

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Aboubekr BELKAID –TLEMCCEN–
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des sciences de la Terre et de
l'Univers



Département de Biologie

Laboratoire :



Antibiotiques Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique

MEMOIRE

Présenté par

M^{elle} HARBIT Ismahane

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie

Thème:

**Extraction des colorants naturels et recherche de
l'activité antioxydante des extraits préparés de l'écorce de
la Cannelle de Ceylan (*Cinnamomum zeylanicum*)**

Soutenu le 23-06-2024 devant le jury composé de:

Présidente :	BOUCHERIT-OTMANI Zahia	Pr.	Univ. Tlemcen
Encadreur :	AZZI Rachid	Pr.	Univ. Tlemcen
Co-encadreur :	ABBOU Fayza	MAB	Univ. Tlemcen
Examineur :	RAHMOUN Mohammed Nadjib	Pr.	Univ. Tlemcen

Année Universitaire : 2023/2024

Remerciements

La réalisation de ce travail n'aurait pas été possible sans l'aide de plusieurs personnes à qui je voudrais témoigner toute ma gratitude :

Monsieur **Azzi Rachid**, Professeur au département de biologie, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des sciences de la Terre et de l'Univers, Université Aboubekr BELKAID Tlemcen, pour avoir accepté de diriger ce travail et pour son aide précieuse.

Madame **Boucherit-Otmani Zahia** , Professeur au département de Biologie, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des sciences de la Terre et de l'Univers, Université Aboubekr BELKAID Tlemcen, pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury de ma soutenance.

Monsieur **Rahmoun Mohammed Nadjib** , Professeur au département de Biologie, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des sciences de la Terre et de l'Univers, Université Aboubekr BELKAID Tlemcen, pour avoir accepté d'examiner ce modeste travail.

Mademoiselle **Abbou Fayza** , maitre-assistant classe B au département de biologie, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des sciences de la Terre et de l'Univers, Université Aboubekr BELKAID Tlemcen, pour sa disponibilité, son aide et ses encouragements.

Je tiens à remercier mes anciens professeurs qui ont su me transmettre le savoir durant tout mon cursus universitaire.

A l'ensemble du personnel du Laboratoire « Antibiotiques Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique (LapSab) ».

Dédicaces

C'est avec un énorme plaisir et une immense joie que je dédie mon travail :

A mes très chers parents Fatima Zohra et Mohammed Yazid qui m'ont soutenue tout au long de ma vie et dont j'espère que leurs bénédictions m'accompagneront toujours,

A mes deux très chers frères Ismail et Abdelwaheb,

A ma très chère grand-mère Iles Saliha, qui me comble toujours par ses chaleureuses prières,

A Marwa, Amira et Ikhlass, doctorantes en biochimie,

A ma meilleure amie Marwa,

A Yousra,

Sans oublier tous mes collègues de la promotion de biochimie

Harbit Ismahane

الملخص

القرفة السيلانية (*Cinnamomum zeylanicum*) هي نبات تنتمي إلى عائلة الغارية , موطنها سريلنكا و جنوب الهند . تحتل القرفة مكانة هامة كتوابل و كمستخلص طبيعي فعال يستخدم في علاج العديد من الامراض.

الهدف من هذه الدراسة هو استخلاص الصبغات الطبيعية من القرفة بالطرق الكروماتوغرافية (كروماتوغرافي على طبقة رقيقة و كروماتوغرافي العمودية) , اجراء اختبارات فيتوكيميائية و تحديد كمية المركبات الفينولية على المستخلصات الخام المحضرة من لحاء القرفة السيلانية بالإضافة الي التحقق من انشطتها المضادة للأكسدة (اختبار مسح الجذور الحرة و اختبار قدرة اختزال الحديد).

اظهرت الدراسة الفايثوكيميائية التي اجريت على المستخلصات المختلفة غنى لحاء القرفة السيلانية بالمركبات الفعالة بيولوجيا بما في ذلك مركبات الفلافونويد, القلويدات, لعفص, التيربينويدات , الكينونات الحرة و مركبات الاختزال.

اظهرت التحاليل الطيفية للمركبات الفينولية الكلية باستخدام كاشف فولين سيوكالتو و الفلافونويدات في وسط قلوي باستخدام ثلاثي كلوريد الالمنيوم ان المستخلص الخام المائي-الميثانولي المحضر عن طريق الغليان هو الاعلى بالمركبات الفينولية الكلية بمحتوى يقارب 556,4 ميكروغرام مكافئ حمض الغاليك لكل ميلليغرام مستخلص. بينما كان المستخلص الخام المائي-الميثانولي المحضر عن طريق النقع هو الاعلى بالفلافونويدات بمحتوى يقارب 174 ميكروغرام مكافئ كاتشين لكل مستخلص .

اظهرت المستخلصات الخام المدروسة نشاطا مضادا للأكسدة. حيث سجل المستخلص الخام المائي-الميثانولي المحضر عن طريق الغليان افضل قدرة على تثبيط الجذور الحرة بقيمة CI50 169,68 ميكروغرام / مليلتر . بينما اظهر المستخلص الخام المائي-الميثانولي المحضر عن طريق النقع افضل قدرة اختزالية للحديد بقيمة 5, A0 تبلغ حوالي 208,3 ميكروغرام / مليلتر. هذا النشاط لا يزال ضعيفا مقارنة بحمض الاسكوربيك, الذي سجل قيمة CI50 116,59 ميكروغرام/ مليلتر و قيمة 5, A0 66,66 ميكروغرام/ مليلتر.

سمحت عملية فصل المستخلص المائي-الاستوني بواسطة الكروماتوغرافيا العمودية باسترجاع 4 انابيب ذات اللون مختلفة صفراء و بنية. قدم كل انبوب , بعد فصله على الطبقة الرقيقة , بقعا مختلفة , اثنان منها كانتا فلورية.

في الختام, تعتبر القرفة غنية بالمركبات الفايثوكيميائية, بما في ذلك المركبات الفينولية تمنح هذه المركبات للنبتة نشاطا مضادا للأكسدة بشكل افضل. إضافة الى ذلك, يمكنها انتاج صبغات , مما يمكنها من استبدال الصبغات الصناعية

الكلمات المفتاحية : الصبغات الطبيعية, (*Cinnamomum zeylanicum*) , المركبات الفينولية, النشاط المضاد للأكسدة, الكروماتوغرافيا.

Résumé

La cannelle de Ceylan (*Cinnamomum zeylanicum*) est une plante appartenant à la famille des Lauracées, originaire du Sri Lanka et du sud de l'Inde. Elle occupe une place cruciale en tant qu'épice et comme un remède naturel efficace utilisé dans le traitement de diverses maladies.

La présente étude a pour but d'extraire le(s) colorant(s) naturel(s) de la cannelle par des méthodes chromatographiques (CCM, et colonne), de réaliser des tests phytochimiques et de doser les composés phénoliques sur des extraits bruts préparés de l'écorce de la cannelle de Ceylan (*C. zeylanicum*), ainsi que de rechercher leurs activités antioxydantes (test de piégeage du radical libre (DPPH) et test de réduction du fer (FRAP)).

L'étude phytochimique réalisée sur les différents extraits a montré la richesse de l'écorce de *Cinnamomum zeylanicum* en composés bioactifs, dont les flavonoïdes, les alcaloïdes, les tannins, les terpénoïdes, les quinones libres et les composés réducteurs.

Les dosages spectrophotométriques des polyphénols totaux par le réactif du Folin-Ciocalteu et des flavonoïdes en milieu alcalin par le trichlorure d'aluminium, ont révélé que l'extrait brut hydro-méthanolique préparé par décoction est le plus riche en polyphénols totaux avec une teneur de l'ordre de $556,4 \pm 54 \mu\text{g EAG/ mg ES}$. Tandis que, l'extrait brut hydro-méthanolique préparé par macération est le plus riche en flavonoïdes, avec une teneur mesurée à $174 \pm 3 \mu\text{g EC/ mg ES}$.

Les extraits bruts étudiés ont présenté une activité antioxydante. L'extrait brut hydro-méthanolique préparé par décoction a enregistré la meilleure capacité du piégeage du radical libre DPPH avec une valeur de CI50 de l'ordre de $169,68 \mu\text{g/ml}$. Alors que, l'extrait brut hydro-méthanolique préparé par macération a montré le meilleur pouvoir réducteur du fer avec une A0,5 de l'ordre de $208,33 \mu\text{g/ml}$. Cette activité reste faible par rapport à celle de l'acide ascorbique, qui a enregistré une CI50 de l'ordre de $116,59 \mu\text{g/ml}$ et une A0,5 de l'ordre de $66,66 \mu\text{g/ml}$.

La séparation de l'extrait hydro-acétonique par chromatographie sur colonne a permis de récupérer 4 tubes de différentes couleurs jaunes et marron. Chaque tube, après séparation sur couche mince, a présenté différentes taches dont deux sont fluorescentes.

En conclusion, la cannelle est riche en composés phytochimiques, y compris les composés phénoliques. Ces derniers confèrent à cette plante une meilleure activité antioxydante. De plus, la cannelle peut produire des colorants qui peuvent être utilisés pour remplacer les colorants synthétiques.

Mots clés : Colorants naturels, *Cinnamomum zeylanicum*, composés phénoliques, activité antioxydante, chromatographie.

Summary

Ceylon cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) is a plant belonging to the Lauraceae family, native to Sri Lanka and southern India. It holds a crucial place as a spice and an effective natural remedy used in the treatment of various diseases.

This study aims to extract natural dye(s) from cinnamon using chromatographic methods (TLC and column), conduct phytochemical tests, quantify phenolic compounds in crude extracts prepared from Ceylon cinnamon bark (*C.zeylanicum*), and investigate their antioxidant activities (DPPH free radical scavenging test and FRAP assay).

The phytochemical study conducted on the various extracts showed the richness of *Cinnamomum zeylanicum* bark in bioactive compounds, including flavonoids, alkaloids, tannins, terpenoids, free quinones, and reducing compounds.

Spectrophotometric assays of total polyphenols using the Folin-Ciocalteu reagent and flavonoids in an alkaline medium using aluminum chloride revealed that the hydro-methanolic crude extract prepared by decoction is the richest in total polyphenols, with a content of approximately 556.4 ± 54 μg GAE/mg DE. Meanwhile, the hydro-methanolic crude extract prepared by maceration is the richest in flavonoids, with a content of 174 ± 3 μg QE /mg DE.

The crude extracts studied showed antioxidant activity. The hydro-methanolic crude extract prepared by decoction recorded the best DPPH free radical scavenging capacity with an IC₅₀ value of approximately 169.68 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Meanwhile, the hydro-methanolic crude extract prepared by maceration showed the best iron-reducing power with an A_{0.5} value of approximately 208.33 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

The separation of the hydro-acetonic extract by column chromatography allowed the recovery of 4 tubes of different yellow and brown colors. Each tube, after separation on thin-layer chromatography, presented different spots, two of which were fluorescent.

In conclusion, cinnamon is rich in phytochemical compounds, including phenolic compounds. These confer better antioxidant activity to this plant. Additionally, cinnamon can produce dyes that can be used to replace synthetic dyes.

Keywords: Natural dyes, *Cinnamomum zeylanicum*, phenolic compounds, antioxidant activity, chromatography.

Table des matières

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Partie I : Synthèse bibliographique	01
Partie II : Matériel et méthodes	08
1 .Matériel végétal	09
2 .Préparation des extraits	09
2.1. Préparation des extraits hydro-méthanoliques	09
2.1.1. Décoction	09
2.1.2. Macération	10
2.2. Préparation d'extrait hydro-acétonique	11
2.2.1. Macération	11
2.3. Calcul des rendements	12
3. Tests phytochimiques	12
3.1. Les composés azotés	12
3.2. Les composés phénoliques	12
3.3. Les composés terpéniques	13
3.4. Les composés réducteurs	13
4. Dosage des composés phénoliques	14
4.1. Dosage des polyphénols totaux	14
4.2. Dosage des flavonoïdes	15
5. Evaluation de l'activité antioxydante	16
5.1. Test de piégeage du radical libre (DPPH)	16
5.2. Test de réduction du fer (FRAP)	17
6. Séparation chromatographiques	17
6.1. Chromatographie sur colonne	17
6.2. Chromatographie sur couche mince	18
7. Analyse statistique	19
Partie III : Résultats et discussion	20
1. Rendement des extractions	21
2. Caractéristiques des extraits obtenus	22

3. Les tests phytochimiques.....	23
4. Dosage des composés phénoliques.....	24
4.1. Dosage des polyphénols totaux.....	25
4.2. Dosage des flavonoïdes.....	27
5. Evaluation de l'activité antioxydante.....	28
5.1. Test de piégeage du radical libre (DPPH).....	29
5.2. Test de réduction du fer (FRAP).....	32
6. Séparations des colorants par méthodes chromatographiques	34
6.1. Chromatographie sur colonne.....	34
6.2. Chromatographie sur couche mince.....	36
Partie IV : Conclusion et perspectives.....	38
Partie V : Références bibliographiques	41

Liste des figures

Figure 01 : Les principales sources de colorants naturels.....	01
Figure 02 : Les différentes parties de la cannelle de Ceylan.....	04
Figure 03 : La cannelle de Ceylan.....	09
Figure 04 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.....	25
Figure 05 : La teneur en polyphénols totaux ($\mu\text{g EAG/mg ES}$) des extraits préparés d'écorce de la cannelle de Ceylan.....	25
Figure 06 : La courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes.....	27
Figure 07 : La teneur en flavonoïdes ($\mu\text{g EC/MG ES}$) des extraits préparés d'écorce de la cannelle de Ceylan.....	27
Figure 08 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations de l'acide ascorbique.....	29
Figure 09 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations de l'extrait brut hydro-méthanolique préparé par décoction.....	29
Figure 10 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations de l'extrait brut hydro-méthanoliques préparé par macération.....	30
Figure 11 : Pouvoir réducteur de fer en fonction des concentrations de l'acide ascorbique.....	32
Figure 12 : Pouvoir réducteur de fer en fonction de différentes concentrations de l'extrait brut hydro-méthanolique préparé par décoction.....	32
Figure 13 : Pouvoir réducteur de fer en fonction de différentes concentrations de l'extrait brut hydro-méthanolique préparé par macération.....	33

Liste des photos

Photo 01 : Montage décoction sous-reflux.....	10
Photo 02 : Montage d'un évaporateur rotatif.....	11
Photo 03 : Chromatographie sur colonne de l'extrait brut hydro-acétonique préparé par macération.....	34
Photo 04 : Les tubes récupérés après séparation par chromatographie sur colonne.....	35
Photo 05 : Chromatographie sur couche mince de l'extrait brut hydro-acétonique préparé par macération après révélation sous l'UV avec le dichlorométhane.....	36

Liste des tableaux

Tableau 01 : Les principaux pays exportateurs de la cannelle.....	03
Tableau 02 : Constituants chimiques de l'écorce de <i>Cinnamomun zeylanicum</i>	05
Tableau 03 : Dosage des polyphénols totaux.....	14
Tableau 04 : Méthodes de dosage des flavonoïdes.....	15
Tableau 05 : Rendement d'extraction des différentes préparations de l'écorce de la cannelle de Ceylan (<i>Cinnamomun zeylanicum</i>).....	21
Tableau 06 : Caractéristiques des différents extraits préparés de l'écorce de la cannelle de Ceylan.....	22
Tableau 07 : Résultats des tests phytochimiques réalisés sur les différents extraits étudiés de l'écorce de la cannelle de Ceylan.....	23
Tableau 08 : Les CI50 des différents extraits de l'écorce de la cannelle de <i>Cinnamomun zeylanicum</i> obtenus par méthode de DPPH.....	31
Tableau 09 : Les A0.5 (µg/ml) des différents extraits de l'écorce de la cannelle de Ceylan ainsi de l'acide ascorbique, obtenus par méthode de FRAP.....	33
Tableau 10 : Les valeurs des rapports frontaux de chaque tache obtenus de l'extrait brut hydro-acétonique de la cannelle de Ceylan.....	36

Liste des abréviations

- **ADN** : Acide désoxyribonucléique.
- **V/V** : Volume à volume.
- **UV**: Ultra-violet
- **EBD-m** : Extrait brut décoction-eau-méthanol.
- **EBM-m** : Extrait brut macération-eau-méthanol.
- **EBM-a** : Extrait brut macération-eau-acétone.
- **R** : Rendement.
- **DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl.
- **CI50**: Concentration inhibitrice à 50%.
- **A0,5** : Concentration qui donne une absorbance de 0,5 .
- **FRAP**: Ferric Reducing Antioxydant Power.
- **CCM**: Chromatographie sur couche mince.
- **Rf**: Rapport frontal.
- **µg EAG/mg ES** : Microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme de l'extrait sec.
- **µg EC/mg ES** : Microgramme équivalent de la catéchine par milligramme d'extrait sec.

Synthèse bibliographique

Nous évoluons dans un monde où tout est coloré : nos vêtements, nos aliments ainsi que nos produits cosmétiques et pharmaceutiques (**Adjaoud, 2018**).

Les premières traces d'utilisation de colorants remontent à la préhistoire, où les hommes utilisaient des pigments minéraux comme l'ocre, l'oxyde de manganèse ou l'oxyde de fer pour représenter leur monde à travers des dessins dans les grottes (**Guindo, 2019**).

Un colorant est défini comme un produit qui peut teindre une substance de manière durable. Ces produits sont des composés organiques capable d'absorber des ondes électromagnétiques du domaine visible (380-700nm), grâce à la présence de groupes chromophores (groupement possédant des doubles liaisons conjuguées ou des noyaux aromatiques) et auxochromes (groupement donneurs ou accepteurs d'électrons tel que -OH, -COOH, -Br ...) (**Witold et al., 2008**).

Les colorants peuvent être classés selon divers paramètres tels que la solubilité, la nature, la structure chimique, la couleur et l'application. Cependant, la classification la plus courante se base généralement sur leur origine (**Guindo, 2019**). On distingue ainsi les colorants naturels, obtenus à partir de sources végétales (comme l'indigo, le safran, etc.), animales (comme la cochenille, le pourpre de coquillage, etc.) et minérales (comme le sulfate ferreux, ocre et l'argile) (**Figure 1**). En parallèle, il existe les colorants synthétiques, entièrement fabriqués à partir de réactions chimiques (**Chengaiyah et al., 2010**).

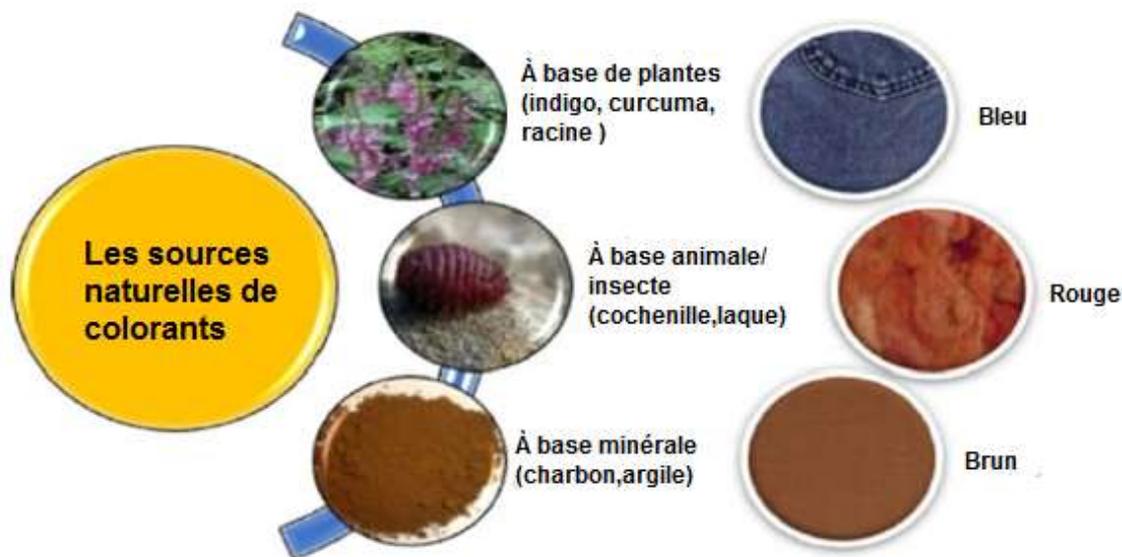


Figure 1 : Les principales sources de colorants naturels (**Ragab et Hassabo , 2021**).

Ces derniers temps, l'intérêt pour l'usage des colorants naturels a considérablement augmenté, motivé par les normes strictes environnementales imposées par de nombreux pays. Ces normes sont une réponse aux réactions toxiques et allergiques liées aux colorants synthétiques (**Susmita et al., 2022**).

Actuellement, la teinture naturelle est principalement artisanale dans la plupart des pays, tandis que les colorants synthétiques dominent les processus de teinture commerciale (**Susmita et al., 2022**).

Cependant, avec la préoccupation croissante à l'échelle mondiale pour l'utilisation de matériaux écologiques et biodégradables, l'intérêt pour les colorants naturels connaît un regain. Leur demande s'accroît non seulement dans l'industrie textile, mais aussi dans les secteurs cosmétiques et pharmaceutiques (**Susmita et al., 2022**).

La demande croissante de colorants naturels s'explique par plusieurs facteurs :

- Les préoccupations concernant la toxicité avérée et les dommages environnementaux des colorants synthétiques ont incité les industries à se tourner vers les colorants naturels, en particulier ceux issus des plantes (**Shamsia et al., 2023**) ;
- Les plantes tinctoriales découvertes présentent des propriétés colorantes et physico-chimiques prometteuses, offrant ainsi des applications polyvalentes et ouvrant de nombreux marchés (**Shamsia et al., 2023**) ;
- Les consommateurs expriment une préférence accrue des colorants naturels dans les aliments biologiques (**Rymbai et al., 2011**) ;
- Dans l'industrie cosmétique, les colorants naturels sont largement utilisés en raison de leurs innocuités, de leurs protections contre les rayons ultraviolets et de leurs propriétés anti-âge (**Chengaiyah et al., 2010**) ;
- Dans l'industrie pharmaceutique, les colorants naturels les plus utilisés incluent le caramel, la riboflavine, les anthocyanines, le rocou et la curcumine. L'ajout de ces colorants dans la formulation des médicaments permet :
 - ✓ D'améliorer l'attrait du produit et donc son acceptabilité, notamment chez les enfants (**Sulekova et al., 2017**) ;
 - ✓ De faciliter l'identification des médicaments pour les patients utilisant plusieurs produits, en particulier les personnes âgées qui peuvent avoir des difficultés à mémoriser ou à lire (**Guindo, 2019**) ;
 - ✓ De surveiller la conservation des médicaments, car un changement de couleur pendant le stockage peut indiquer une altération possible du principe actif (**Guindo, 2019**).

En Inde, selon **Chengaiyah et al., (2010)**, il existe plus de 450 plantes qui peuvent produire des colorants. En plus de leurs propriétés colorantes, certaines de ces plantes possèdent également des valeurs médicinales. Par exemple, le curcuma, qui est l'un des colorants jaunes, est également un puissant antiseptique qui revitalise la peau.

Les pigments végétaux offrent un potentiel considérable pour remplacer de nombreux colorants synthétiques. Les chlorophylles, les caroténoïdes, les anthocyanes et bétalaines représentent des catégories étendues de colorants naturels qui enrichissent les aliments de nuances de couleurs variées (**Sigurdson et al., 2017**).

De nombreuses herbes et épices, généralement utilisées pour aromatiser les plats, sont une excellente source de composés phénoliques et sont réputées pour leur bonne activité antioxydante (**Abeysekera et al., 2013**).

La cannelle est parmi les épices les plus renommées et anciennes, offrant une saveur distinctive (**Gul et Safdar , 2009**). Son importance économique est significative pour les pays exportateurs principalement situés en Asie (**Tableau 01**) (**Lallemand et al., 2000**).

Tableau 01 : Les principaux pays exportateurs de cannelle (**Rakotoarijaona, 2010**).

Pays	Exportations (tonnes)
Chine	41 036
Indonésie	34 166
Sri Lanka	10 837
Singapour	6 854
Viet Nam	4 526
Brésil	2 942
Pays-Bas	2 150

La cannelle se décline en plusieurs espèces avec des variations d'odeurs, de goûts et de couleurs, selon la région ou le pays d'origine. Les plus importantes sont le *Cinnamomum zeylanicum*, connu sous le nom de cannelle de Ceylan, et le *Cinnamomum cassia*, l'espèce chinoise. Bien que les deux espèces partagent des caractéristiques similaires, avec un goût parfumé, sucré et chaud, la cannelle de Ceylan offre une saveur plus raffinée et subtile (**Gul et Safdar , 2009**).

La cannelle commerciale de Ceylan est l'écorce interne séchée de l'arbre *Cinnamomum Verum* (syn. *Cinnamomum zeylanicum*) appartenant à la famille des Lauraceae (**Muhammad et al., 2021**). Sa classification botanique est la suivante (**Ankita et al., 2023**) :

- ▶ Règne : Plantae
- ▶ Sous règne : Tracheobionta
- ▶ Embranchement : Magnoliophyta
- ▶ Sous embranchement : Magnoliophytina
- ▶ Classe : Magnoliopsida
- ▶ Sous classe : Magnoliidae
- ▶ Ordre : *Lurales*
- ▶ Famille : Lauraceae
- ▶ Genre : *Cinnamomum*
- ▶ Espèce : *Verum*

La cannelle de Ceylan est originaire du Sri Lanka (principal pays producteur de la cannelle au monde, représentant 60 % du commerce mondial de la Cannelle) et du sud de l'Inde (**Parthasarathy et al., 2008**).

C'est un petit arbre à feuilles persistantes qui peut atteindre jusqu'à 10 mètres de hauteur et dont toutes ses parties sont aromatiques (**Vaibhavi et al., 2010**) :

- Elle possède une saveur spécifique chaude et piquante provenant de son écorce.
- Elle a des branches lisses et brunâtres lorsqu'elles sont jeunes (**Haddi et al., 2017**) ;

- Les feuilles, opposées, légèrement décussées et persistantes, sont grandes, (environ 15 cm de long sur 4 ou 5 cm de large), glabres, lisses et brillantes sur la face supérieure, tandis qu'elles sont mates et glauques sur la face inférieure. Leur limbe est ovale, avec trois nervures nettement visibles, convergentes au sommet, et elles dégagent une odeur de clou de girofle lorsqu'on les froisse (**Figure 2**) ;
- Les inflorescences se présentent sous forme de grappes de cymes, à ramification opposée et décussée (**Figure 2**) ;
- Les fruits sont des baies en forme de glands, chacune portant le réceptacle et les restes du périanthe (**Marie-Pierre, 2003**) ;

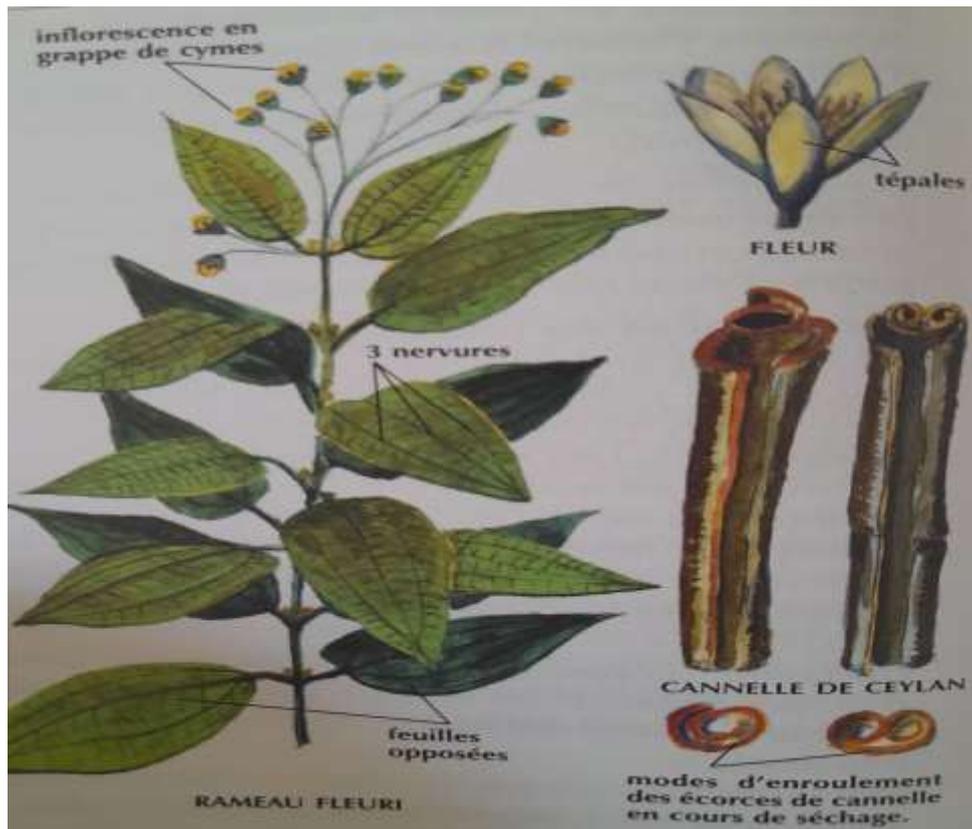


Figure 2 : Les différentes parties de cannelle de Ceylan (**Marie-Pierre, 2003**).

- La multiplication de la plante s'effectue à partir de grains, avec une germination d'une durée de 2 à 3 semaines. Les jeunes plantes doivent être protégées du soleil et arrosées en période de sécheresse ;
- Le développement des plantes donne d'excellents résultats sur des terres d'alluvions très sableuses ou dans des sols quartzueux, auxquels du fumier de vache est ajouté ;
- Une meilleure qualité d'écorce est obtenue avec des arbres implantés dans des zones ensoleillées, avec une température annuelle moyenne d'environ de 30° ;
- La récolte a lieu tous les deux ans, pendant la saison des pluies (en mai et en octobre). Lorsque les tiges sont gorgées de sève et se décortiquent plus facilement.

La cannelle de Ceylan est l'écorce des jeunes tiges de l'arbre. Lors de la récolte, les rejets sont effeuillés, l'écorce est incisée jusqu'au bois (tissus conducteurs de sèves), à la base des entre-nœuds, puis d'un entre-nœud à l'autre. En tapotant avec un bâton sur la tige, l'écorce se soulève et se détache entre les deux incisions. Les bandes d'écorce sont séchées pendant 24 heures, puis raclées avec un couteau spécial pour enlever les couches externes (liège ou suber). Les parties restantes, souvent cassantes, sont de fines lames de parenchyme cortical et de liber, riches en glandes à essence. Elles sont alors coupées en tronçons, puis séchées d'abord à l'ombre, ensuite au soleil.

Au fur et à mesure qu'elles se dessèchent, les écorces s'enroulent sur elles-mêmes. Elles se présentent alors sous forme de tuyaux emboîtés les uns dans les autres, les deux bords longitudinaux étant enroulés en dedans. Elles sont de couleur fauve pale vers l'extérieur, parfois sillonnées de lignes blanches, alors que l'intérieur est souvent brun rougeâtre. L'odeur est franche et suave (**Marie-Pierre, 2003**).

La cannelle de Ceylan est une plante contenant une huile essentielle précieuse, principalement concentrée dans son écorce. Cette dernière renferme également des flavonoïdes, des diterpènes, des tanins, de l'amidon et de mannitol. L'huile essentielle extraite de l'écorce est principalement composée d'aldéhyde cinnamique, d'eugénol, de carbures et d'alcools terpéniques (**Tableau 02**) (**Muhammad et al., 2021**).

Tableau 02 : Constituants chimiques de l'écorce de *Cinnamomun zeylanicum* (**Barbier, 2016**).

Familles de constituants chimique	Constituants chimique
Huile essentielle (0,5 à 2,5% contenant 45 constituants)	Dérivés phénylpropaniques : E-cinnamaldéhyde (65 à 80%), eugénol (jusqu'à 10%), O-méthoxycinnamaldéhyde, benzoate de benzyle, acétate de cinnamyle, monoterpènes, sesquiterpènes
Flavonoïdes	Quercétine, kaempferol, quercitrine
Diterpènes pentacycliques	Cincassiols, cinnzeylanine
Oligomères proanthocyanidoliques (tanins condensés)	Oligomères proanthocyanidoliques trimères, tétramères de type A
Glucides	Amidon, mucilages (alpha-D-glucanes), mannitol, arabino-xylane

La cannelle est largement utilisée depuis l'antiquité dans les cuisines européennes et maghrébines (**Marie-Pierre, 2003**). Elle trouve sa place dans les industries des arômes et des essences en raison de son parfum unique, pouvant être incorporé à une variété de produits alimentaire, de parfums et de médicaments (**Vaibhavi et al., 2010**).

Outre son rôle d'épice et agent aromatisant, la cannelle est également présente dans les chewing-gums aromatisés pour ses effets rafraichissants en bouche (**Gul et Safdar , 2009**). De plus, elle est considérée comme un remède naturel efficace utilisé dans le traitement de diverses maladies, notamment le diabète, les maladies digestives chroniques, des troubles cardiaques, les nausées, les vomissements, la diarrhée, les menstruations excessives et les troubles de l'utérus (**Muhammad et al., 2021**).

La cannelle agit également comme coagulant en prévenant les saignements et favorise la circulation sanguine dans l'utérus, contribuant à la régénération des tissus.

La cannelle occupe une place cruciale en tant qu'épice, mais ses huiles essentielles et autres constituants également ont des activités biologiques importantes (Muhammad et al., 2021), notamment :

► **Une activité anti-inflammatoire :** grâce à sa teneur en cinnamaldéhyde, acide cinnamique, aldéhyde aromatique, acide benzoïque et benzaldéhyde présents dans sa structure (Moreno et al., 2022).

► **Troubles neurologiques :** l'extrait aqueux de *Cinnamomun zeylanicum* peut réduire l'agrégation de la protéine tau et la formation de filaments, deux principales caractéristiques de la maladie d'Alzheimer (Pasupuleti et Siew, 2014).

► **Une activité antidiabétique :** une étude comparant les effets insulino-potentiels de nombreuses épices a révélé que l'extrait aqueux de cannelle était 20 fois plus élevé que celui des autres (Pasupuleti et Siew, 2014).

De même, l'extrait aqueux de *C.zeylanicum* contient des composés bioactifs tels que l'acide benzoïque, le cinnamaldéhyde, l'acide trans-cinnamique et l'eugénol qui sont associés à l'inhibition de l'alpha amylase et de l'alpha glucosidase, enzymes hydrolysant les glucides dans le tractus digestif (Suriyagada et al., 2021).

► **Une activité antimicrobienne :** Matan et al., (2006) ont rapporté les effets des huiles de cannelle sur différentes bactéries, fongiques et levures, indiquant que la cannelle est un agent antimicrobien naturel.

► **Une activité antioxydante :** une étude menée sur des rats a révélé que l'administration de poudre d'écorce de *Cinnamomun verum* (10 %) pendant 90 jours a entraîné une augmentation des activités antioxydantes. Dans une autre étude comparative portant sur 26 épices, la cannelle a démontré la plus forte activité antioxydante, suggérant qu'elle pourrait être utilisée comme antioxydant dans les aliments (Pasupuleti et Siew, 2014). Le cinnamaldéhyde, l'eugénol et l'acide cinnamique sont les principaux composants responsables de l'activité antioxydante de la cannelle (Sharma et al., 2016).

Depuis quelques années, le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par un nouveau concept : celui du « stress oxydant », c'est-à-dire une situation où la cellule ne contrôle plus la présence excessive de radicaux oxygénés toxiques (Favier, 2003).

La découverte des espèces chimiques radicalaires présents dans l'organisme a bouleversé notre compréhension des mécanismes biologiques (Favier, 2003).

Ces radicaux libres sont des molécules ou des atomes ayant un ou plusieurs électrons non appariés, ce qui les rend extrêmement réactifs (Abdelaziz et al., 2014). Ils sont produits par divers mécanismes physiologiques en faible quantité et cette production est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense antioxydants. Dans ces circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/pro oxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficience d'antioxydants ou par une surproduction énorme de radicaux libres, l'excès de ces radicaux est appelé « stress oxydant » (Favier, 2003).

La production excessive de ces radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides et des glucides) ainsi que des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique des métabolites libérés (**Favier , 2003**).

Cependant, les antioxydants sont molécules capables de neutraliser les radicaux libres en acceptant ou en donnant un électron pour éliminer l'état non apparié (**Rani et al., 2010**).

Ces antioxydants peuvent se diviser en antioxydants enzymatiques et antioxydants non enzymatiques (**Favier.2003**) :

► **Antioxydants enzymatiques** : ce sont des enzymes produites par le corps humain, telles que le superoxyde disulmase (SOD), la catalase et la glutathion peroxydase, qui agissent pour neutraliser les radicaux libres et protéger les cellules contre les dommages oxydatifs.

► **Antioxydants non enzymatique** : contrairement aux enzymes antioxydants, la plupart de ces composants ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation. Ils incluent une grande variété de composés, notamment :

- Vitamines : comme la vitamine C (acide ascorbique), la vitamine E (tocophérol) et la vitamine A (bête-carotène).
- Minéraux : comme le sélénium, le zinc et le cuivre.
- Polyphénols : présents dans les fruits, les légumes, les grains entiers, le thé vert et d'autres aliments. Exemples : les flavonoïdes, les catéchines et les anthocyanes.
- Caroténoïdes : tels que le lycopène (tomates pastèques) et la lutéine (épinards).

Cependant, les épices sont souvent riches en composés phytochimiques, y compris des antioxydants naturels tels que les composés phénoliques. Ces composés confèrent aux épices de meilleurs propriétés antioxydantes (**Muhammad et al., 2021**). De plus, les plantes médicinales sont considérées comme capables de produire une variété de pigments de couleur afin qu'ils puissent d'être utilisées comme colorant naturel (**Getta et Sumathy ,2013**).

En tenant compte des informations exposées précédemment, notre étude avait pour objectif :

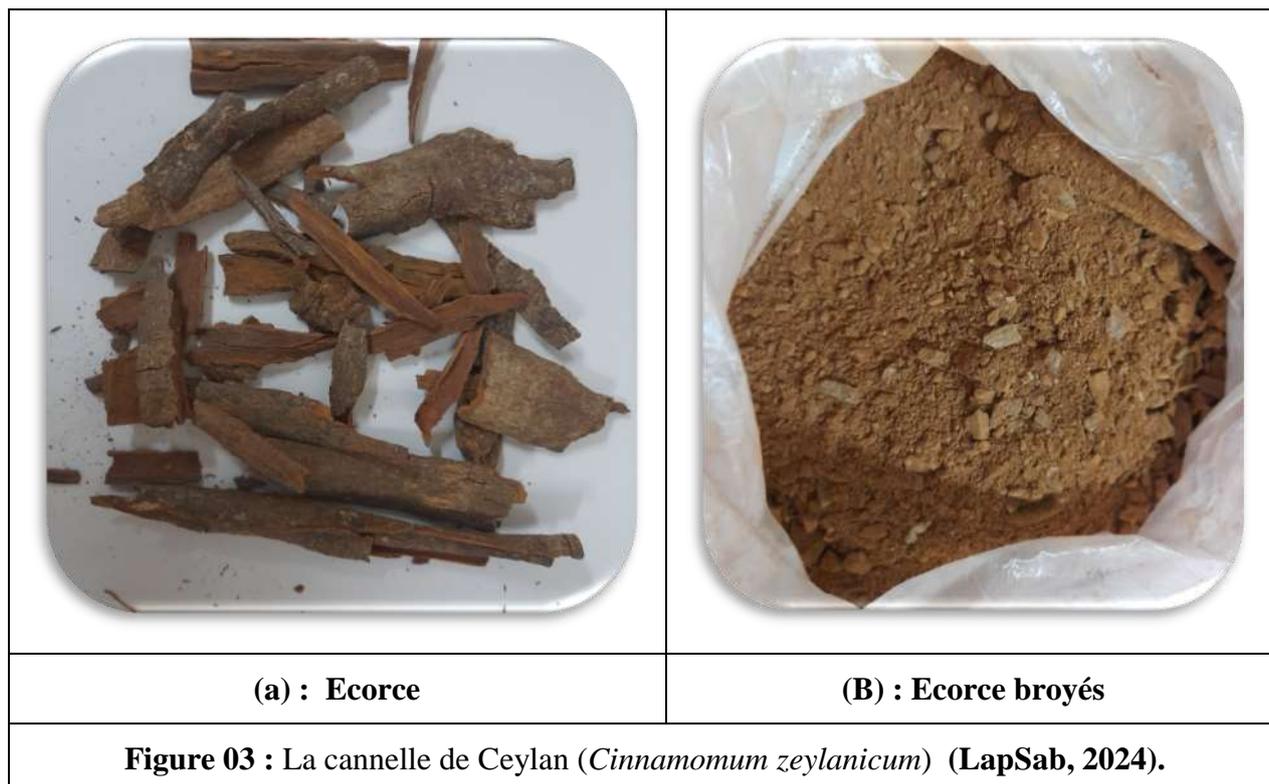
- D'extraire le(s) colorant(s) naturel(s) de la cannelle par des méthodes chromatographiques (CCM, et colonne).
- De réaliser des tests phytochimiques et de doser les composés phénoliques sur des extraits bruts préparés de l'écorce de la cannelle de Ceylan (*C. zeylanicum*)
- De rechercher l'activité antioxydante des extraits bruts préparés par macération et décoction de l'écorce de *C. zeylanicum* (Test de piégeage du radical libre (DPPH) et Test de réduction du fer (FRAP)).

Matériel et Méthodes

Le travail a été réalisé dans le laboratoire de recherche: « Antibiotiques Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique », département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'Univers, Université Aboubekr BELKAID, Tlemcen.

1. Matériel végétal

L'écorce de la cannelle de Ceylan (*Cinnamomum zeylanicum*) (originaire de l'Inde) a été acquise auprès de l'herboriste situé dans la wilaya de Tlemcen (**Figure 03 (a)**). La cannelle a été soumise à un processus de broyage à l'aide d'un broyeur électrique (**Figure 03 (b)**).



2. Préparation des extraits

A partir de l'écorce de la cannelle de Ceylan broyée, nous avons préparé deux extraits bruts, l'un hydro-méthanolique et l'autre hydro-acétonique, par macération ainsi qu'un extrait brut hydro-méthanolique par décoction.

2.1. Préparation des extraits hydro-méthanolique

2.1.1. Décoction

- Dans un ballon rodé surmonté d'un réfrigérant, mélanger 10g de la matière végétale avec 200ml du mélange eau-méthanol (20/80 : v/v) ;
- Placer l'ensemble sous reflux dans une chauffe ballon agitatrice pendant 45 min (**Figure 04**) ;
- Filtrer le mélange à l'aide d'un papier filtre et récupérer le filtrat ;
- Evaporer le méthanol du filtrat à l'aide d'un évaporateur rotatif à 60° C (**Figure 05**) ;

- L'extrait obtenu (EBD-m) est ensuite mis dans une étuve jusqu'à séchage à 37°C pour obtenir un extrait sec, ce dernier est conservé dans des tubes Eppendorf jusqu'à son utilisation pour les tests phytochimiques, dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydante.

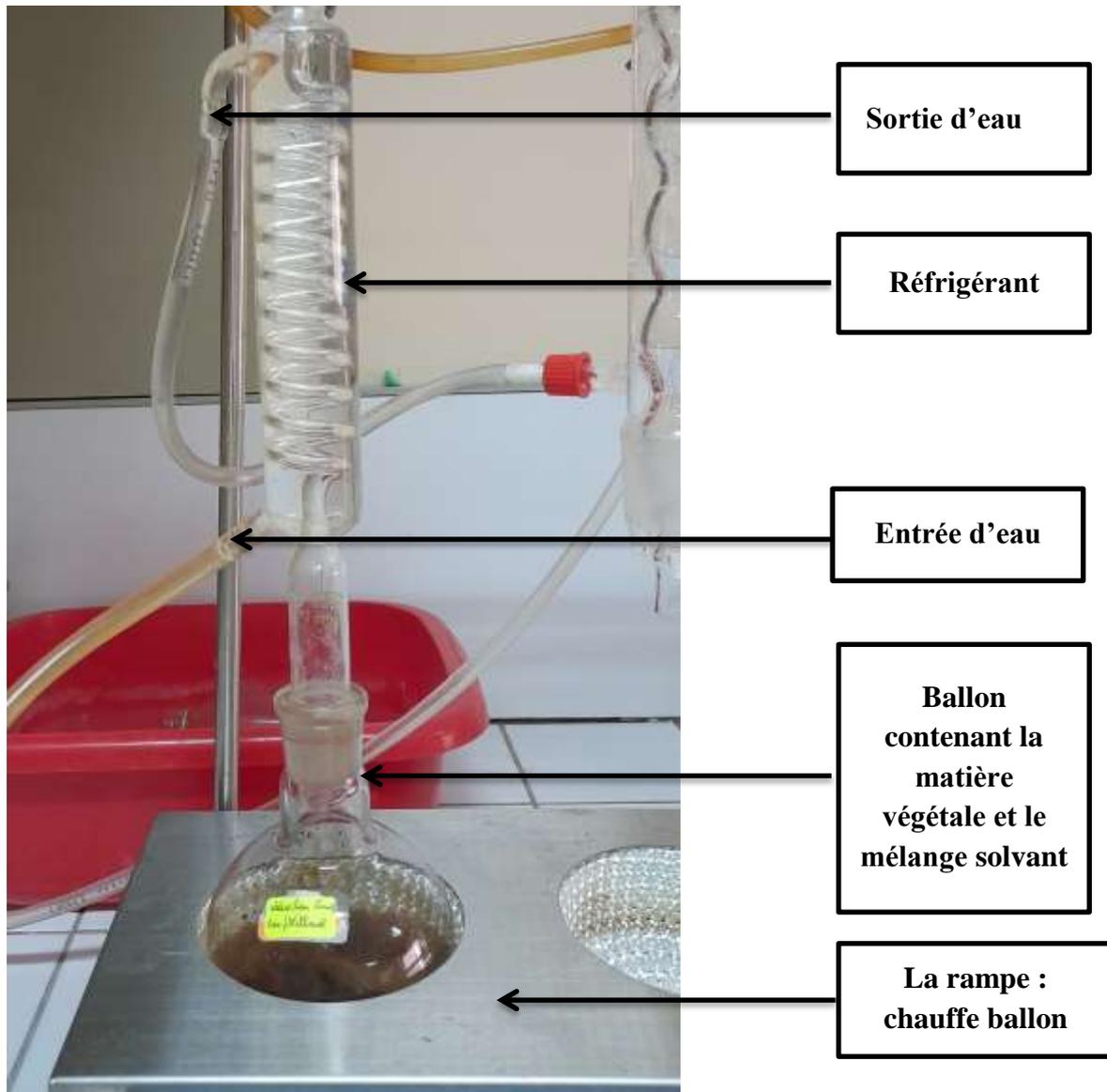


Photo 01 : Montage décoction sous-reflux (LapSab, 2024).

2.1.2. Macération

- Dans un Erlenmeyer, mélanger 10g de la matière végétale avec 150ml du mélange eau-méthanol (20/80 : v/v) ;
- Laisser macérer le mélange à température ambiante pendant 48 heures.
- Filtrer le mélange à l'aide d'un papier filtre ;
- Evaporer le méthanol du filtrat à l'aide d'un évaporateur rotatif à 60° C (**Figure05**) ;

- L'extrait obtenu (EBM-m) est ensuite mis dans une étuve jusqu'à séchage à 37°C pour obtenir un extrait sec, ce dernier est conservé dans des tubes Eppendorf jusqu'à son utilisation pour les tests phytochimiques, dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydante.

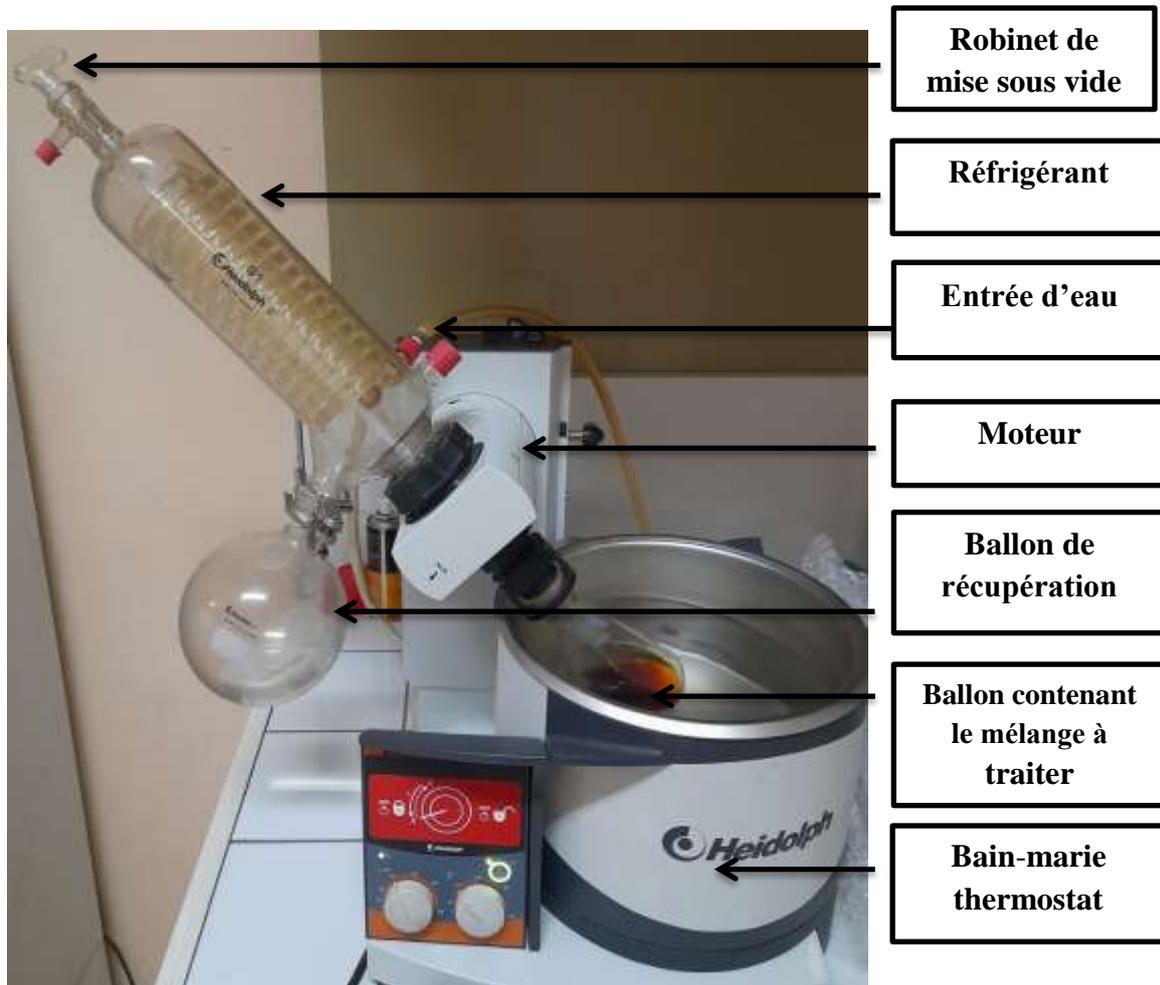


Photo 02 : Montage d'un évaporateur rotatif (LapSab ,2024).

2.2. Préparation d'extrait hydro-acétonique

2.2.1. Macération

- Dans un Erlenmeyer, mélanger 10g de la matière végétale avec 150ml du mélange eau-acétone (20/80 : v/v) ;
- Laissé macérer le mélange à température ambiante pendant 48 heures ;
- Filtrer le mélange à l'aide d'un papier filtre ;

L'extrait brut hydro-acétonique préparé par macération (EBM-a) est ainsi récupéré et stocké à l'abri de la lumière jusqu'à son utilisation pour les tests phytochimiques et la séparation des colorants par méthodes chromatographiques.

2.3. Calcul des rendements

Le rendement des extraits bruts hydro-méthanoliques de l'écorce de la Cannelle de Ceylan, préparés par macération et décoction est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenu et la masse du matériel végétal. Ce rendement est calculé via l'équation suivante :

$$R (\%) = (M1 / M0) \times 100$$

R (%) : rendement exprimé en pourcentage.

M1 : masse en gramme « g » de l'extrait sec obtenu après évaporation du solvant.

M0 : masse en gramme « g » du matériel végétal.

3. Tests photochimiques

Afin de démontrer la présence des métabolites secondaires dans les extraits de l'écorce de la cannelle de Ceylan préparée par macération et décoction, nous avons entrepris une analyse qualitative basée sur des réactions de coloration, de précipitation et d'observation sous lumière ultraviolette.

Les protocoles analytiques utilisés ont été conformes aux techniques décrites par **Trease et Evans, (2002)** et **Harbone (1998)**.

3.1. Les composés azotés

➤ Les alcaloïdes

Dans deux tubes à essai, déposer 0,5 ml de l'extrait à analyser. Acidifier le milieu en introduisant quelques gouttes de HCL (1%). Puis, incorporer 0,5 ml de réactif de Mayer dans le premier tube et 0,5 ml de réactif de Wagner dans le second tube. L'observation d'un précipité blanc ou brun, respectivement, témoigne de la présence d'alcaloïdes.

3.2. Les composés phénoliques

➤ Les tanins

Dans un tube à essai, ajouter 1ml de l'extrait à analyser, suivi de l'incorporation de 0,25 ml d'une solution aqueuse de FeCl₃ (1%). Incuber le mélange pendant 15 minutes à température ambiante. La présence des tanins est révélée par l'apparition d'une coloration verdâtre ou bleu noirâtre

➤ Les flavonoïdes

Dans un tube à essai, verser 1ml de l'extrait à analyser et ajouter 1ml de HCL concentré ainsi que quelques copeaux de magnésium. La formation d'une coloration rose, rouge ou jaune témoigne de la présence des flavonoïdes.

➤ **Les quinones libres**

Dans un tube à essai, introduire 1ml de l'extrait à analyser et mélanger avec 1ml d'hydroxyde de sodium (NaOH à 10 %). L'observation d'un changement de couleur vers le jaune, le rouge ou le violet indique la présence de quinones libres.

➤ **Anthraquinones**

Dans un tube à essai, déposer 1ml d'extrait à analyser puis ajouter 1ml de NH₄OH (10%), suivi d'une agitation. L'apparition d'une coloration violette signale la présence d'anthraquinones.

➤ **Les coumarines : Fluorescence UV**

Dans deux tubes à essai, verser 1ml de l'extrait à analyser. Utiliser le premier tube comme témoin et ajouter à l'autre 0,1 ml de NH₄OH (10%). Mettre deux taches sur un papier filtre et observer sous lumière UV à 366nm. La présence de coumarines est révélée par une fluorescence intense.

3.3. Les composés terpéniques

➤ **Les saponines : test de mousse**

Dans un tube à essai, verser 10ml de l'extrait à analyser, agiter pendant 15 secondes, puis laisser le mélange reposer pendant 15minutes. Une hauteur de mousse persistante dépassant 1cm indique la présence de saponines.

➤ **Terpénoïdes**

Test de Slakowski : dans un tube à essai, introduire 1ml de l'extrait à analyser, ajouter 0,4ml de chloroforme et 0,6ml d'acide sulfurique concentré. La formation de deux phases et une couleur marron à l'interphase indique la présence des terpénoïdes.

3.4. Les composés réducteurs

Dans un tube à essai, ajouter 1ml de liqueur de Fehling (0,5 ml réactif A et 0,5 ml réactif B) à 1ml d'extrait à analyser et incuber l'ensemble 08min dans un bain marie bouillant. L'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs.

4. Dosage des composés phénoliques

4.1. Dosage des polyphénols totaux

Les polyphénols constituent l'un des groupes de métabolites secondaires les plus larges et les plus répandus du règne végétal. Ils sont caractérisés par la présence de plusieurs groupes phénoliques en un ou plusieurs cycles aromatiques avec des groupements hydroxyles (-OH) attachés directement à ces cycles (**Muhammad et al.,2021**).

Les polyphénols totaux ont été quantifiés à l'aide d'une méthode spectrophotométrique, conformément au protocole détaillé par **Vermerius et Nicholson (2006)**.

➤ **Principe**

Le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PM_{12}O_{40}$). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols en un mélange d'oxyde bleu de tungstène et de molybdène ayant une absorption maximale à 700nm dont l'intensité de la couleur est proportionnelle à la quantité de composés phénoliques présents dans l'échantillon (**Vermerius et Nicholson, 2006**).

➤ **Mode opératoire**

0,1 ml d'extrait (1mg/ml) est mélangé avec 2 ml de la solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3 à 2%). L'ensemble est agité par un vortex et incubé pendant 5 minutes. Puis, 0,1 ml du réactif Folin-Ciocalteu 1N est ajouté. Le mélange final est incubé à une température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 30 minutes. La lecture est effectuée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à 680nm (**Tableau 03**).

Dans les mêmes conditions opératoires, une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle en utilisant l'acide gallique comme étalon (contrôle positif) à partir d'une solution mère de 0,5 mg/ml (**Tableau 03**).

Les résultats obtenus sont exprimés en microgramme Equivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait sec (μg EAG/ mg ES).

Chaque essai est répété 3 fois.

Tableau 03 : Dosage des polyphénols totaux.

	La gamme d'étalon (acide gallique)											Extrait (1mg/ml)	
												EBM-m	EBD-m
[Acide gallique] $\mu g/ml$	B	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500	-	-
Acide gallique (ml)	-	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	-	-
Eau distillé (ml)	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Extraits (ml)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	0,1
Na_2CO_3 (2%) ml)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Agitation et incubation pendant 5 min													
Folin-Ciocalteu (1N) (ml)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Incubation à l'abri de la lumière et à température ambiante pendant 30 min													
Mesure de l'absorbance à 680nm													

4.2. Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes appartiennent à la grande famille des polyphénols. Ils sont constitués d'un même élément structural de base formé par deux cycles benzéniques (cycles A et B), reliés par une chaîne linéaire à trois carbones qui forme un hétérocycle oxygéné (cycle C) (Cook et Samman, 1996).

La teneur en flavonoïdes totaux est déterminée par le test de trichlorure d'aluminium selon la méthode décrite par Zhichen et al., (1999).

➤ Principe

Le principe de cette méthode se repose sur l'oxydation des flavonoïdes en milieu alcalin par le nitrite de sodium (NaNO_2) et le chlorure d'aluminium (AlCl_3) en composant de couleur rose absorbant à 510nm.

➤ Mode opératoire

250 μl de l'extrait (1mg/ml) est mélangé avec 1ml d'eau distillée et 75 μl d'une solution de nitrite de sodium (NaNO_2 à 15%). Après une incubation de 6 minutes à température ambiante, 75 μl de chlorure d'aluminium (AlCl_3 à 10%) est ajoutés. Après 6 minutes, 1 ml d'hydroxyde de sodium (NaOH à 4%) est incorporé, et le volume total est ajusté à 2,5 ml avec l'eau distillée. Le mélange est agité puis laissé à incuber à température ambiante, à l'abri de la lumière, pendant 30 minutes. L'absorbance est mesurée au spectrophotomètre à 510nm contre blanc (Tableau 04).

Dans des conditions opératoires similaires, une courbe d'étalonnage est établie en parallèle en utilisant la catéchine comme contrôle positif à un intervalle de concentrations de 50 à 500 $\mu\text{g/ml}$ (Tableau 04).

Les résultats obtenus sont exprimés en microgramme équivalent catéchine par milligramme d'extrait sec ($\mu\text{g EC / mg ES}$).

Tableau 04 : Méthodes de dosage des flavonoïdes.

	La gamme d'étalon (catéchine)											Extraits (1mg/ml)	
	B	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500	EBM-m	EBD-m
Catéchine $\mu\text{g/ml}$	B	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500	-	-
Catéchine (μg)	-	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	-	-
Extrait (μl)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	250	250
Eau distillé (μl)	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
NaNO_2 (15%) (μl)	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75
1ère incubation pendant 6 min à température ambiante													
AlCl_3 (10%) (μl)	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75
2ème incubation pendant 6 min à température ambiante													

NaOH (4%)(μ l)	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Eau distillée (μ l)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
3 ^{ème} incubation à l'obscurité pendant 30 min													
Mesure de l'absorbance à 510nm													

5. Evaluation de l'activité antioxydante

La mise en évidence de l'activité antioxydante des extraits bruts hydro-méthanoliques, obtenus par macération et décoction de l'écorce de la cannelle de Ceylan, a été effectuée en utilisant le test de piégeage du radical libre 2-2-diphényle-1-picryl-hydrazyle (DPPH) et le test de réduction du fer (FRAP).

5.1. Test de piégeage du radical libre (DPPH)

Le DPPH est un composé radicalaire stable largement utilisé pour évaluer l'activité de piégeage des radicaux libres (**Wijewardhane et al., 2019**).

➤ Principe

Le DPPH (2-2-diphényle-1-picryl-hydrazyle), est un radical libre stable de couleur violet qui absorbe à 517 nm. En présence de composés antiradicalaires, le radical DPPH de couleur violet est réduit et change de couleur en virant au jaune. Les absorbances mesurées servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH, qui est proportionnel au pouvoir antiradicalaire de l'échantillon (**Atoui et al., 2005**).

➤ Mode opératoire

L'effet de chaque extrait sur le DPPH est évalué en suivant la procédure décrite par **Atoui et al., (2005)** :

Pour chaque extrait, des volumes de 50 μ l contenant différentes concentrations en mg/ml ont été ajoutés à 1950 μ l d'une solution méthanolique fraîchement préparée de DPPH (0,025 mg/ml).

Simultanément, des tubes blancs ont été préparés en mélangeant 50 μ l de chaque concentration d'extrait avec 1950 μ l de méthanol.

Un témoin négatif a été préparé en ajoutant 50 μ l de méthanol à 1950 μ l de DPPH.

Les séries des tubes ont été conservées à l'abri de la lumière à température ambiante pendant 30 minutes, puis l'absorbance a été mesurée à 520 nm par spectrophotomètre, en utilisant un blanc comme référence.

Un contrôle positif comprend de l'acide ascorbique a été préparé dans les mêmes conditions expérimentales à différentes concentrations.

➤ Expression des résultats

Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical DPPH. Le pourcentage de piégeage du radical libre est calculé selon l'équation suivante :

Le % d'inhibition : $[(\text{Abs } 1 - \text{Abs } 2) / \text{Abs } 1] \times 100$

Abs 1: Absorbance de la solution DPPH (contrôle négative).

Abs 2 : Absorbance de l'extrait.

L'CI50 (concentration inhibitrice à 50 %) permet de calculer la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % des radicaux DPPH. Elle est calculée graphiquement par la régression logarithmique des graphes tracés, pourcentage d'inhibition en fonction de différentes concentrations d'extrait.

5.2. Le test de réduction du fer : FRAP (Ferric Reducing Antioxydant Power)

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant (**Hama et al.,2019**).

➤ Principe

Cette technique permet de mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en fer ferreux (Fe^{2+}). Cette réduction se traduit par l'apparition d'une couleur verte qui absorbe à 700 nm dont l'intensité est proportionnelle au pouvoir réducteur (**Topcu et Goren, 2007**).

➤ Mode opératoire

100 μl de l'extrait à différentes concentrations ont été mélangés avec 250 μl de solution tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et 250 μl de solution de ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (1%). Le mélange a été incubé à 50°C pendant 20 minutes dans une étuve, puis refroidi. Par la suite, 250 μl d'acide trichloracétique TCA (10%) ont été ajoutés. Après centrifugation pendant 10 min à 3000 rpm, 500 μl de surnageant ont été combinés avec 500 μl d'eau distillé et 100 μl d'une solution aqueuse de chlorure de fer FeCl_3 (0,1%).

La lecture des absorbances du milieu réactionnel a été faite à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre, en utilisant un blanc préparé en remplaçant l'extrait par de l'eau distillé.

Pour chaque concentration, le test est répété 3 fois.

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard, l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les extraits dans différentes concentrations.

Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés.

➤ Expression des résultats

Les résultats sont exprimés en A0.5 et déterminées à partir des courbes des régressions linéaires d'absorbance en fonction de différentes concentrations de chaque extrait.

6. Séparations chromatographiques

La première séparation de l'extrait brut hydro-acétonique préparé par macération a été effectuée par chromatographie sur colonne puis les fractions obtenues sont ensuite examinés par chromatographie sur couche mince.

6.1. Chromatographie sur colonne

La chromatographie sur colonne est une méthode préparatoire qui permet de séparer et d'isoler les constituants d'un mélange.

La phase stationnaire, le plus souvent silice remplissant une colonne.

L'échantillon est déposé en haut de la colonne.

La séparation des composants résulte de l'écoulement continu d'un éluant, traversant la colonne par gravité.

Les molécules sont entraînées vers le bas à des vitesses variables selon leur affinité pour l'absorbant et solubilité dans l'éluant.

➤ Mode opératoire

Dans une pipette pasteur contenant une quantité de gel de silice et fermée à l'extrémité inférieur par un coton, on ajoute l'éluant qui est le dichlorométhane, puis on y introduit une quantité d'extrait.

L'extrait est fractionné avec un gradient de couleur, et à chaque fois, les fractions sont recueillies dans des tubes en verres.

Les fractions collectées sont soumises à une chromatographie sur couche mince.

6.2. Chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince est une technique chromatographique largement utilisée pour séparer les constituants d'un mélange, vérifier l'identité et la pureté d'un composé, ainsi qu'analyser les fractions obtenues à partir de la chromatographie sur colonne (Li Cai, 2014).

Les principaux éléments d'une séparation CCM sont :

- ✓ La cuve chromatographique : fermée par un couvercle étanche.
- ✓ Phase mobile (éluant, solvant de migration): dichlorométhane.
- ✓ Phase stationnaire (adsorbants) : le gel de silice.
- ✓ L'échantillon est mis en solution.
- ✓ Développement de la plaque : consiste à faire migrer le solvant sur la plaque.
- ✓ Révélation : noter les positions des taches colorées naturellement ou par des révélateurs.

➤ Mode opératoire

Une petite quantité d'extrait brut hydro-acétonique est déposés sur la plaque chromatographique.

La plaque préparée a été séchée, puis introduite dans une cuve chromatographique contenant la phase mobile : dichlorométhane

La plaque a été révélée par lampe UV à 366nm.

➤ **Calcul de RF (rapport frontal)**

Le comportement d'un composé individuel en chromatographie sur couche mince est caractérisé par une quantité appelée : rapport frontal (**Archana et Anubha ,2011**). Ce RF est calculé via l'équation suivante :

RF = Distance parcourue par la substance depuis la position d'origine / Distance parcourue par le solvant (front du solvant).

7. Analyses statistiques

Les calculs statistiques sont souvent utiles aux biologistes pour la détermination des valeurs normales ou plus exactement des valeurs de référence.

Tous les tests ont été réalisés en triplicate.

7.1. La moyenne

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_i x_i$$

7.2. L'écart-type

$$\sigma_x = \sqrt{V_x}$$

Résultats et Discussion

Les plantes médicinales aromatiques représentent un intérêt économique dans les domaines de l'industrie : pharmaceutique, agroalimentaire et cosmétique (**Bruneton, 1999**). En effet, elles sont douées non seulement des qualités aromatiques et culinaires, mais aussi de vertus médicinales variées grâce aux différents principes actifs qu'elles contiennent. Elles constituent un réservoir inépuisable de remèdes populaires les plus efficaces et représentent la source naturelle de médicaments la plus utilisée (**Beloued, 1998**).

Les épices sont des parties sèches des herbes qui sont couramment utilisées comme agents aromatisants dans les aliments et peuvent également exercer des effets physiologiques bénéfiques pour la santé.

La cannelle de Ceylan (*Cinnamomum zeylanicum*) est l'une des épices les plus anciennes et les plus savoureuses, utilisées dans le monde entier, non seulement dans la cuisine, mais aussi dans la médecine traditionnelles et modernes. Elle appartient au genre *Cinnamomun* de la famille des Lauraceae.

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à réaliser des tests phytochimiques et des dosages des composés phénoliques sur des extraits bruts hydro-méthanoliques préparés par macération et décoction de l'écorce de la cannelle de Ceylan (*C. zeylanicum*), ainsi de rechercher leurs activités antioxydantes par le test de piégeage du radical libre (DPPH) et le test de réduction du fer (FRAP). Par ailleurs, nous réalisons une extraction de (s) colorant(s) naturel(s) de la cannelle par méthodes chromatographiques (CCM, et colonne).

1. Rendement d'extraction

Les rendements d'extractions des extraits bruts hydro-méthanoliques préparés par macération et décoction à partir de l'écorce de la cannelle de Ceylan (*Cinnamomum zeylanicum*) ont été calculés après évaporation du solvant. Les résultats obtenus sont illustrés dans le tableau 05.

Tableau 05 : Rendement d'extraction des différentes préparations de l'écorce de la cannelle de Ceylan (*Cinnamomum zeylanicum*)

Extraits	Masse végétale initiale (g)	Rendement (%)
EBM-m	10	3,47
EBD-m	10	6,05

EBM-m : Extrait brut macération- eau-méthanol ; **EBD-m :** Extrait brut décoction- eau-méthanol.

D'après les résultats indiqués dans le tableau 05, nous avons noté que l'extrait brut préparé par décoction présente le rendement le plus élevé, avec un taux de 6,05 %, comparé à l'extrait brut préparé par macération, qui présente un rendement de 3,47 %.

Ces résultats soulignent clairement que la méthode de décoction est la plus efficace pour extraire les composés actifs de l'écorce de la cannelle de Ceylan, offrant ainsi le rendement d'extraction le plus élevé.

Sung et al., (2012) et **Sudan et al., (2013)** ont rapporté des rendements de 19,93 % et 18,92% de l'extrait méthanolique de *Cinnamomum zeylanicum*, respectivement.

Singh et al., (2020) ont indiqué que les rendements d'extraction par la méthode de soxhlet pour les extraits méthanolique, éthanolique et d'acétone de *Cinnamomum zeylanicum* étaient de 21 %, 19 % et 12 %, respectivement.

Ces différences de résultats peuvent s'expliquer par le fait que le rendement d'extraction dépend de plusieurs paramètres qui peuvent influencer les performances de l'extraction, tels que la méthode et le temps d'extraction, le pH, la température, le degré d'agitation et la polarité du solvant (**Gulcin et al., 2019**).

2. Caractéristiques des extraits

Le tableau 06 présente un résumé des caractéristiques des extraits bruts hydro-méthanoliques obtenus par macération et décoction à partir de l'écorce de la cannelle de Ceylan (*Cinnamomum zeylanicum*).

Tableau 06 : Caractéristiques des différents extraits préparés de l'écorce de cannelle de Ceylan.

Extraits	Aspect	Couleur	Solubilité
EBM-m	Poudre	Marron foncé	Méthanol
EBD-m	Poudre	Marron foncé	Méthanol

EBM-m : Extrait brut macération- eau-méthanol ; **EBD-m** : Extrait brut décoction- eau-méthanol.

Selon les données du **tableau 06**, les extraits issus de la macération et de la décoction de l'écorce de la cannelle de Ceylan ont été récupérés sous forme de poudre de couleur marron foncé et avec une meilleure solubilité dans le méthanol.

3. Tests phytochimiques

Les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles de métabolites secondaires existants dans la partie étudiée de la plante par des réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque famille de composés.

Les résultats des tests phytochimiques des diverses préparations des extraits de l'écorce de cannelle de Ceylan sont répertoriés dans le tableau 07 :

Tableau 07 : Résultats des tests phytochimiques réalisés sur les différents extraits étudiés de l'écorce de la cannelle de Ceylan (*C. zeylanicum*).

Métabolites secondaires	Réactifs	EBM-m	EBM-a	EBD-m
Alcaloïdes	Mayer	+++	+++	+++
	Wagner	+++	+++	+++
Tannins	FeCl ₃	+++	+++	+++
Flavonoïdes	HCL, Mg ²⁺	+++	+++	++
Quinones libres	NaOH (1%)	+++	+	+
Anthraquinones	NH ₄ OH (10%)	-	-	-
Coumarines	Fluorescence UV	-	-	-
Saponines	Indice de mousse	-	-	-
Terpénoides	Test de Slakowski	+++	+++	++
Composés réducteurs	Liqueur de Fehling	++	++	++

EBM-m : extrait brut macération-eau-méthanol. **EBM-a** : extrait brut macération –eau-acétone ; **EBD-m** : extrait brut décoction- eau-méthanol ; +++ : Fortement positif ; ++ : Moyennement positif ; + : Faiblement positif ; - : Négatif.

D'après les résultats obtenus, nous avons noté que l'écorce de la cannelle de Ceylan est particulièrement riche en tannins, en alcaloïdes, en flavonoïdes et en terpénoides. De même, nous avons enregistré la présence de quinones libres et des composés réducteurs dans les différentes préparations d'extraits bruts (EBM-m, EBM-a et EBD-m).

Par contre, la présence de coumarines, de saponines et des anthraquinones ont été négatifs sur les différents échantillons étudiés.

Ces résultats vont dans le même sens que d'autres études menées par **Liyanarachchi et al. (2020)**, **Mazimba et al. (2015)**, **Bernard et al., (2014)**, **Madhushika et bulugahapitiya, (2022)** et **Paranagama et al. (2020)**, où ils ont révélé une forte présence des alcaloïdes, des flavonoïdes, des tannins et des terpénoïdes. Par contre, ils ont marqué la présence de coumarine et de saponine qui sont notés absents sur nos extraits.

De plus, l'analyse phytochimique des extraits méthanolique, éthanolique et d'acétone de l'écorce de *Cinnamomum zeylanicum*, réalisée par **Singh et al., (2020)**, a révélé la présence des glycosides, de flavonoïdes, d'alcaloïdes, de saponines, de tannins et de terpénoïdes.

L'étude d'**Khalisyassen et Taha (2021)** a montré que la détection qualitative des composés phytochimiques dans l'extrait d'écorce de *Cinnamomum zeylanicum* révèle la présence des saponines, des stéroïdes, des phénols, des coumarines, des résines, des tannins, des flavonoïdes et des alcaloïdes.

Cependant, la composition ainsi que la quantité des métabolites secondaires d'un extrait peuvent être influencées par plusieurs facteurs tels que le mode et le temps d'extraction, la température, la nature du solvant, ainsi que sa polarité qui permet de solubiliser et d'extraire les composés de polarité similaire au solvant (**Ncube et al.,2008**).

4. Dosage des composés phénoliques

4.1. Dosage des polyphénols totaux

La détermination de la teneur en polyphénols totaux des différents extraits bruts hydro-méthanoliques, préparés à partir de l'écorce de *Cinnamomum zeylanicum* par macération et décoction, a été effectuée en utilisant la méthode du réactif Folin-Ciocalteu.

Après l'ajout de la solution de carbonate de sodium monohydraté et du réactif de Folin-Ciocalteu, une coloration bleue est observée. Cette coloration varie en fonction de la concentration en polyphénols de l'extrait de la cannelle.

Les résultats obtenus sont exprimés en μg équivalent d'acide gallique par mg de l'extrait sec (μg EAG/mg ES), en se référant à la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique ($y = 0,0013x$) avec un coefficient de détermination R^2 égal à 0,9916 (**Figure 06**).

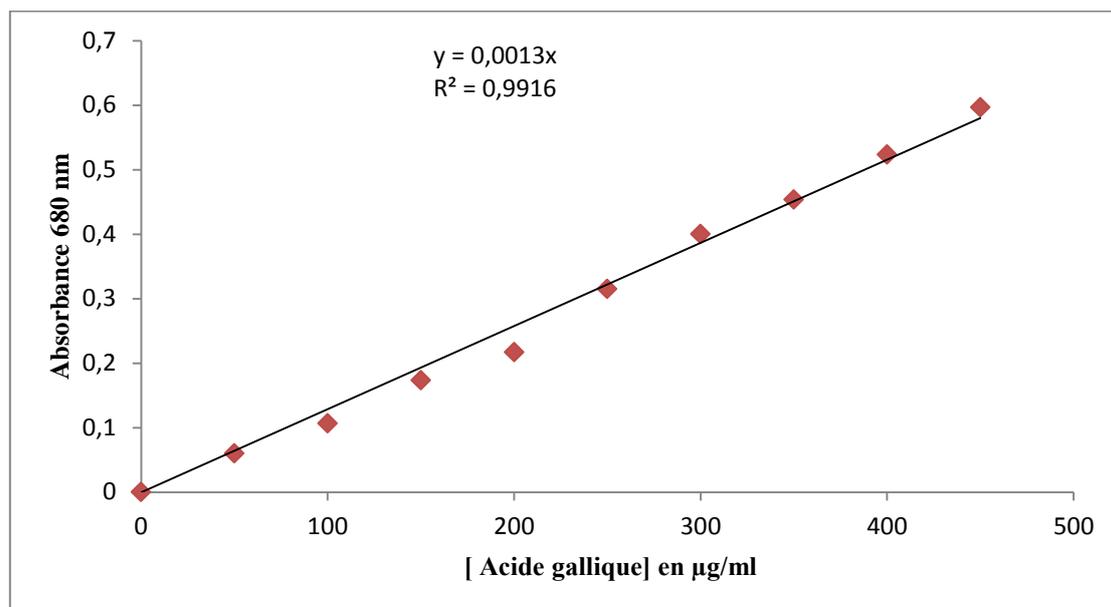
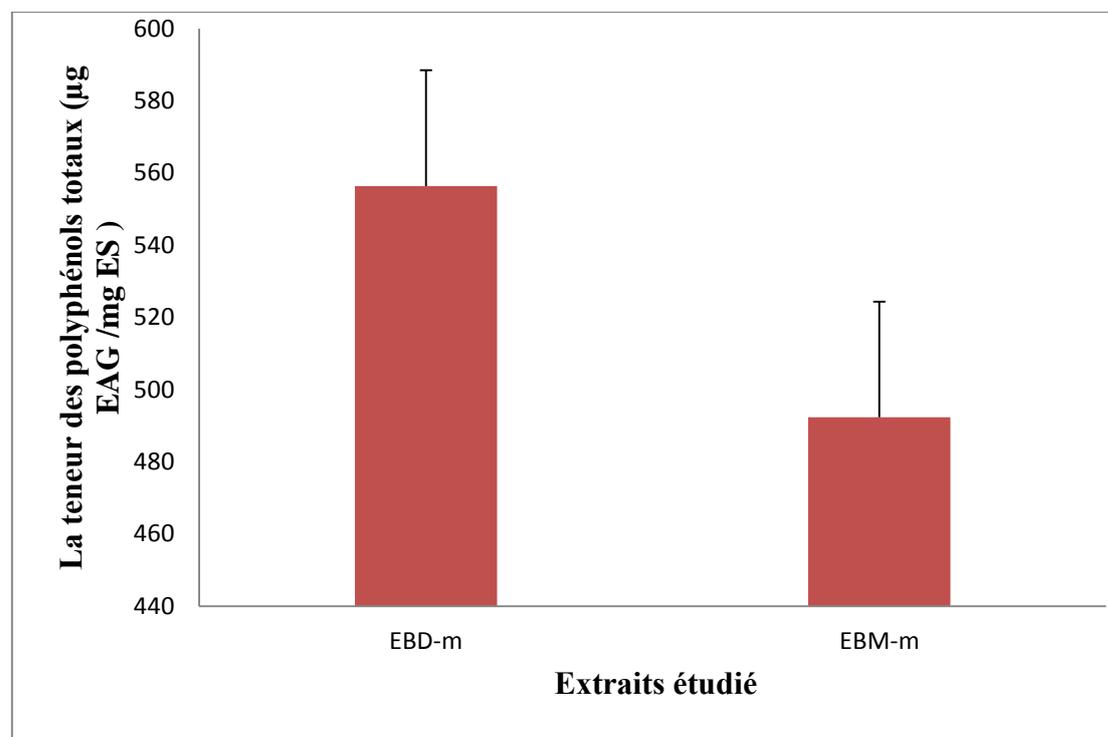


Figure 04 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.



EBM-m : Extrait brut macération- eau-méthanol ; **EBD-m** : Extrait brut décoction- eau-méthanol.

Figure 05 : La teneur en polyphénols totaux (µg EAG / mg ES) des extraits préparés d'écorce de la cannelle de Ceylan.

Les résultats présentés dans la figure 07, indiquent une faible variation des concentrations de polyphénols totaux entre les deux extraits bruts hydro-méthanoliques préparés par macération et décoction.

La teneur la plus élevée de polyphénols totaux a été mesurée dans l'extrait brut hydro-méthanolique préparé par décoction (**EBD-m**), avec une valeur de $556,4 \pm 54 \mu\text{g EAG /mg ES}$, comparée à l'extrait brut hydro-méthanolique préparé par macération (**EBM-m**) où une teneur de $492,3 \pm 13 \mu\text{g EAG /mg ES}$ a été enregistrée.

Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés dans la littérature dans les travaux de **Hayward et al., (2019)** qui ont enregistré une teneur en polyphénols de l'ordre de $436 \mu\text{g EAG /mg ES}$.

Selon les données rapportées par **Dam et al., (2023)**, l'écorce de *C. zeylanicum* collectés à Galle et au Sri Lanka a présenté des valeurs en polyphénols totaux dans la plage de 188,95 à 204,71 mg EAG /g.

Sudan et al., (2013) et **Walimuni et al., (2019)** ont montré que la teneur de polyphénols totaux dans l'écorce de la cannelle de Ceylan est de l'ordre de $210 \pm 0,81 \text{ mg EAG /g}$ d'échantillon et $215,07 \pm 1,98 \text{ mg EAG/g}$ d'échantillon, respectivement.

Les travaux d'**Khalisyassen et Taha (2021)** ont indiqué une large gamme de composé phénolique, où le cinnamaldéhyde et l'eugénol ont présenté les concentrations les plus élevées dans les extraits d'écorce de cannelle de Ceylan. Ces deux composés sont considérés comme des phénols antioxydants dans la cannelle et jouent un rôle important dans ces applications thérapeutiques.

Le contenu polyphénolique varie qualitativement et quantitativement d'une plante à l'autre, cela peut être attribué à plusieurs facteur (**Bentabet et al.,2014**) :

- Facteurs climatiques et environnementaux : la zone géographique, sécheresse, sol, agressions et maladies, etc ;
- Le patrimoine génétique, la période de la récolte et le stade de développement de la plante ;
- La méthode d'extraction et la méthode de quantification.

4.2. Dosage des flavonoïdes

La détermination de la teneur en flavonoïdes des différents extraits bruts hydro-méthanoliques, préparés à partir de l'écorce de la cannelle de Ceylan par macération et décoction, a été effectuée par le test de trichlorure d'aluminium en utilisant comme standard la catéchine.

Résultats et Discussion

Les résultats obtenus sont exprimés en μg équivalent de la catéchine par mg d'extrait sec ($\mu\text{g EC}/\text{mg ES}$), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de la catéchine ($y = 0,0027x$) avec un coefficient de détermination R^2 égal à 0.9915 (figure 08).

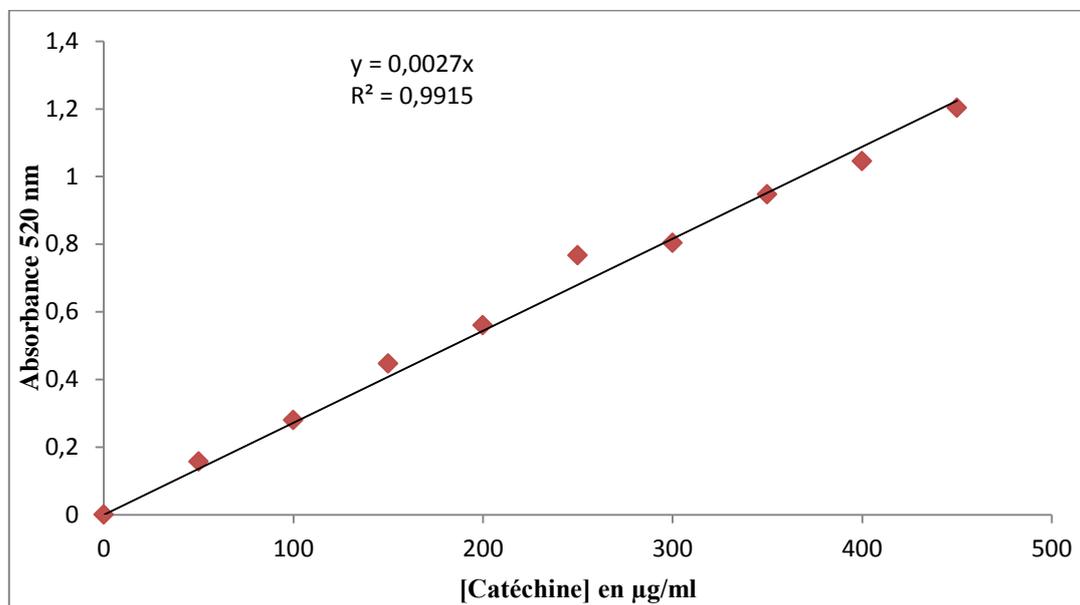
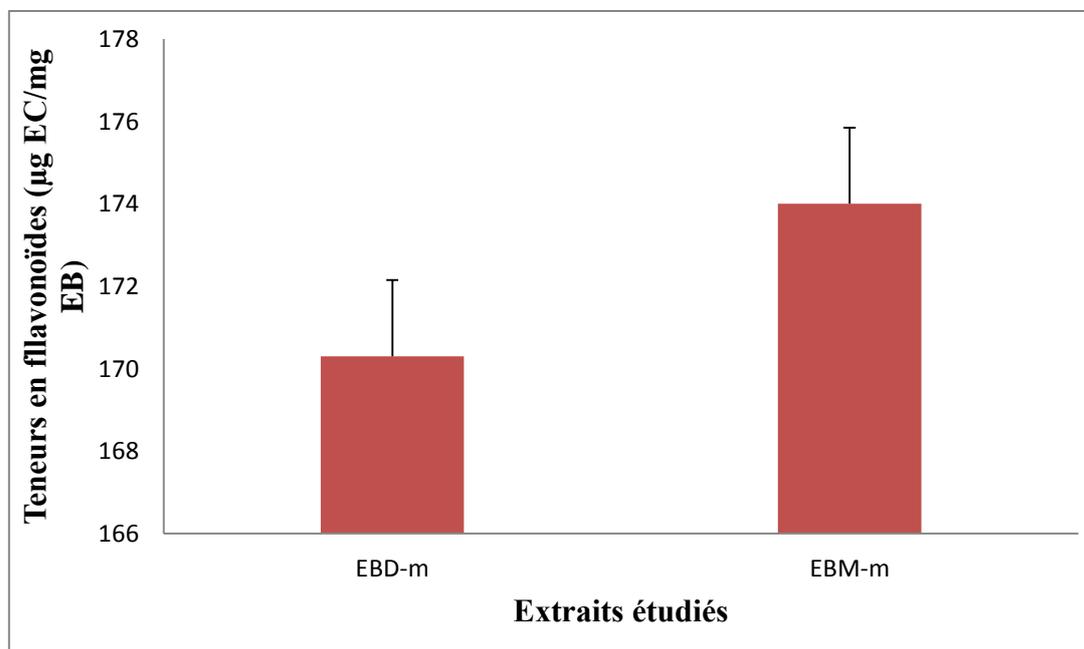


Figure 06 : La courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes.



EBM-m : Extrait brut macération- eau-méthanol ; **EBD-m** : Extrait brut décoction- eau-méthanol.

Figure 07 : La teneur en flavonoïdes ($\mu\text{g EC} / \text{mg ES}$) des extraits préparés d'écorce de la cannelle de Ceylan.

Les résultats présentés dans la figure 09, indiquent une légère différence de teneur en flavonoïdes entre les deux extraits bruts hydro-méthanoliques, préparés par macération et décoction.

L'extrait brut hydro-méthanolique obtenu par macération a présenté une valeur supérieure en flavonoïdes, mesurée à un taux de $174 \pm 3 \mu\text{g EC} / \text{mg ES}$, tandis que l'extrait brut hydro-méthanolique préparé par décoction a affiché une teneur de l'ordre de $170,3 \pm 3 \mu\text{g EC} / \text{mg ES}$.

Les études réalisées par **Walimuni et al.,(2019)** et **Nawaz et al.,(2023)**, ont estimé que la teneur totale en flavonoïdes dans les extraits d'écorce de la cannelle de Ceylan était de $45,01 \pm 0,56 \text{ mg E Quercétine/g d'échantillon}$ et $429,19 \pm 0,17 \text{ mg EC} / 100\text{g}$ respectivement .

Dans une analyse de la teneur totale en flavonoïdes réalisée par **Singh et al.,(2020)**, l'extrait d'acétone de *C. zeylanicum* a enregistré la teneur la plus élevée ($634,2 \text{ mg QE/g}$) , suivie des extraits méthanoliques ($142,5 \text{ mg QE/g}$) et éthanolique ($117,5 \text{ mg QE/g}$) de *C. zeylanicum*.

Les variations des méthodes d'extraction, des méthodes d'analyses, ainsi que les conditions de croissance telles que le climat, le type de sol et l'intensité lumineuse, peuvent toutes influencer le contenu bioactif du matériel végétal et expliquer les variations observées dans la littérature (**Hayward et al., 2019**).

5. Evaluation de l'activité antioxydante

La recherche de nouveaux antioxydants naturels via le screening de sources végétales, en particulier des plantes médicinales a abouti à la découverte d'un grand nombre de ces composés utiles qui commencent à jouer un rôle majeur dans le traitement de nombreuses maladies humaines ainsi que dans l'industrie alimentaire.

C'est dans ce contexte que nous nous sommes intéressés à évaluer l'activité antioxydante de l'écorce de *Cinnamomum zeylanicum*.

La mise en évidence du pouvoir antioxydant des extraits bruts hydro-méthanoliques, obtenus par macération et décoction de l'écorce de la cannelle de Ceylan (*Cinnamomum zeylanicum*), a été réalisée par deux méthodes à savoir le test de piégeage du radical libre 2-2-diphényle-1-picryl-hydrazyle (DPPH) et le test de réduction du fer (FRAP).

5.1. Test de piégeage du radical libre (DPPH)

Le DPPH est un radical stable largement utilisé pour évaluer l'activité de piégeage des radicaux libres, il présente une absorbance maximale à 517 nm et subit un changement de couleur de violet à jaune lorsqu'il est réduit par un composé antioxydant (Wijewardhana et al., 2019).

Les résultats obtenus sont exprimés en pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations des extraits et de standard (l'acide ascorbique). Les CI50 obtenues ont été calculées à partir des équations des régressions logarithmiques des courbes tracées (Figure 10, 11 et 12) et les résultats sont représentés dans le tableau 08.

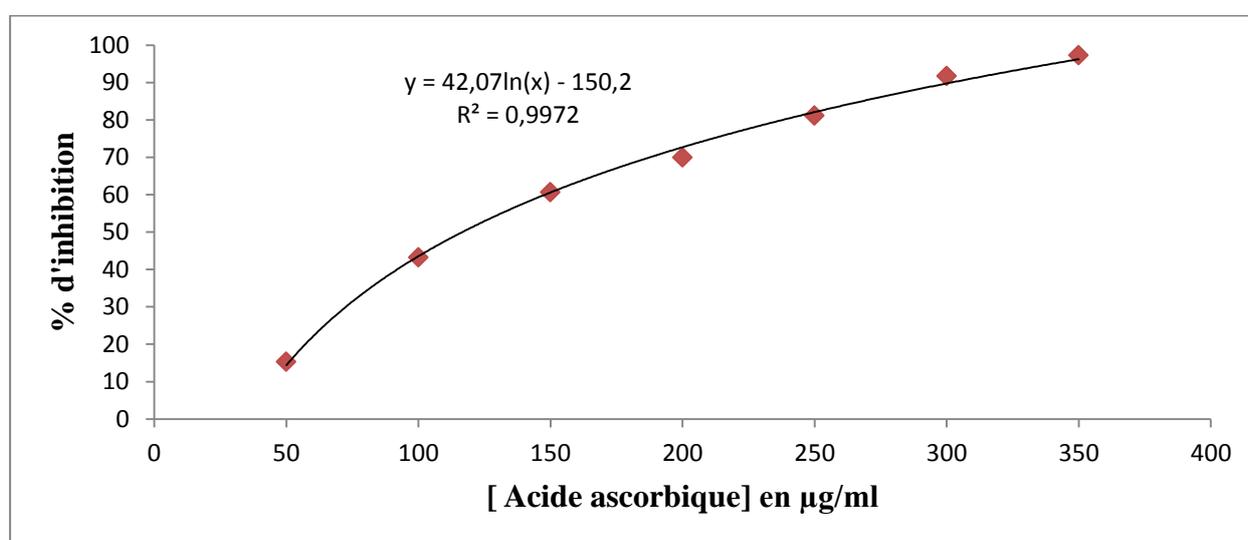


Figure 08 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations de l'acide ascorbique.

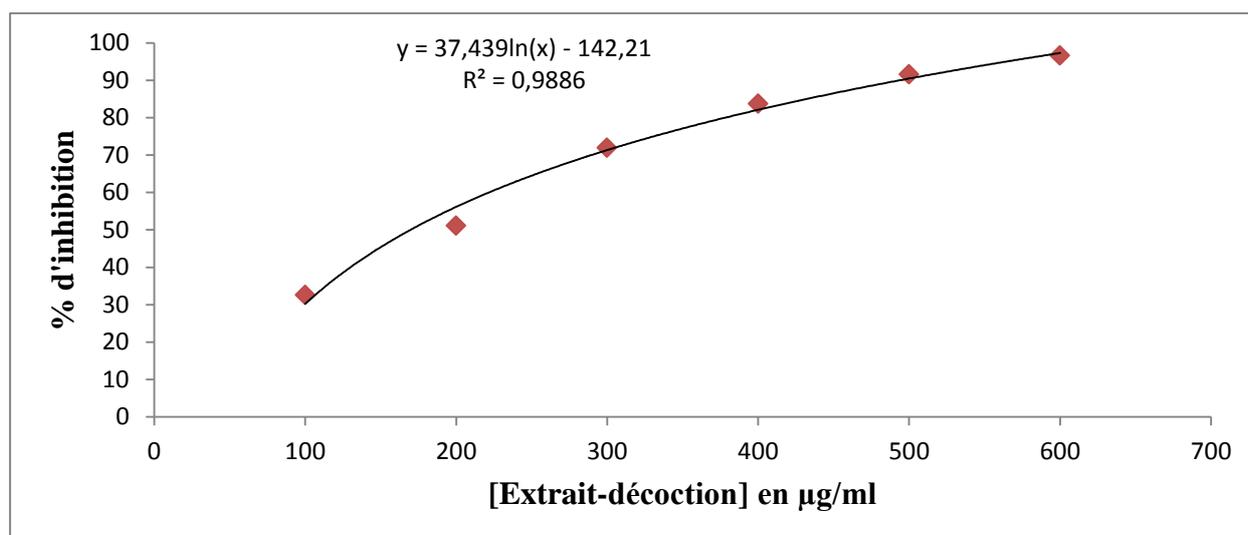


Figure 09 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations de l'extrait brut hydro-méthanolique préparé par décoction.

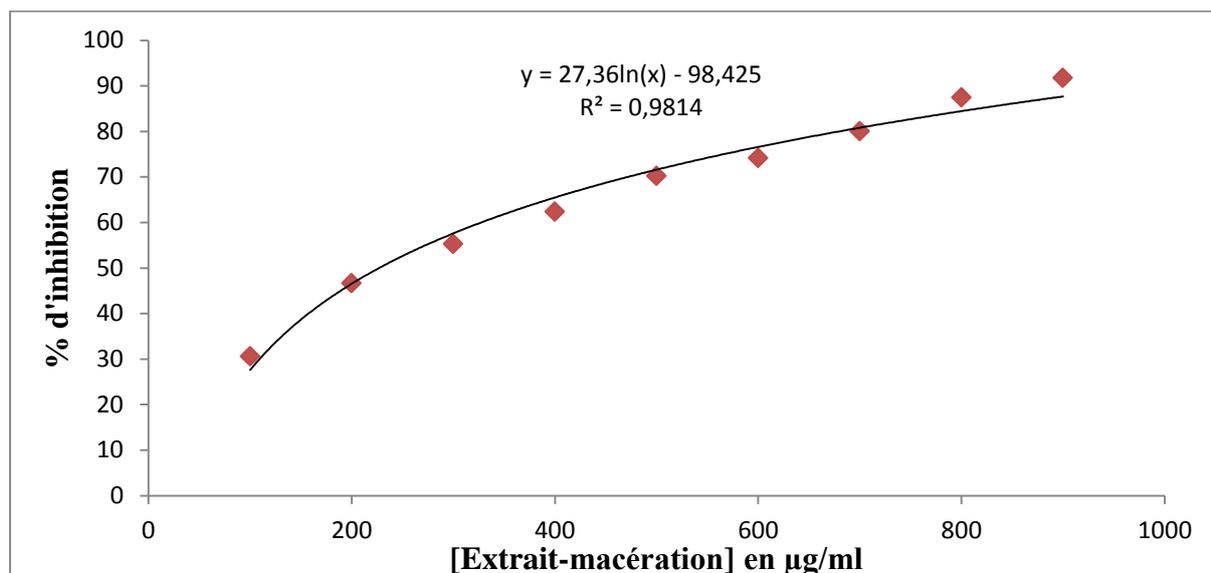


Figure 10 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations de l'extrait brut hydro-méthanolique préparé par macération.

Les résultats du pouvoir antioxydant obtenus pour différentes concentrations des extraits bruts hydro-méthanoliques préparés par macération et décoction de l'écorce de la cannelle de Ceylan, ont montré que le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH augmente en fonction de différentes concentrations des extraits.

Cependant, l'extrait brut hydro-méthanolique préparé par décoction montre un pourcentage d'inhibition plus élevé que celui préparé par macération. Pour une concentration 500 µg/ml, l'extrait préparé par décoction a atteint un pourcentage d'inhibition de 90 % (**Figure 11**). À cette même concentration, l'extrait préparé par macération a enregistré un pourcentage d'inhibition de 70% (**Figure 12**).

L'acide ascorbique a présenté la meilleure activité antiradicalaire par rapport aux extraits, où la concentration de 300 µg/ml a enregistré un pourcentage d'inhibition de 90% (**Figure 10**).

Singh et al., (2020), ont constaté que l'extrait méthanoliques de *C. zeylanicum* a montré l'activité de piégeage des radicaux libres la plus élevée parmi les différents extraits testés. A une concentration de 1000 µg/ml, cet extrait a enregistré une activité de 94,97±0,25%. Tandis que, à cette même concentration, l'extrait d'acétone et d'éthanol ont montré des valeurs de l'ordre de 92,32±0,69% et 87,33±0,42 %, respectivement.

Tableau 08 : Les CI50 des différents extraits de l'écorce de *Cinnamomum zeylanicum* obtenus par méthode de DPPH.

Plantes	Standard/Extraits	CI50 ($\mu\text{g/ml}$)
	Acide ascorbique	116,59
L'écorce de la cannelle de <i>Cinnamomun zeylanicum</i>	EBD-m	169,68
	EBM-m	189,59

EBM-m : Extrait brut macération- eau-méthanol ; **EBD-m** : Extrait brut décoction- eau-méthanol.

Le CI50 et l'activité antiradicalaire des extraits testés sont inversement proportionnelles (**Bentabet et al., 2014**).

D'après les résultats présentés dans le **tableau 08**, la meilleure capacité de piégeage du radical libre DPPH a été enregistrée avec l'extrait brut hydro-méthanolique préparé par décoction avec une valeur de CI50 de l'ordre de 169,68 $\mu\text{g/ml}$, comparativement à l'extrait préparé par macération, où nous avons enregistré une concentration de CI50 égale à 189,59 $\mu\text{g/ml}$.

De même, la CI50 obtenue pour l'acide ascorbique (116,59 $\mu\text{g/ml}$), utilisé comme référence, est légèrement inférieur à ceux des extraits préparés par décoction et macération.

Ces résultats confirment ceux obtenue par **Wijewardhana et al., 2019** qui ont noté que la cannelle peut être une source d'antioxydants naturels .

Une étude réalisée par **Sudan et al.,(2013)** , a montré que l'extrait de la cannelle de Ceylan présente une CI50 de l'ordre de 111,5 \pm 0,62 mg/ml.

Les travaux de **Priyanga et al., (2013)** ont constaté que l'écorce de la Cannelle de Ceylan s'est révélée puissant dans l'activité de piégeage des radicaux libres, notamment contre les radicaux libres DPPH.

Cependant, des composés végétaux majeurs tels que les polyphénols et les flavonoïdes pourraient être responsable de l'activité anti radicalaire observée (**Khalisyaseen et Taha ,2021**).

5.2. Le test de réduction du fer : FRAP (Ferric Reducing Antioxydant Power)

Le test de réduction du fer, également connu sous le nom de FRAP, est une méthode rapide, facile et reproductible utilisée pour évaluer la capacité des extraits à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}). (Bentabet et al.,2014).

Les valeurs des absorbances en fonction des différentes concentrations des extraits ou d'étalon ont permis de tracer des courbes de régressions linéaires (Figure 13, 14 et 15) et de calculer ainsi A0.5 (Tableau 09) à partir des équations des courbes correspondantes.

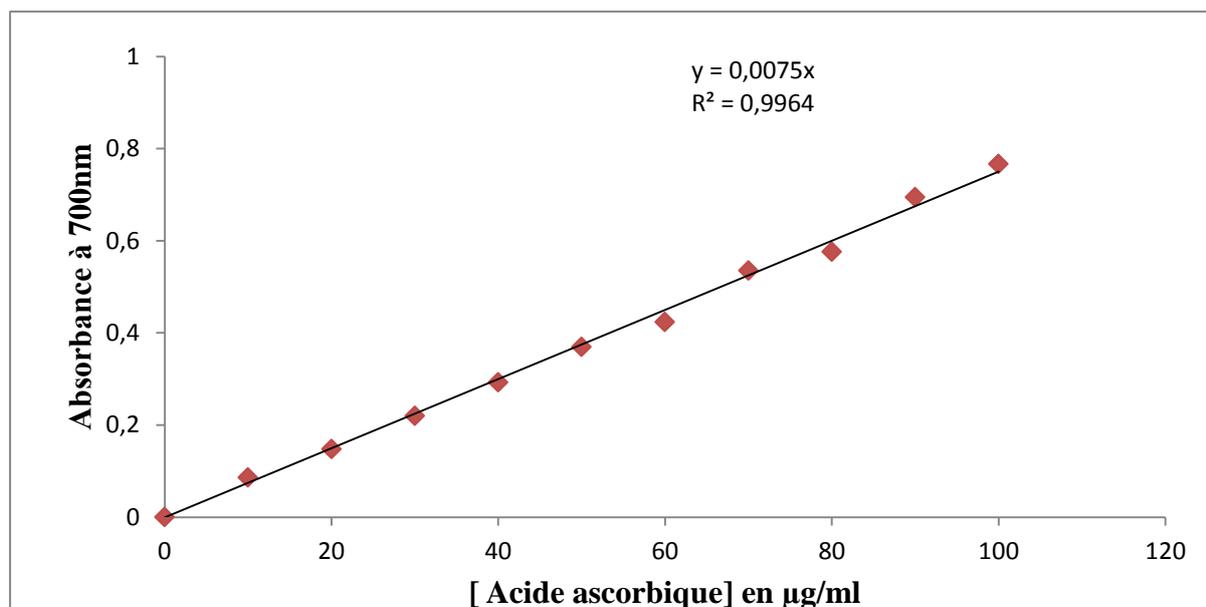


Figure 11: Pouvoir réducteur de fer en fonction des concentrations de l'acide ascorbique.

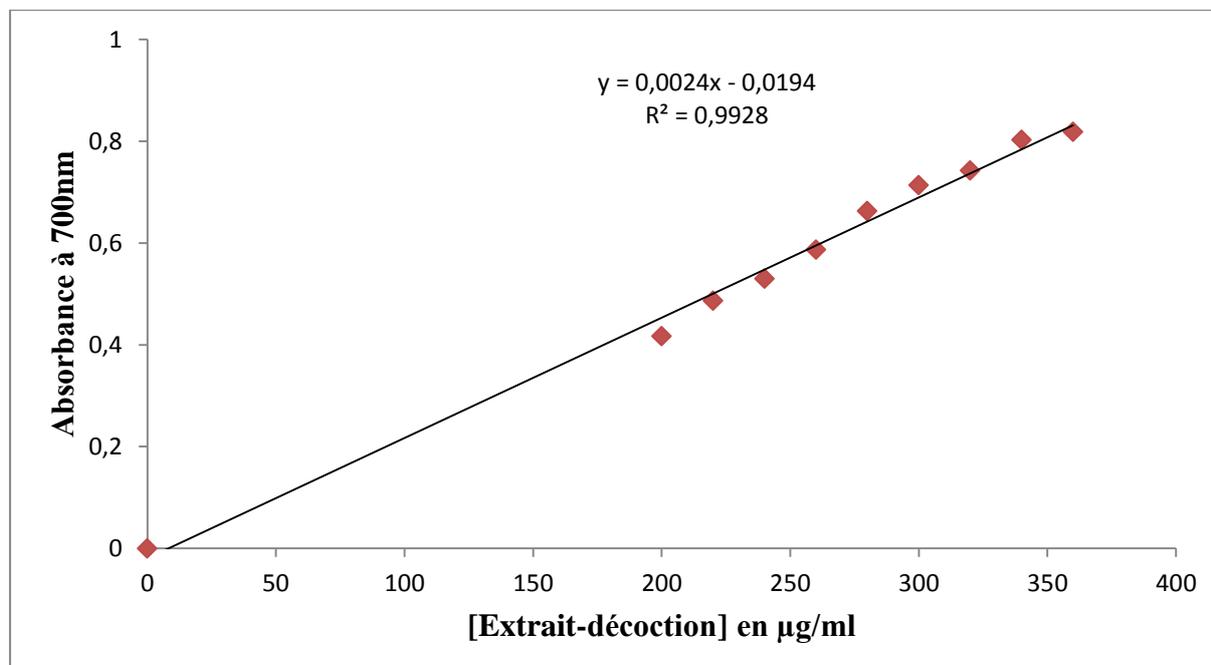


Figure 12 : Pouvoir réducteur de fer en fonction de différentes concentrations de l'extrait brut hydro-méthanolique préparé par décoction.

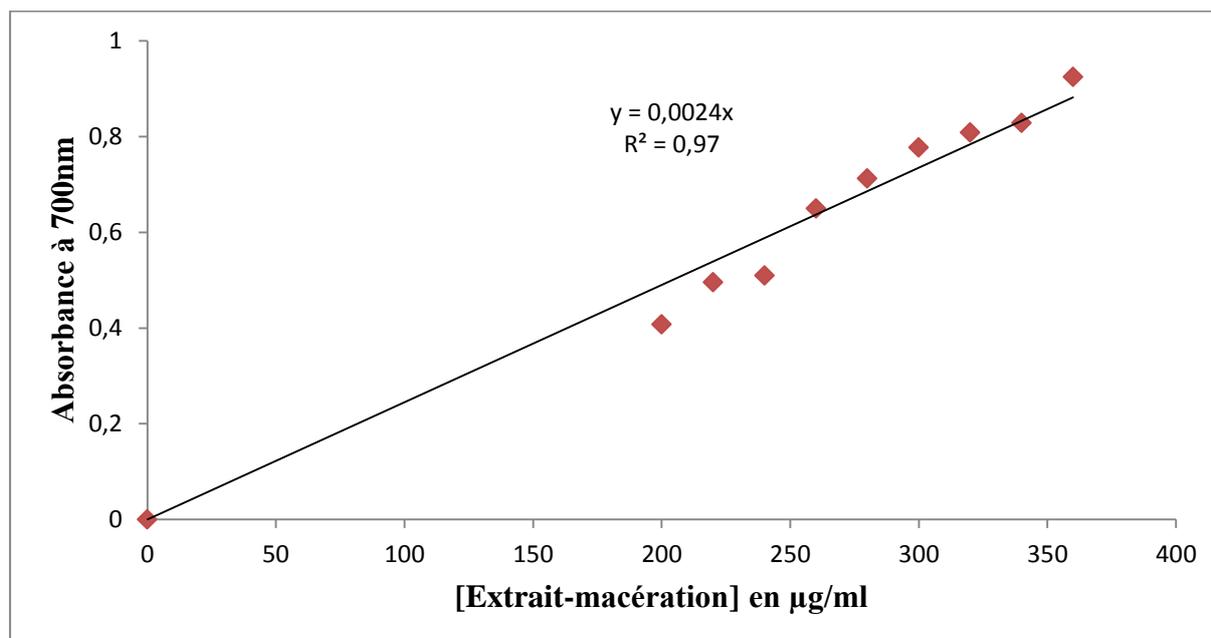


Figure 13 : Pouvoir réducteur en fonction de différentes concentrations de l'extrait brut hydro-méthanolique préparé par macération.

D'après les résultats trouvés, nous avons remarqué que la réduction de fer est proportionnelle avec les concentrations des extraits étudiés.

Tableau 09 : Les A0,5 (µg/ml) des différents extraits de l'écorce de la cannelle de *Ceylan* ainsi de l'acide ascorbique, obtenues par méthode de FRAP.

Plante	Standard/Extraits	A0,5 (µg/ml)
	Acide ascorbique	66,66
L'écorce de la cannelle de <i>Ceylan</i>	EBD-m	216,41
	EBM-m	208,33

EBM-m : Extrait brut macération- eau-méthanol ; **EBD-m :** Extrait brut décoction- eau-méthanol.

L'extrait brut hydro-méthanolique préparé par macération a montré un pouvoir réducteur de fer avec une A0,5 de l'ordre de 208,33 µg/ml, supérieur à celui de l'extrait brut hydro-méthanolique préparé par décoction, où nous avons enregistré une A0,5 égale à 216,41 µg/ml.

Ces résultats sont largement faibles par rapport au standard (acide ascorbique) d'où nous avons noté une A0,5 de l'ordre de 66,66 µg/ml.

Dans une étude portant sur l'écorce de cannelle Ceylan menée par **Abeysekera et al., (2013)**, deux méthodes d'extraction ont été comparées. L'extrait méthanolique préparé par macération a présenté un pouvoir réducteur de fer de $44,63 \pm 1.85$ mg FeSO₄ /g d'échantillon,

tandis que l'extrait éthanolique obtenu par la méthode de soxhlet, a révélé un pouvoir de $73,02 \pm 2,81$ mg FeSO₄ /g d'échantillon.

6. Séparations des colorants par méthodes chromatographiques

La toxicité avérée et les nuisances environnementales causés par les colorants synthétiques ont motivé les industries à se tourner vers les colorants naturels, notamment ceux issus des plantes (Shamsia et al., 2023).

Les plantes médicinales sont considérées comme capables pour produire une variété de pigments de couleur afin qu'ils puissent être utilisés comme colorant naturel (Getta et Sumathy, 2013).

Dans ce cadre, nous nous sommes intéressés à extraire le (s) colorant (s) naturel (s) de l'écorce de *Cinnamomum zeylanicum*. Pour ce faire, nous avons procédé à une première séparation de l'extrait brut hydro-acétonique préparé par macération par une chromatographie sur colonne, puis les fractions obtenues ont été examinées par chromatographie sur couche mince.

6.1. Chromatographie sur colonne

Les résultats de la séparation par chromatographie sur colonne sont présentés dans les photos 01 et 02.

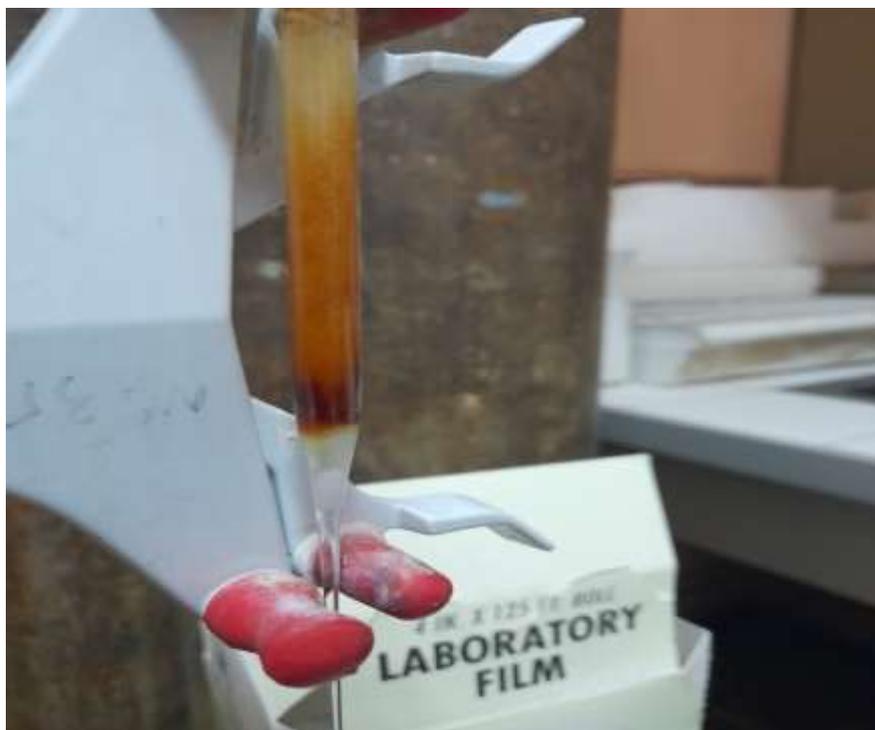


Photo 03 : Chromatographie sur colonne de l'extrait brut hydro-acétonique préparé par macération

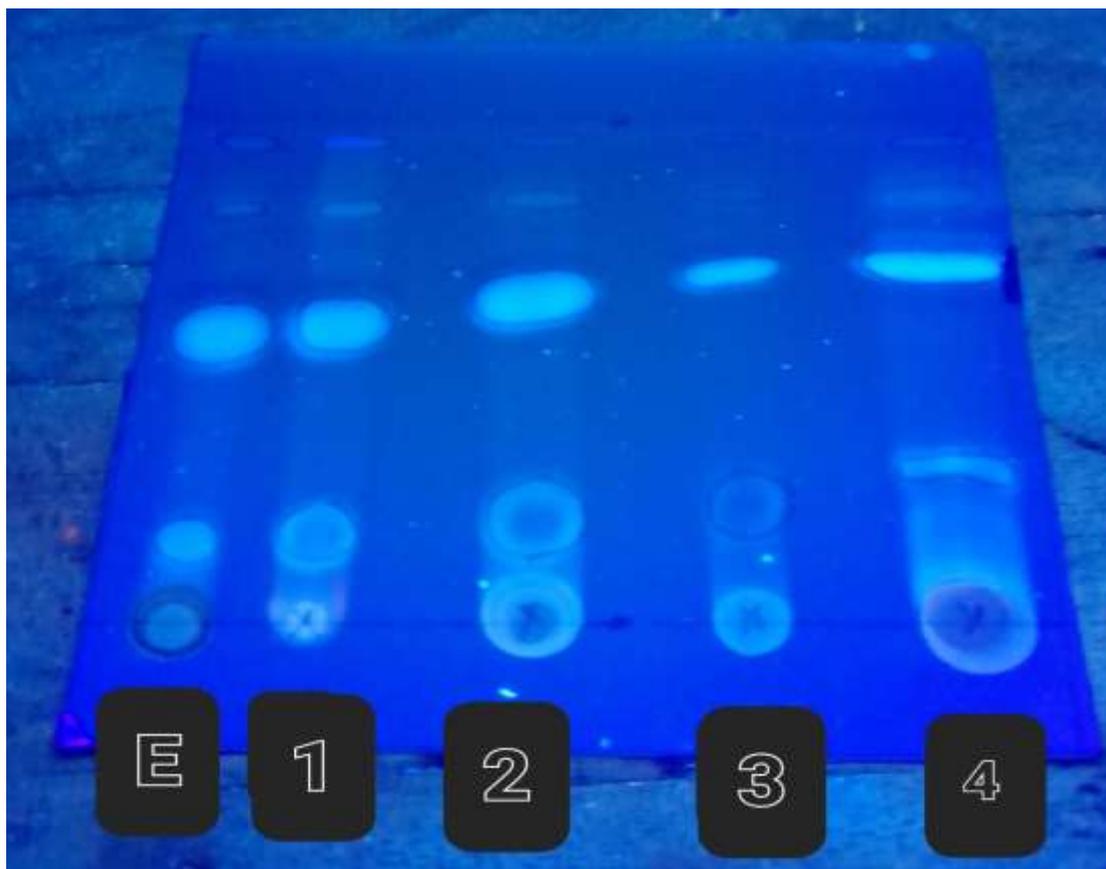


Photo 04 : Les tubes récupérés après séparation par chromatographie sur colonne.

La séparation de l'extrait brut hydro-acétonique, préparé par macération, par chromatographie sur une colonne de (10 cm) contenant le gel de silice (adsorbant) et le dichlorométhane (éluant) a permis de récupérer 4 tubes de différentes couleurs jaune, jaune claire et marron clair (**photo 01 et 02**)

6.2. Chromatographie sur couche mince (CCM)

Les résultats d'analyse par chromatographie sur couche mince des fractions obtenues par chromatographie sur colonne, ainsi que les valeurs des R_f de chaque fraction sont présentés dans la photo 03 et le tableau 10 respectivement.



E: extrait brut hydro-acétonique. **1**: la première fraction récupérée par chromatographie sur colonne. **2**: la deuxième fraction récupérée. **3**: la troisième fraction récupérée **4**: la dernière fraction récupérée.

Photo 05 : Chromatographie sur couche mince de l'extrait brut hydro-acétonique d'écorce de la cannelle de Ceylan après révélation sous l'UV avec le dichlorométhane.

Tableau 10 : Les valeurs des rapports frontaux de chaque tache obtenus de l'extrait brut-hydro-cétonique de la cannelle de Ceylan (*Cinnamomum zeylanicum*).

	Couleur de tube	Rf 1 (tache 1)	Rf 2 (tache 2)	Rf 3 (tache 3)	Rf 4 (tache 4)
Tube 1	Transparent	0,15	0,54	0,79	0,94
Tube 2	Jaune	0,17	0,58	0,81	0,94
Tube 3	Jaune clair	0,20	0,64	0,81	0,94
Tube 4	Marron clair	0,25	0,66	0,79	0,94

Résultats et Discussion

L'observation du chromatogramme obtenu sous UV après migration par CCM dans le dichlorométhane, a permis de souligner 4 taches pour chaque tube.

D'après les résultats illustrés dans la **photo 03** et le **tableau 10**, nous avons constaté que chaque tube contient plus ou moins quatre taches avec des Rf différents. Cependant, les taches numéro 2 dans tous les tubes (1, 2, 3,4) présente une forte fluorescente avec des RF égale à 0,54 ; 0,58 ; 0,64 et 0.66 cm respectivement.

De même, la présence de migration dans le dichlorométhane, nous a permis de constater les propriétés apolaires de molécules isolées.

Malheureusement, on n'a pas de résultats équivalents de ce test dans d'autres études qui pourront nous permettre d'évaluer correctement ces résultats.

Conclusion et Perspectives

Les hommes ont toujours eu recours aux plantes médicinales pour résoudre certains problèmes de santé.

Les épices sont considérées comme des éléments indispensables à la vie humaine et sont utilisés aux différents niveaux comme colorants, conservateurs grâce à leurs propriétés antioxydantes et des agents aromatisants.

La cannelle de Ceylan (*Cinnamomum zeylanicum*) est l'une des épices les plus anciennes et les plus savoureuses, utilisées dans le monde entier, non seulement dans la cuisine, mais aussi dans la médecine traditionnelle et moderne. Elle appartient au genre *Cinnamomun* de la famille des Lauracées.

Notre travail a pour objectif d'extraire le(s) colorant(s) naturel(s) de la cannelle par des méthodes chromatographiques (CCM, et colonne), de réaliser des tests phytochimiques et de doser les composés phénoliques sur des extraits bruts préparés de l'écorce de la cannelle de Ceylan (*C. zeylanicum*), ainsi que de rechercher leurs activités antioxydantes par le test de piégeage du radical libre (DPPH) et le test de réduction du fer (FRAP).

Les résultats obtenus nous ont permis de tirer les conclusions suivantes :

- ✓ Le meilleur rendement d'extraction de l'écorce de *Cinnamomum zeylanicum* est enregistré avec l'extrait brut hydro-méthanolique préparé par décoction de l'ordre de 6,05% ;
- ✓ L'analyse phytochimique qualitatif réalisée sur les différents extraits a montré la richesse de l'écorce de *Cinnamomum zeylanicum* en composés bioactifs, dont les flavonoïdes, les alcaloïdes, les tannins, les terpénoïdes, les quinones libres et les composés réducteurs ;
- ✓ L'analyse quantitatif des extraits, a montré des résultats importants pour le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes L'extrait brut hydro-méthanolique préparé par décoction est le plus riche en polyphénols totaux avec une teneur de $556,4 \pm 54 \mu\text{g EAG} / \text{mg ES}$. Tandis que, l'extrait brut hydro-méthanolique préparé par macération est le plus riche en flavonoïdes, avec une teneur de l'ordre de $174 \pm 3 \mu\text{g EC} / \text{mg ES}$.
- ✓ L'extrait brut hydro-méthanolique préparé par décoction a enregistré la meilleure capacité de piégeage du radical libre DPPH avec une valeur de CI50 de l'ordre de $169,68 \mu\text{g/ml}$. Alors que l'extrait brut hydro-méthanolique préparé par macération a montré le meilleur pouvoir réducteur du fer avec une A0,5 égale à $208,33 \mu\text{g/ml}$.

- ✓ La séparation de l'extrait hydro-acétonique par chromatographie sur colonne a permis de récupérer 4 tubes de différentes couleurs jaunes et marron. Chaque tube, après séparation sur couche mince, a présenté différentes taches dont deux sont fluorescentes.

Afin de compléter ce travail, d'autres études approfondies seront nécessaires et se résument dans les points suivants :

- ✓ Utiliser d'autres techniques d'extraction et utiliser d'autres solvants afin d'optimiser le rendement des extraits en composés bioactifs.
- ✓ Approfondir l'évaluation de l'activité antioxydante en utilisant d'autres tests tels que piégeage du radical ABTS (2,2'-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonate), CAT (capacité antioxydante totale), piégeage de l'anion super oxyde ...
- ✓ Tester différents solvants et systèmes chromatographiques pour améliorer la séparation et l'identification des composés présents dans l'extrait d'écorce de *Cinnamomum zeylanicum*.
- ✓ Identifier les principes actifs de cette plante par des méthodes de couplage chromatographiques et spectroscopie de masse.
- ✓ Augmenter les dimensions de la colonne utilisée lors de la chromatographie sur colonne.
- ✓ Etudier d'autres activités biologiques de l'écorce de *Cinnamomum zeylanicum* comme l'activité antidiabétique, antimicrobienne, anti-inflammatoire...

Références bibliographiques

Abdelaziz Merouane ., Noui Abdellah ., Medjahed Housseine ., Nedjari Benhadj Ali Kamel ., Saadi Abdelkader. (2014). Activité antioxydante des composés phénoliques d'huile d'olive extraite par méthode traditionnelle. *International Journal of Biological and Chemical Science* ,8 (4) : 1865 -1870.

Abeysekera .W.P.K.M., Premakumara .G.A.S., Ratnasooriya . (2013) .In vitro antioxidant properties of leaf and bark extract of Ceylon Cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) .*Tropical Agricultural Research*, 24(2):128-138.

Adjaoud S. (2018). Elimination d'un colorant anionique par adsorbant naturel. Mémoire de fin d'étude. Université Mouloud de TIZI-OUZOU.

Ankita Sanjay ., Sejal Tukaram Patel ., Rahul Batusing Lovhare ., Sunil Pandit Pawar. (2023). Skin whitening effect of ethanolic extract of *Cinnamomum zeylanicum* bark. *International Research Journal of Modernization in Engineering Technology and Science* , 5 (4).

Archana.A.Bele ., Anubha Khale .(2011). An over view on thin layer chromatography. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(2) :256-267.

Atoui Ali K., Mansouri Abdelhak ., Boskou George ., Kefalas Panagiotis. (2005). Tea and herbal infusions: their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chemistry*, 89(1) : 27-36.

Barbier C. (2016) . L'huile essentielle de cannelle de Ceylan (*Cinnamomun zeylanicum*). Faculté Pharmacie .Thèse doctorat. Université de Picardie jules verne.

Beloued A . (1998) . *Plants médicinales d'Algérie* , OPU , Alger , p277.

Bentabet. N., Boucherit-Otmania .Z ., Boucherit K. (2014). Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredolia aretioides* de la région de Béchar en Algérie. *Pharmacogenosie .Phytothérapie* . DO/10.1007/S10298-014-0834.

Bernard Darfour ., Asare Issac Kwabena ., Ofosu Daniel O ., G Achel Dnaiel ., Achoribo Elom S ., Agbenyegah Sandra . (2014). The effect of different drying methods on the phytochemicals and radical scavenging activity of Ceylon Cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) plants parts. *European Journal of Medicinal Plants* .4 (11) : 1324-1335.

Bruneton J . (1999). *Pharmacognosie, Plantes médicinales* , Ed . Lavoisier, Techniques et documentation , Paris, 405.

Chengaiyah B., Mallikarjuna Rao K., Mahesh Kumar K., Alagusundaram M., Madhusudhana Chetty C .(2010). Medicinal importance of natural dyes-a review. *International Journal of PharmTech Research* ,2 (1) : 144-154.

Cook N C ., Samman S . (1996). Flanoids-Chemistry, metabolism , cardioprotective and dietary sources . *Journal of Nutritional Biochemistry* , 7 : 66.

Dam De Silva ., Jeewanthi R.K.C ., Adhikari A.M.C., Wijayamunige W.B.C., Senarathne N.S.A., Weddagala W.M.T.B., Ekanayaka K.B.S.S.J., Jayasingh M.AE.K.(2023) .Comparative analysis of differences in chemical composition and Agro-Ecological Region-based antioxidant activity of true Cinnamon (*Cinnamomun zeylanicum*) leaves and bark from Sri Lanka (Ceylon) . *Journal of Food Technology and Preservation* 5(1) :138.

Dibong S D ., Mvogo Ottou P B ., Vandi D ., Nadjib R C ., Monkam Tchamaha F ., Mpondo M E . (2015) . Ethnobotanique des plantes médicinales anti hémorroïdaires des marchés et villages du Centre et du Littoral Cameroun . Journal of Applied Biosciences , 96 : 9072-9093.

Favier A. (2003). Le stress oxydant : intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité Chimique décembre ; numéro spécial « La chimie dans les sciences médicales : 103-9.

Geetha B ., Sumathy V . (2013). Extraction of naturel dyes from plants. International Journal of Chemistry and Pharmaceutical Sciences, 1(8) : 502-509.

Guindo M. (2019). Contribution à la détermination des éléments de contrôle de qualité botanique et phytochimique de 4 plantes du Mali, sources de colorants utilisés dans les formulations médicamenteuses. Thèse en vue d'obtenir le grade de docteur en pharmacie .Faculté de Pharmacie. République du Mali.

Gul Shumaila ., Safdar Mahpara . (2009) . Proximate composition and mineral analysis of Cinnamon Pakistan Journal of Nutrition, 8 (9) : 1456-1460.

Gulcin Ilhami ., Kaya Ruya ., Goren Ahmet C ., Akincioglu Hulya ., Topal Meryem ., Zeynebe B ., Cetin Kader C ., Sarikaya Sevin B O ., Durmaz Lokman ., Alwasel Saleh . (2019) . Anticholinergic antidiabetic and antioxidant activities of Cinnamon (*Cinnamomum verum*) Bark extracts: polyphenol contents analysis by LC-MS/MS. International Journal of Food properties , 22(1) : 1511-1526.

Haddi K ., Faroni L R ., Oliveira E E. (2017) . Cinnamon oil . In : Nollet L M and Singh Rathore, editor : Green Pesticides Handbook : Essential Oils for Pest Control : CRC Press : 117-150 .

Hama Hamadou Habibou ., Moussa Idrissa ., Ikhiri Khalid. (2019). Activité antioxydante des extraits méthanoliques de différents organes de *Detarium microcarpum* . European Scientific Journal, 15 (12) ; 1857-7881.

Harbone J B . (1998). Phytochimical methods: A guide to modern techniques of plant analysis , 3 éme Ed, Chapman and Hill ,p 303.

Hayward Nicholas J ., McDougall Gordon J ., Farag Sara ., Allwood William J ., Austin Ceri ., Campbell Fiona ., Horgan Grahan ., Ranawana Viren . (2019) . Cinnamon shows antidiabetic properties that are species-Specific : Effects on enzyme activity inhibition and starch digestion . Plants Foods Hum , 74 : 544-552.

Khalisyaseen Oras ., Taha Mustafa Mohammed . (2021). Identification of some antioxidant active compounds in true Cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) bark extracts. Natural volatiles et essential oils, 8 (4) : 7565-7577.

Lallemand H ., Pirot N ., Dornier M ., Reynes M . (2000) . La cannelle : historique, production et principales caractéristiques. International Society for Horticultural Science, 55 (6).

Li Cai . (2014) . Layer chromatography. Current protocols essential Laboratory Techniques 6.3.1-6.3.18.

Liyanarachchi C E ., Napagoda M ., Witharana S ., Jayasinghe J . (2020). Evaluation of photoprotective potential of sunscreen formulations prepared from *Leucas Zeylanica* (Gatathumba) extract . Proceedings of the 9th YSF Symposium.

Madhushika L T S ., Bulugahapitiya V P. (2022). Variation of bioactive secondary metabolites in Ceylon Cinnamon (*Cinnamomun zeylanicum* Blume) in different climatic conditions, maturity status and propagation types. *Journal of Agriculture and Value Addition*, 5 (1) : 61-84.

Marie-Pierre Arvy . (2003). *Epices, aromates et condiments*. Paris : édition Belin.

Matan N ., Rimkeeree H ., Mawson A J ., Chompreeda P ., Haruthaithanasan V ., Parker M . (2006) . Antimicrobial activity of Cinnamon and clove oils under modified atmosphere conditions . *International Journal of Food Microbiology* , 107 (2) : 180-185.

Mazimba Oftense ., Wale Kabo ., Kwape Tebogo E ., Mihigo Shetonde O ., Kokengo Bokolo M . (2015). *Cinnamomum verum* : Ethylacetate and methanol extracts antioxidant and antimicrobial activity. *Journal of Medicinal Plants Studies* , 3(3) : 28-32.

Moreno E K G ., de Macedo I Y L ., Batista E A ., Machado F B ., Santos G R ., Andrade D M L ., Rocha M L ., Lima N M ., Vaz B G .(2022) . Evaluation of antioxidant potential of commercial Cinnamon samples and its vasculature effects . *Oxidative Medecine and Cellular Longevity* , 23, <https://doi.org/10.1155/1992039>.

Muhammad Hamza Ashfaq ., Amna Siddique ., Sammia Shahid . (2021). Antioxidant activity of *Cinnamon zeylanicum*. *Asian Journal of Pharmaceutical Research* , 11 (2) : 106-116.

Nawaz A ., Ali T ., Naeem M ., Hussain F ., Li Z ., Nasir A . (2023). Biochemical, structural characterization and in-vitro evaluation of antioxidant, antibacterial, cytotoxic and antidiabetic activities of nanosuspensions of *Cinnamomun zeylanicum* bark extract. *Frontiers in Chemistry* , 11 : 287. Pmid: 37214484.

Ncube N S ., Afolayam A J ., Okah A I. (2008). Assessment techniques of antimicrobial properties of natural compounds of plant origin : current methods and future trends. *African Journal of Biotechnology*, 7 (12) : 1797-1806.

Paranagama P A ., Dayananda K R ., Hewage J W . (2020). *Chemistry and bioactive compounds of Cinnamomun zeylanicum* Blume in Cinnamon. Springer: Cham, Switzerland , pp : 251-271.

Parthasarathy V ., Chempakam B ., Zachariah J . (2008) . *Chemistry of spices* . Indian Institue of Spices Research Calicut – 673 012.

Pasupuleti Visweswara Rao ., Siew Hua Gan . (2014) . Cinnamon : A multifaceted medicinal plant. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* , ID 642942, 12 pages.

Priyanga R ., Shehami P ., Srimal P ., Priyadarshani G ., Godwin G ., Prasad K . (2013) . Medinal properties of true Cinnamon (*Cinnamomun zeylanicum*) : a systematic review. . *BMC Complementary and Alternatic Medicine*, 13 : 275.

Ragab Menna M ., Hassabo Ahmed G . (2021) . Various uses of natural plants extracts for functionalization textile based materials . *Journal of Textiles, Coloration and Polymer Science* ,18(2) : 143-158.

Rakotoarijaona F . (2010) . Contribution à l'étude de la composition chimique de l'huile essentielle d'écorce de cannelle (*Cinnamomum zeylanicum*) : variation intra arbre de la teneur en cinnamaldéhyde . Mémoire de fin d'études .Université d'Antananarivo.

Rani Priya N ., Venkatesan J ., Binilraj S S ., Sasidharan ., Padmakumri Amma K P . (2010). Antioxidant and cytotoxic potential of acetone and methanolic extracts of fresh and dry barks of *Cinnamomun zeylanicum verum* : In vitro study. Journal of Cell and Tissue Research, 10 (1) 2131-2138.

Rymbai H ., Sharma R.R ., Srivasta Manish . (2011). Biocolorants and its implications in health and food industry- A Review. International Journal of PharmTech Research, 3(4):2228-2244.

Shamsia P., Mahery A ., Christophe L ., Dijoux M ., Yanis C ., Thomas P . (2023). Criblage de la biodiversité des plantes tinctoriales de l'île de la Réunion pour des applications en coloration industrielle. CNRIUT, Saint-Pierre. Id: ha-04326670.

Sharma U K., Sharma A K., Pandey A K. (2016). Medicinal attributes of major phenylpropanoids present in Cinnamon. BMC Complement Altern Med, 16, 156, <https://doi.org/10.1186/s12906-016-1147-4>.

Sigurdson Gregory T., Peipei Tang ., Monica Giusti M . (2017). Natural colorants: Food colorants from natural sources. Annual Review of Food Science and Technology, 8: 261-280.

Singh Rasvin ., Parasuraman Subramani ., Kathiresan . (2020). Antioxidant and antidiabetic activities of methanol extract of bark of *Cinnamomun zeylanicum* in diabetic rats. Free Radicals and Antioxidants , 10 (1) : 16-23.

Sudan Rasleen ., Bhagat Madhulika ., Gupta Sahil ., Chittrarakha ., Devi Tishu . (2013) . Comparative analysis of cytotoxic and antioxidant potential of edible *Cinnamomum verum* (bark) and *Cinnamomum Tamala* (Indian bay leaf) . Free Radicals and Antioxidants, 3 , S70-S73 .

Sulekova M ., Smrcova M ., Hudak A ., Hezelova M ., Fedorova M . (2017). Organic colouring agents in the pharmaceutical industry . Folia Veterinaria ,61 (3) : 32-46.

Sung Jin Park ., Mi Hee Yu ., Ji Eum Kim ., Sam Pin Lee ., In Seon Lee . (2012). Comparaison of antioxidant and antimicrobial activities of supercritical fluid extracts and marc extracts from *Cinnamomum verum* . Journal of Life Science, 12(3) : 373-379.

Suriyagada Lalith ., Mohotti Anoma J ., Vidanarachchi Janak K ., Kodithuwakku Suranga P ., Chathurika Madushani ., Bandaranayake Pradeepa C G ., Hetherington Alistari M ., Beneragama Chalinda K . (2021) . Ceylon Cinnamon: Much more than just a spice . Plants People Planet , 3 : 319-336.

Susmita G., Tammay S ., Aprita D ., Runu C. (2022). Natural colorants from plant pigments and their encapsulation: An emerging window for the food industry. LWT- Food science and Technology 153, 112527.

Topcu Gulacti ., Goren Ahmet C. (2007). Biological activity of diterpenoids isolated from Anatolian Lamiaceae plants. Records of Natural Products , 1 (1), 1.

Trease G E ., Evans W C . (2002). Pharmacognosy . Phytochemicals, 15th Ed. Edinburgh, New York : WB Saunders, p 246-249, 391-393.

Vaibhavi J ., Rakesh P ., Pankaj K ., Neeraj P ., Sumil G ., Anupriya ., Sonu S . (2010). Cinnamon: A pharmacological review . Journal of Advanced Scientific Research , 1 (2) : 19-23.

Vermerius W ., Nicholson R . (2006). Isolation and identification of phenolic compounds . In: Phenolic Compound Biochemistry. Springer, Dordrecht, p 35-191.

Walimuni Prabhashini K M A ., Sirimal Premakumara G A ., Walimuni Kanchana S M A ., Wanigasekera Daya R ., Hela Medawattegedara U I M. (2019). Antioxidant and glycyemic regulatory properties potential of different maturity stages of leaf of Ceylon Cinnamon (*Cinnamomun zeylanicum* Blume) in vitro. Evidence-Based Complementary and Alternative Medecine, Article ID 2693795, p 10 .

Wijewardhana U S., Gunathilaka U G S ., Navaratne. (2019). Determination of total phenolic cotent radical scavenging activity and total antioxidant capacity of Cinnamon bark, black cumim seeds and garbic . International Research Journal of Advanced Enginnering and Science , 4(2) : 55-57.

Witold N., Sylvie H., Laure Raffaely V., Alain T. (2008). Stratégie analytique de l'identification des colorants naturels dans les objets du patrimoine. L'actualité chimique-avril-n°318.

Zhishen J., Mengcheng T., Jianming W. (1999).The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food Chemistry . 64, 555-559 .