dichlorométhane de 17,87±2,22 µg EAG/mgE. Alors que les flavonoïdes et les tanins donnent des valeurs qui varient entre 0,0 et 3,2 µg EQ/mgE. Ainsi, dans les résultats de Benhamama (2015), l'extrait hydroalcoolique des feuilles de *C. monogyna* a donné une teneur en polyphénols de 1010 mg EAG/100g de MS et en flavonoïdes de 680 mgEqQ/100g MS.

Le travail de Li *et al.* (2010), montre que l'extrait méthanolique de deux espèces de *Crateagus* (*pinnatifida* Bunge var. *typica* et *pinnatifida* Bunge) renferme un taux de polyphénols totaux de 54,33±3,67 et 101,56±5,19 mg équivalent acide tannique/gE, respectivement, alors que la teneur en flavonoïdes est de 11,25±1,78 et 44,52±1,41 mg équivalent catéchine/gE.

Les résultats obtenus par Tahirović et Bašić (2014), indiquent que les teneurs en polyphénols des fruits de *C. monogyna* varient entre 2,01 et 4,60 mg EAG/g de MS, alors que

Discussion

les teneurs en flavonoïdes varient entre 0,254 à 0,595 mg rutine/g de MS et les teneurs en anthoyanidines entre 0,187 et 1,168 mg cyanidine chloride/g de MS.

. L'étude faite par Alirezalu *et al.* (2018), donne des résultats complètement différents aux précédents. La teneur en polyphénols au niveau des feuilles des deux espèces de *C. monogyna* est de $33,88 \pm 0,28$ et $76,74 \pm 0,80$ mgEAG/g de MS, alors qu'au niveau des fleurs, elle est de $47,78 \pm 0,30$ et $12,23 \pm 0,18$ mgEAG/g de MS. Tandis que la teneur en flavonoïdes varie entre $4,68 \pm 0,16$ et $6,52 \pm 0,25$ mgEAG/g de MS au niveau des deux parties.

D'après des auteurs, le contenu en composés phénoliques vari qualitativement et quantitativement d'une plante à une autre et d'un organe à un autre, ce qui est le cas de *C. monogyna* et 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 et la durée de stockage. De plus, au cours de l'extraction, la qualité d'un extrait peut être influencée par plusieurs paramètres, à savoir la polarité du solvant, le temps, la température et la méthode d'extraction (**Aganga, 2001 ; Pedneault *et al.*, 2001 ; Fiorucci, 2006, Tiwari *et al.* 2011**).

Conclusion et perspectives

Les substances naturelles occupent de plus en plus une place de choix en thérapeutique. En effet, Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques.

C. monogyna ou l'aubépine monogyne est à la fois une plante médicinale, utilisée dans la médecine populaire, et une plante comestible commune, largement utilisée pour la préparation de différentes denrées alimentaires. Ces effets thérapeutiques sont directement liés à la richesse de cette plante en composés phénoliques dans ses différentes parties : feuilles, fleurs et fruits.

La quantification des composés phénoliques au niveau des extraits bruts, ainsi que ses fractions extraites par des solvants à polarités croissantes sur deux organes végétatifs de la partie aérienne « feuilles et fruits » de *C. monogyna*, montre une variabilité des teneurs entre les extraits.

Cette variabilité est expliquée par le type de solvant employé et l'organe végétatif utilisé. En effet, le contenu en composés phénoliques est attribué à la polarité du solvant. Ce dernier influence positivement la solubilité de ces composés phénoliques. L'acétate d'éthyle semble être le plus rentable pour l'extraction des polyphénols totaux, des flavonoïdes ainsi que les tanins condensés. Dans ces essais, les feuilles se sont montrées plus riches en polyphénols totaux, et en tanins condensés contrairement aux flavonoïdes qui sont plus abondants dans les fruits.

Ces résultats restent préliminaires, et il serait donc souhaitable d'approfondir notre étude en se basant notamment sur :

- L'évaluation de l'activité inhibitrice sur l'activité des enzymes digestives (α -amylase et α -glucosidase) afin d'achever l'objectif principal de ce travail ;
- La recherche, l'identification et la caractérisation des divers composés chimiques présents dans les différents extraits étudiés, en utilisant des techniques plus performantes (HPLC, RMN...).
- Tester d'autres méthodes et solvants d'extraction ;
- L'évaluation d'autres activités biologiques : antidiabétique, antioxydante...

Références bibliographiques

Références Bibliographiques

- **Abrams, C. K., Hamosh, M., Dutta, S. K., Hubbard, V. S., & Hamosh, P.** (1987). Role of nonpancreatic lipolytic activity in exocrine pancreatic insufficiency. *Gastroenterology*, 92(1), 125-129.
- **Achat, S.** (2013). Polyphénols de l'alimentation : extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques. Thèse de Doctorat en Chimie. Université de Béjaïa, Université d'Avignon et des pays Vaucluse.
- **Aganga, A. A., & Mosase, K. W.** (2001). Tannin content, nutritive value and dry matter digestibility of *Lonchocarpus capassa*, *Zizyphus mucronata*, *Sclerocarya birrea*, *Kirkia acuminata* and *Rhus lancea* seeds. *Animal Feed Science and Technology*, 91, 107-113.
- **Aierken, A., Buchholz, T., Chen, C., Zhang, X., & Melzig, M. F.** (2017). Hypoglycemic effect of hawthorn in type II diabetes mellitus rat model. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(13), 4557-4561.
- **Akshatha, V. J., Nalini, M. S., D'souza, C., & Prakash, H. S.** (2014). Streptomycete endophytes from anti-diabetic medicinal plants of the Western Ghats inhibit alpha-amylase and promote glucose uptake. *Letters in applied microbiology*, 58(5), 433-439.
- **Aksoy-Sagirli, P., Yilmaz-Ozden, T., Ozsoy, N., Celik, B. O., Kultur, S., & Melikoglu, G.** (2017). In vitro biological effects of *Crataegus microphylla* C. Koch. *Indian Journal of Traditional Knowledge*, 16(2), 189-196.
- **Alais C., Lindens G.** (1994). Première partie : Les constituants des aliments. Abrégés de biochimie alimentaire 3ème édition, Masson, Paris, France, 11-124.
- **Alirezalu, A., Salehi, P., Ahmadi, N., Sonboli, A., Aceto, S., Hatami Maleki, H., & Ayyari, M.** (2018). Flavonoids profile and antioxidant activity in flowers and leaves of hawthorn species (*Crataegus* spp.) from different regions of Iran. *International journal of food properties*, 21(1), 452-470.
- **Amor, L.** (2018). Composition chimique et activités biologiques des extraits de *Crataegus oxyacantha* L. (Rosaceae). Thèse de Doctorat en Sciences, spécialité : Biologie végétale. Université Ferhat Abbas Sétif 1.
- **Ardestani, A., & Yazdanparast, R.** (2007). Inhibitory effects of ethyl acetate extract of *Teucrium polium* on in vitro protein glycoxydation. *Food and chemical toxicology*, 45(12), 2402-2411.
- **Atefeibu, .E.S.I.** (2002). Contribution à l'étude des tanins et de l'activité antibactérienne d'*Acacia Nilotica* Var *Andesonii*. thèse de Doctorat, université cheikh Anta Diop de Dakar.

Références Bibliographiques

- **Aymonin, G. G., Aulanier, P., & Timbal, J.** (1993). Guide des arbres et arbustes. Section du Reader's Digest.
- **Bahorun T.** (1997). Substances naturelles actives, la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. Food and Agricultural Research. Conseil Mauritus, Amas.
- **Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., ... & Pinkas, M.** (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-forschung*, 46(11), 1086-1089.
- **Bahorun, T., Trotin, F., Pommery, J., Vasseur, J., & Pinkas, M.** (1993). Antioxidant activities of *Crataegus monogyna* extracts. *Planta medica*, 60(04), 323-328.
- **Bedekar, A., Shah, K., & Koffas, M.** (2010). Natural products for type II diabetes treatment. In *Advances in applied microbiology*, 71, 21-73. Academic Press.
- **Bellebcir, L.** (2008). Etude des composés phénoliques en tant que marqueurs de biodiversité chez les céréales. Mémoire de magister, Université Mentouri, Constantine.
- **Beloued, A.** (1998). Etymologie des noms de plantes de bassin méditerranéen. OPU(Ed). Alger, 91p.
- **Benhamama, L.** (2015). Contribution à l'étude phytochimique et évaluation de l'activité Antioxydante de la plante médicinale *Crataegus monogyna*. Mémoire en vue de l'obtention du Diplôme de Master en biologie, option: Métabolisme secondaires et molécules bioactives. Université des Frères Mentouri Constantine.
- **Bernatonienė, J., Masteikova, R., Majienė, D., Savickas, A., Kėvelaitis, E., Bernatonienė, R., & Pečiūra, R.** (2008). Free radical-scavenging activities of *Crataegus monogyna* extracts. *Medicina*, 44(9), 706.
- **Bernfeld, P.** (1955). *Methods in Enzymology*; Colowick, SP, Kaplan, NO, Eds. Academic Press New York, 1, 149.
- **Bonfili, L., Cecarini, V., Amici, M., Cuccioloni, M., Angeletti, M., Keller, J. N., & Eleuteri, A. M.** (2008). Natural polyphenols as proteasome modulators and their role as anti-cancer compounds. *The FEBS journal*, 275(22), 5512-5526.
- **Booth, N.L., Dejan, N., Richard, B., Stoci, E.** (2004). New lanthanide complexes of 4 methyl 7 hydroxy coumarin and their pharmacological activity. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 50, 120-123.

- **Boudjelthia, K., Hammadi, K., Kouidri, M., & Djebli, N.** (2017). Evaluation of antidiabetic activity of two plants *Berberis vulgaris* and *Zygophyllum geslini*. *J. Phys. Chem. Biophys*, 7, 236.
- **Boudraa, S., Hambaba, L., Zidani, S., & Boudraa, H.** (2010). Composition minérale et vitaminique des fruits de cinq espèces sous exploitées en Algérie: *Celtis australis* L., *Crataegus azarolus* L., *Crataegus monogyna* Jacq., *Elaeagnus angustifolia* L. et *Zizyphus lotus* L. *Fruits*, 65(2), 75.
- **Bouid, W.** (2009). Etude de l'activité Biologique des extraits du fruit de *Crataegus monogyna* jacq. Mémoire de Magister. Université Elhadj Lakhder -Batna.
- **Bouid, W., Yahia, M., Abdeddaim, M., Aberkane, M. C., & Ayachi, A.** (2011). Évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de l'aubépine monogyne. *Lebanese Science Journal*, 12(1), 59-69.
- **Brindisi, M. C., Hammana, I., Chiasson, J. L., & Rabasa-Lhoret, R.** (2007). Glycémie postprandiale: physiologie et physiopathologie, du sujet normal au patient diabétique. *Médecine des maladies Métaboliques*, 1(4), 28-31.
- **Brosse J.** (2000). Larousse des arbres et arbustes. Canada, Larousse (Ed).
- **Bruneton, J.** (1993), Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales. 2ème édition, Lavoisier, Paris, Techniques & Documentation.
- **Bruneton, J.** (1999). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 3ème Ed. Lavoisier, Paris, Médicales internationales and Tec & Doc.
- **Bruneton, J.** (2008). Acides phénols. Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. Ed: Tec & Doc. Lavoisier, Paris.
- **Buchholz, T., & Melzig, M. F.** (2016). Medicinal plants traditionally used for treatment of obesity and diabetes mellitus—screening for pancreatic lipase and α -Amylase inhibition. *Phytotherapy research*, 30(2), 260-266.
- **Burta, O., Tirlea, F., Burta, O. L., & Qadri, S. M.** (2008). Phytotherapy in cardiovascular diseases: from ethnomedicine to evidence based medicine. *Journal of Biological Sciences*, 8(2), 242-247.
- **Caligiani, A., Malavasi, G., Palla, G., Marseglia, A., Tognolini, M., & Bruni, R.** (2013). A simple GC–MS method for the screening of betulinic, corosolic, maslinic, oleanolic and ursolic acid contents in commercial botanicals used as food supplement ingredients. *Food chemistry*, 136(2), 735-741.

Références Bibliographiques

- **Ceriello, A.** (2005). Postprandial hyperglycemia and diabetes complications: is it time to treat?. *Diabetes*, 54(1), 1-7.
- **Chang, Q., Zuo, Z., Harrison, F., & Chow, M. S. S.** (2002). Hawthorn. *The Journal of Clinical Pharmacology*, 42(6), 605-612.
- **Chevallier, L., & Crouzet-Segarra, C.** (2004). *Médicaments à base de plantes*. Elsevier Masson.
- **Cowan, M. M.** (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12(4), 564-582.
- **Crêté, P.** (1965). *Précis de botanique, systématique des angiospermes tome 2; 2 ième édition révisée*. Faculté de Pharmacie de Paris-masson.
- **Crozier, A., Clifford, M.N., Ashihara, H.** (2006). *Plant SecondaryMetabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet*,Edt Blackwell Publishing Ltd.
- **Dacosta, Y.** (2003). *Les phytonutriments bioactifs*, Yves Dacosta (Ed). Paris.
- **Dalmes, G-H.** (2011). *Structure et application d'élaboration des résines époxy*. Thèse de Doctorat .Université de Toulouse.
- **Dastjerdi, Z. M., Namjoyan, F., & Azemi, M. E.** (2015). Alpha amylase inhibition activity of some plants extract of Teucrium species. *European Journal of Biological Sciences*, 7(1), 26-31.
- **Davies, J. R.** (2000). Hawthorn element books limited. Boston, MA.
- **Degenring, F. H., Suter, A., Weber, M., & Saller, R.** (2003). A randomised double blind placebo controlled clinical trial of a standardised extract of fresh Crataegus berries (Crataegisan®) in the treatment of patients with congestive heart failure NYHA II. *Phytomedicine*, 10(5), 363-369.
- **Deina, M., Rosa, A., Casu, V., Cottiglia, F., & Bonsignore, L.** (2003). Natural product: their chemistry and biological significance. *Journal of the American Oil Chemistry Society*, 80, 65-70.
- **Di Carlo, G., Mascolo, N., Izzo, A. A., & Capasso, F.** (1999). Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life sciences*, 65(4), 337-353.
- **Djerroumi, A., & Nacef, M.** (2004). *100 Plantes Médicinales d'Algérie*. Ed Palais Du Livre.
- **Dönmez, A. A.** (2004). The genus *Crataegus* L. (Rosaceae) with special reference to hybridisation and biodiversity in Turkey. *Turkish Journal of Botany*, 28(1-2), 29-37.

- **Dos Santos Grasel, F., Ferrão, M. F., & Wolf, C. R.** (2016). Development of methodology for identification the nature of the polyphenolic extracts by FTIR associated with multivariate analysis. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 153, 94-101.
- **Fabre, M. C., Genin, A., Merigoux, J., & Moget, E.** (1992). *Herboristerie Familiale. Des recettes simples avec des plantes simples pour résoudre les problèmes simples.*
- **Faiveley, M.** (2010). *Procédés biochimiques et chimiques en agroalimentaire. Produits d'origine végétale. Fabrication des bières. Techniques-ingénieur. ENILBIO poligny. France.*
- **Farah, A., & Donangelo, C. M.** (2006). Phenolic compounds in coffee. *Brazilian journal of plant physiology*, 18(1), 23-36.
- **Farhat, R.** (2007). *Etude de la fraction lipidique et la composition en acides gras des huiles des fruits de : Celtis australis L., Crataegus azarolus L., Crataegus monogyna Jacq., Elaeagnus angustifolia L. et Ziziphus lotus L. Mémoire de magister. Université el Hadj Lakhdar. Batna.*
- **Fiorucci, S.** (2006). *Activités biologiques de composés de la famille des flavonoïdes: Approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire .Thèse de doctorat Université de Nice Sophia-Antipolis (UNS).*
- **Fleuriet, A & Macheix, J.J.** (2003). *Acids in fruits and vegetables. Pp 1-41. In: Les polyphénols en agroalimentaire. Sarni-Manchado, P; Cheynier, V. 2006. Tec et Doc. Lavoisier-Paris.*
- **Fogarty, W. M., & Kelly, C. T.** (2012). *Microbial enzymes and biotechnology. Springer Science & Business Media.*
- **Fong, H. H., & Bauman, J. L.** (2002). Hawthorn. *Journal of Cardiovascular Nursing*, 16(4), 1-8.
- **Ford, R. A., Hawkins, D. R., Mayo, B. C., & Api, A. M.** (2001). The in vivo dermal absorption and metabolism of [4-14C] coumarin by rats and by human volunteers under simulated conditions of use in fragrances. *Food and Chemical Toxicology*, 39(2), 153-162.
- **Franco, O. L., Rigden, D. J., Melo, F. R., & Grossi-de-Sá, M. F.** (2002). Plant α -amylase inhibitors and their interaction with insect α -amylases: Structure, function and potential for crop protection. *European journal of biochemistry*, 269(2), 397-412.
- **Franco, O. L., Rigden, D. J., Melo, F. R., Bloch, C., Silva, J. C. P. and Crossi de Sa, M. F.** (2000). Activity of wheat amylase inhibitors towards bruchid α -amylase and

- structural explanation of observed specificities. *European Journal of Biochemistry*, 267, 2166-2173.
- **Froehlicher, T., Hennebelle, T., Martin-Nizard, F., Cleenewerck, P., Hilbert, J. L., Trotin, F., & Grec, S.** (2009). Phenolic profiles and antioxidative effects of hawthorn cell suspensions, fresh fruits, and medicinal dried parts. *Food Chemistry*, 115(3), 897-903.
 - **Garrett, R. H., & Grisham, C. M.** (2000). *Biochimie*, 2^{ème} éd. Paris: DeBoeck Université.
 - **Ghazi, A.** (2014). Essai de synthèse d'un conjugué acide gallique-inuline et étude in vitro de leurs activités anti-oxydante et prébiotique. Mémoire de magister. Université Mouloude Mammeri- Tizi-ouzou.
 - **Godbout, A., & Chiasson, J. L.** (2007). Who should benefit from the use of alpha-glucosidase inhibitors? *Current diabetes reports*, 7(5), 333-339.
 - **Guignard, J.L.** (1998). *Abrégé de botanique*. Masson (Éd).Paris.
 - **Gupta, A., Gupta, V. K., Modi, D. R., & Yadava, L. P.** (2008). Production and characterization of α -amylase from *Aspergillus niger*. *Biotechnology*, 7(3), 551-556.
 - **Halimi, S., Le Berre, M. A., & Grange, V.** (2000). Efficacy and safety of acarbose add-on therapy in the treatment of overweight patients with Type 2 diabetes inadequately controlled with metformin: a double-blind, placebo-controlled study. *Diabetes research and clinical practice*, 50(1), 49-56.
 - **Hamdaoui, M.** (2018). Valorisation biochimique et comportement germinatif de *Crataegus monogyna* Jacq. du mont de Tessala (Algérie occidentale). Thèse de doctorat en science. Option: biodiversité végétale et valorisation. Université Djillali liabes de sidi bel Abbes.
 - **Hoffmann, L.** (2003). Etude du métabolisme des phénylpropanoïdes ; analyse de l'interaction de la caféoyl- coenzym A 3-O-méthyltransférase (CCoAOMT) avec son substrat et caractérisation fonctionnelle d'une nouvelle acyltransférase, l'HydroxyCinnamoyl-COA : shikimate/quinate hydroxycinnamoyl Transférase (HCT), Thèse Doctorat. Université Strasbourg.
 - **Ignat, I., Volf, I., & Popa, V. I.** (2011). A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food chemistry*, 126(4), 1821-1835.
 - **Jain, S. K.** (1968). *Medicinal plants*. National Book Trust, India. 1-216.
 - **Kajaria, D., Ranjana, J. T., Tripathi, Y. B., & Tiwari, S.** (2013). In-vitro α amylase and glycosidase inhibitory effect of ethanolic extract of antiasthmatic drug—Shirishadi. *Journal of advanced pharmaceutical technology & research*, 4(4), 206.
 - **Kamra, D. N.** (2005). Rumen microbial ecosystem. *Current science*, 124-135.

- **Kamra, D. N., Agarwal, N., & Chaudhary, L. C.** (2006). Inhibition of ruminal methanogenesis by tropical plants containing secondary compounds. In International Congress Series (Vol. 1293, pp. 156-163). Elsevier.
- **Kashyap, C. P., Arya, V., & Thakur, N.** (2012). Ethnomedicinal and phytopharmacological potential of *Crataegus oxyacantha* Linn.—A review. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(2), S1194-S1199.
- **Kazeem, M. I., Adamson, J. O., & Ogunwande, I. A.** (2013). Modes of inhibition of α -amylase and α -glucosidase by aqueous extract of *Morinda lucida* Benth leaf. *BioMed research international*, 2013.
- **Kiselova, Y., Ivanova, D., Chervenkov, T., Gerova, D., Galunska, B., & Yankova, T.** (2006). Correlation between the in vitro antioxidant activity and polyphenol content of aqueous extracts from Bulgarian herbs. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 20(11), 961-965.
- **Koyuncu, T., Pinar, Y., & Lule, F.** (2007). Convective drying characteristics of azarole red (*Crataegus monogyna* Jacq.) and yellow (*Crataegus aronia* Bosc.) fruits. *Journal of food engineering*, 78(4), 1471-1475.
- **Kumar, A., Lakshman, K., Jayaveera, K. N., Sheshadri Shekar, D., Narayan Swamy, V. B., Khan, S., & Velumurga, C.** (2011). In vitro α -amylase inhibition and antioxidant activities of methanolic extract of *Amaranthus Caudatus* Linn. *Oman medical journal*, 26(3), 166-170.
- **Kumar, D., Arya, V., Bhat, Z. A., Khan, N. A., & Prasad, D. N.** (2012). The genus *Crataegus*: chemical and pharmacological perspectives. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 22(5), 1187-1200.
- **Laraoui, H.** (2007). Etude phytochimique L'extrait chloroformique de *Bupleurumatlanticum*, Docteur de l'université Louis pasteur Chimie Organique.
- **Leduc, C., Coonishish, J., Haddad, P., & Cuerrier, A.** (2006). Plants used by the Cree Nation of Eeyou Istchee (Quebec, Canada) for the treatment of diabetes: A novel approach in quantitative ethnobotany. *Journal of Ethnopharmacology*, 105(1-2), 55-63.
- **Li, C., Son, H. J., Huang, C., Lee, S. K., Lohakare, J., & Wang, M. H.** (2010). Comparison of *Crataegus pinnatifida* Bunge var. *typica* Schneider and *C. pinnatifida* Bunge fruits for antioxidant, anti- α -glucosidase, and anti-inflammatory activities. *Food Science and Biotechnology*, 19(3), 769-775.

- **Maamri, S.** (2008). Etude de *Pistacia atlantica* de deux régions de sud algérien : dosage des lipides, dosage des polyphénols, essais antileishmaniens. Mémoire de magister. Option: Biochimie et microbiologie appliquées. Université M'hamed Bougara-Boumerdes.
- **Macheix, J. J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C.** (2005). Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR presses polytechniques.
- **Macheix, J.J., Fleuriet, A., Billot, J.** (1990). Fruit phenolics, CRC press, Boca Roton. In : les polyphenols en agroalimentaire Sarni-Manchado P, Cheynier V.2006., Tec et Doc Lavoisier-Paris.
- **Machius, M., Vértesy, L., Huber, R., & Wiegand, G.** (1996). Carbohydrate and protein-based inhibitors of porcine pancreatic α -amylase: structure analysis and comparison of their binding characteristics. *Journal of molecular biology*, 260(3), 409-421.
- **Manallah, A.** (2012). Activités antioxydant et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive. Mémoire de magister, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Ferhat Abbas, Sétif, Algérie.
- **Mercier C.** (1985). Les enzymes amylolytiques. In : Mouranche A. Coste C. hydrolases et dépolymérasés. Ed Gauthier-Villars.
- **Middleton, E., Kandaswami, C., & Theoharides, T. C.** (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological reviews*, 52(4), 673-751.
- **Nabavi, S. F., Habtemariam, S., Ahmed, T., Sureda, A., Daglia, M., Sobarzo-Sánchez, E., & Nabavi, S. M.** (2015). Polyphenolic composition of *Crataegus monogyna* Jacq.: from chemistry to medical applications. *Nutrients*, 7(9), 7708-7728.
- **Nair, S. S., Kavrekar, V., & Mishra, A.** (2013). In vitro studies on alpha amylase and alpha glucosidase inhibitory activities of selected plant extracts. *European Journal of Experimental Biology*, 3(1), 128-132.
- **Nouadri, T.** (2011). L' α -amylase de *Penicillium camemberti* PL21: Production, Purification, Caractérisation et immobilisation. Thèse de Doctorat d'Etat, Option Biochimie- Biotechnologies, université Mentouri, Constantine.
- **Okuda, T.** (2005). Systematics and health effects of chemically distinct tannins in medicinal plants. *Phytochemistry*, 66(17), 2012-2031.

- **Pandey, A., Nigam, P., Soccol, C. R., Soccol, V. T., Singh, D., & Mohan, R.** (2000). Advances in microbial amylases. *Biotechnology and applied biochemistry*, 31(2), 135-152.
- **Patra, A. K., & Saxena, J.** (2010). A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen. *Phytochemistry*, 71(11-12), 1198-1222.
- **Pedneault, K., Leonharts, A., Gosselin, A., Ramputh, A., & Arnason, J. T.** (2001). Influence de la culture hydroponique de quelques plantes médicinales sur la croissance et la concentration en composés secondaires des organes végétaux. Texte de conférence. Canada.
- **Pérez, S., Rodríguez-Carvajal, M. A., & Doco, T.** (2003). A complex plant cell wall polysaccharide: rhamnogalacturonan II. A structure in quest of a function. *Biochimie*, 85(1-2), 109-121.
- **Perla, V., & Jayanty, S. S.** (2013). Biguanide related compounds in traditional antidiabetic functional foods. *Food chemistry*, 138(2-3), 1574-1580.
- **Peronny, S.** (2005). La perception gustative et la consommation des tanins chez le maki (*Lemur catta*). Thèse de doctorat.
- **Perret, C.** (2001). Analyse de tannins inhibiteurs de la stilbène oxydase produite par *Botrytis cinerea* Pers.: Fr. Thèse de doctorat. Université de Neuchâtel.
- **Pittler, M. H., Schmidt, K., & Ernst, E.** (2003). Hawthorn extract for treating chronic heart failure: meta-analysis of randomized trials. *The American journal of medicine*, 114(8), 665-674.
- **Qian, M., Haser, R., Buisson, G., Duee, E., Payan, F.** (1994). The active center of mammalian alpha-amylase. The structure of the complex of pancreatic alpha-amylase with a carbohydrate inhibitor refined to 2.2 angstroms resolution. *Biochemistry*, 33, 6284-94.
- **Ramawat, K.J., Merillon, J.M.** (2008), Bioactives molecules and medicinal plant. Edition Springer Verlag Berlin Héidelberg.
- **Rice-Evans, C. A. et Packer, L.** (1998); Flavonoids in Health and Disease; Ed: MARCEL DEKKER.
- **Saadoudi, M.** (2008). Etude de la fraction glucidique des fruits de : *Celtis australis* L., *Crataegus azarolus* L. *Crataegus monogyna* Jacq., *Elaegnus angustifolia* L. et *Ziziphus lotus* L. Mémoire de magister. Département d'agronomie. Université el hadj Lakhdar. Batna.

- **Sales, P. M., Souza, P. M., Simeoni, L. A., Magalhães, P. O., & Silveira, D.** (2012). α -Amylase inhibitors: a review of raw material and isolated compounds from plant source. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*, 15(1), 141-183.
- **Sayah, H.** (2013). Le pouvoir antioxydant des polyphénols de l'espèce pennisetum glaucum (millet) du sud d'Algérie. Mémoire de master. université de Telemcen.
- **Scalbert, A., & Williamson, G.** (2000). Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *The Journal of nutrition*, 130(8), 2073S-2085S.
- **Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L.** (2005). Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Critical reviews in food science and nutrition*, 45(4), 287-306.
- **Schauenberg, P et Paris, F.** (2016). les plantes médicinales. Guide delachaux. Delachaux et Niestlé, Paris.
- **Schröder, D., Weiser, M., & Klein, P.** (2003). Efficacy of a homeopathic Crataegus preparation compared with usual therapy for mild (NYHA II) cardiac insufficiency: results of an observational cohort study. *European Journal of Heart Failure*, 5(3), 319-326.
- **Scriban, R.** (1999). Biotechnologie. 5 ème édition. Techniques et Documentation–Lavoisier (éd.). Paris.
- **Sharma, B., Viswanath, G., Salunke, R., & Roy, P.** (2008). Effects of flavonoid-rich extract from seeds of *Eugenia jambolana* (L.) on carbohydrate and lipid metabolism in diabetic mice. *Food chemistry*, 110(3), 697-705.
- **Sudha, P., Zinjarde, S. S., Bhargava, S. Y., & Kumar, A. R.** (2011). Potent α -amylase inhibitory activity of Indian Ayurvedic medicinal plants. *BMC complementary and alternative medicine*, 11(1), 5.
- **Sun, B., Ricardo-da-Silva, J. M., & Spranger, I.** (1998). Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *Journal of agricultural and food chemistry*, 46(10), 4267-4274.
- **Svedström, U., Vuorela, H., Kostianen, R., Laakso, I., & Hiltunen, R.** (2006). Fractionation of polyphenols in hawthorn into polymeric procyanidins, phenolic acids and flavonoids prior to high-performance liquid chromatographic analysis. *Journal of Chromatography A*, 1112(1-2), 103-111.
- **Tahirović, A., & Bašić, N.** (2014). Phenolic content and antioxidant activity of *Crataegus monogyna* L. fruit extracts. *Works of the faculty of Forestry University of Sarajevo*, 2, 29-40.

- **Tamil, I. G., Dineshkumar, B., Nandhakumar, M., Senthilkumar, M., & Mitra, A.** (2010). In vitro study on α -amylase inhibitory activity of an Indian medicinal plant, *Phyllanthus amarus*. *Indian journal of pharmacology*, 42(5), 280.
- **Terra, X., Valls, J., Vitrac, X., Mérrillon, J. M., Arola, L., Ardèvol, A., ... & Blay, M.** (2007). Grape-seed procyanidins act as antiinflammatory agents in endotoxin-stimulated RAW 264.7 macrophages by inhibiting NF κ B signaling pathway. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(11), 4357-4365.
- **Thalapaneni, N., R., Chidambara, K.A., Ellappan, T., Sabapathi, M.L., Mandal, S.C.** (2008). Inhibition of carbohydrate digestive enzymes by *Talinum portulacifolium* (Forssk). *Journal of Complementary and integrative Medicine*, 5, 11.
- **Treutter, D.** (2001). Biosynthesis of phenolic compounds and its regulation in apple. *Plant Growth Regulation*, 34(1), 71-89.
- **Triwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur G., Kaur, H.** (2011). Phytochemical screening and extraction: A review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1,98-106
- **Tundis, R., Loizzo, M. R., & Menichini, F.** (2010). Natural products as α -amylase and α -glucosidase inhibitors and their hypoglycaemic potential in the treatment of diabetes: an update. *Mini reviews in medicinal chemistry*, 10(4), 315-331.
- **Vermerius, W. & Nicholson, R.** (2006). *Phenolic Compound Biochemistry*. Springer, 151-196.
- **Visioli, F., Borsani, L., & Galli, C.** (2000). Diet and prevention of coronary heart disease: the potential role of phytochemicals. *Cardiovascular Research*, 47(3), 419-425.
- **Vivar-Vera, M. A., Salazar-Montoya, J. A., Calva-Calva, G., & Ramos-Ramírez, E. G.** (2007). Extraction, thermal stability and kinetic behavior of pectinmethylesterase from hawthorn (*Crataegus pubescens*) fruit. *LWT-food Science and Technology*, 40(2), 278-284.
- **Walton, N.J. et Brown, .D.E.** (1999). *Chemical from Plants: Perspectives on plant secondary products*; Ed: WORLD SCIENTIFIC.
- **Wong, C. C., Li, H. B., Cheng, K. W., & Chen, F.** (2006). A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food chemistry*, 97(4), 705-711.
- **Yang, C. S., Sang, S., Lambert, J. D., & Lee, M. J.** (2008). Bioavailability issues in studying the health effects of plant polyphenolic compounds. *Molecular nutrition & food research*, 52(S1), S139-S151.

Références Bibliographiques

- **Yanovski, S. Z.** (2002). Binge eating in obese persons. *Eating disorders and obesity: A comprehensive handbook*, 2, 403-407.
- **Zapfe, G. J.** (2001). Clinical efficacy of Crataegus extracts, WS1442 in congestive heart failure NYHA class II. *Phytomedicine*, 8(4), 262-266.
- **Zarrou, B.** (2012). Etude phytochimique de quelques extraits obtenus de la plante *Matricaria pubescens* (Asteracées) et évaluation de leur activité antioxydante. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master en chimie, option : Chimie Appliquée. Université kasdi merbah ouragla.
- **Zhang Z., Hoa K.K., Huang Y., Cena zhen Y.** (2006). Hypocholesterolemic activity of hawthorn fruit in mediated by regulation of cholesterol-7- hydroxylase and acyl coa : cholesterol acyl transferase. *Food Research*, 35, 885-891.
- **Zhang, D. L., Zhang, Y. T., Yin, J. J., & Zhao, B. L.** (2004). Oral administration of Crataegus flavonoids protects against ischemia/reperfusion brain damage in gerbils. *Journal of neurochemistry*, 90(1), 211-219.
- **Zhang, X.** (2002). WHO monographs on selected medicinal plants Volume 2. World Health Organisation, 69-329.

Site web électronique

- <https://futureforests.ie/products/crataegus-monogyna>.
- <https://www.crocus.co.uk/plants/crataegus-monogyna>.

الملخص

يدور هذا العمل حول استخلاص وتقييم كمية بعض المركبات الفينولية الموجودة في الجزء الهوائي (الأوراق والثمار) لنبته عين البقرة. استهلكت هذه الدراسة باستخلاص مختلف المكونات الكيميونباتية الموجودة في أوراق و ثمار النبتة المدروسة وهذا بفضل استخدام تقنيات محددة مما سمح بالحصول على مجموعة من المستخلصات (مستخلص ماء / ميثانول، ديكلورو ميثان، خلاص الإيثيل، البوتانول)، وكذا المستخلص المائي المتبقي. تم أتبع بتقييم ومعايرة كمية البوليفينول، الفلافونويدات والعفص المتكثف الموجودة في مختلف المستخلصات المحصل عليها من أوراق و ثمار نبتة عين البقرة. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها تغيرات في محتوى الأوراق و الثمار فيما يخص كمية البوليفينول، الفلافونويدات والعفص المتكثف، حيث تبين أن الأوراق غنية بالمركبات الفينولية أكثر من الثمار.

بالنسبة "للأوراق"، يحتوي مستخلص أسيتات الإيثيل على أعلى مستويات من البوليفينول الكلي والعفص المتكثف بمستويات (0.04 ± 449.02 مغ معادل حمض الغاليك في الغرام الواحد) و (0.013 ± 565.11 مغ معادل كاتشين في الغرام الواحد) على التوالي، بينما تم تسجيل أعلى محتوى من مركبات الفلافونويدات في المستخلص الخام بمحتوى (0.07 ± 143.75 مغ معادل كاتشين في الغرام الواحد).

أما بالنسبة "للثمار"، يحتوي مستخلص أسيتات الإيثيل على أعلى مستويات من البوليفينول الكلي والفلافونويدات والعفص المتكثف (0.005 ± 201.96 مغ معادل حمض الغاليك في الغرام الواحد ، 0.003 ± 240.30 مغ معادل كاتشين في الغرام الواحد و 0.0046 ± 324.16 مغ معادل كاتشين في الغرام الواحد) على التوالي.

من ناحية أخرى، يحتوي المستخلص المائي المتبقي على أدنى مستويات من مركبات الفلافونويدات والعفص المتكثف لكلا الجزئين (الأوراق و الثمار). أكدت القيم التي تم الحصول عليها في هذا التحليل الكمي مدى ثراء هذه النبتة بالمركبات الفينولية.

الكلمات المفتاحية: نبتة عين البقرة، البوليفينول الكلي ، الفلافونويدات، العفص المتكثف.

Résumé

Ce travail est consacré à l'extraction et le dosage de quelques composés phénoliques contenus dans les deux parties aériennes (feuilles et fruits) de la plante *Crataegus monogyna*.

Les feuilles et les fruits de cette plante, ont été soumis à une extraction sous reflux dans un mélange eau/méthanol (30:70 ; v/v) pendant 1h. Les deux extraits bruts obtenus sont partagés successivement avec le dichlorométhane, l'acétate d'éthyle et le n-butanol avec une extraction liquide-liquide. Ainsi, la phase aqueuse résiduelle a été récupérée.

Le dosage quantitatif des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés au niveau des extraits préparés, donne des résultats qui montrent que les feuilles sont plus riches en composés phénoliques en comparaison avec les fruits.

Pour la partie « feuilles », l'extrait acétate d'éthyle renferme les taux les plus élevés en polyphénols totaux et en tanins condensés avec des taux de $449,02 \pm 0,04$ mg EAG/gE et $565,11 \pm 0,013$ mgEQC/gE, respectivement, alors que la teneur la plus élevée en flavonoïdes est enregistrée dans l'extrait brut avec une teneur de $143,75 \pm 0,07$ mgEQC/gE .

Pour la partie « fruits », l'extrait acétate d'éthyle renferme les taux les plus élevés en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés ($201,96 \pm 0,005$ mg EAG/gE, $240,30 \pm 0,003$ mgEQC/gE et $324,16 \pm 0,0046$ mgEQC/gE, respectivement). D'autre part, la phase aqueuse résiduelle renferme les taux les plus faibles en flavonoïdes et en tanins condensés pour les deux parties de la plante.

Les teneurs obtenues dans cette analyse quantitative montre la richesse de *C. monogyna* en composés phénoliques.

Mots clés : *Crataegus monogyna*, polyphénols totaux, flavonoïdes, tanins condensés.

Abstract

This work is devoted to extraction and dosing of some phenolic compounds contained in two aerial parts (leaves and fruits) of the *Crataegus monogyna* plant.

The leaves and fruits of this plant were extracted by refluxing method in aqueous/methanol mixture (30:70; v/v). The two raw extracts obtained are shared successively with dichloromethane, ethyl acetate and n-butanol with liquid-liquid extraction. As well as, the residual aqueous phase was recovered.

The determination quantity of total polyphenols, flavonoïd, and condensed tannins at the level of the extracts prepared, gives results which show that the leaves are richer in phenolic compounds compared with the fruits.

For the leaves, ethyl acetate extract contains the highest levels of total polyphenols and condensed tannins with levels of 449.02 ± 0.04 mg EAG/gE and 565.11 ± 0.013 mgEQC/gE, respectively, while the highest level of flavonoids is recorded in the raw extract with a content of 143.75 ± 0.07 mgEQC/gE.

For the fruit, the ethyl acetate extract contains the highest levels of total polyphenols, flavonoids, and condensed tannins (201.96 ± 0.005 mg EAG/gE, 240.30 ± 0.003 mgEQC/gE, and 324.16 ± 0.0046 mgEQC/gE, respectively). On the other hand, the residual aqueous phase contains the lowest levels of flavonoids and condensed tannins for both parts of the plant.

The rates obtained in this quantitative analysis show the richness of *C. monogyna* in phenolic compounds.

Keywords : *Crataegus monogyna*, total polyphenols, flavonoids, condensed tannins.