

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DJILALI BOUNAAMA DE KHEMIS-MILIANA

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES

SCIENCES DE LA TERRE



MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique en

FILIERE: Biologie

Spécialité : physiologie cellulaire et physiopathologie

THÈME

Evaluation de l'activité antioxydante et antidiabétique des extraits d'azarolier (crataegus azarolus)

Présenté par :

- Bakhabou Wissal
- Khedda Rania
- Merzoug Mounira

Membre de Jury:

- **Promotrice:** Mme Laissaoui Aicha (Maître de conférences classe MCB; UDB)
- **Examinateur :** Mr Cheurfa M (Maître de conférences classe MCB; UDB)
- **Examinatrice :** Mme Bensehaila Sara (Maître de conférences classe MCB; UDB)

Année universitaire 2019/2020

Tables des matières

Remerciement

Dédicaces

Résumé en français, anglais et arabe

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction générale..... 1

Revue Bibliographique

Chapitre I : Le stress oxydant et le diabète 3

1 Stress oxydant 3

1.1 Définition..... 3

1.2 Effets sur l'organisme du stress oxydant..... 3

1.3 Cible ERO..... 4

1.4 Les radicaux libres 5

1.4.1 Origine RL..... 5

1.4.2 Les principaux radicaux libres 6

2 Les systèmes antioxydants 6

2.1 Définition..... 6

2.1.1 Le système antioxydant enzymatique 7

2.1.1.1 Superoxyde dismutase (SOD) 7

2.1.1.2 Les catalases et les glutathion peroxydases 7

2.1.2 Systèmes antioxydant non enzymatiques 7

2.2 Activité antioxydant 8

3 Le diabète..... 9

3.1 Définition..... 9

3.2	Types de diabète	9
3.2.1	Le diabète de type I (DT1)	9
3.2.1.1	Physiopathologie du diabète de type I.....	9
3.2.2	Le diabète de type II (DT2).....	10
3.2.2.1	Physiopathologie du diabète de type II.....	10
3.2.3	Autres types de diabètes	10
3.3	Les symptômes du diabète.....	10
3.4	Épidémiologie du diabète	11
3.4.1	Dans le monde.....	11
3.4.2	En Algérie	11
3.5	Complications du diabète	11
3.6	Les plantes médicinales et diabète.....	11
4	Diabète et stress oxydant	12
	Chapitre II : Généralité sur crataegus azarolus.....	14
1	Etymologie.....	14
2	Historique et origine	14
3	Caractères morphologiques.....	15
4	Classification botanique.....	15
5	L'habitat et répartition géographique	16
5.1	Habitat	16
5.2	Répartition :	16
5.2.1	Dans le monde.....	16
5.2.2	En l'Algérie	17
6	Culture :	18
7	Composition biochimique du fruit de <i>Crateagus Azarolus L</i> :.....	18
8	Différentes utilisations des fruits de <i>crateagus azarolus</i>	20
8.1	Usages alimentaires	20

8.2	Usages médicinal	20
8.3	Usages pharmacologique	20
9	Intérêt des biomolécules « Les activités biologique d’azerolier »	21
10	Marché de crataegus azarolus	21
	Chapitre III : La phytothérapie	22
1	Définition	22
2	Plantes médicinales	23
2.1	Les propriétés des plantes	23
3	Les éléments actifs des plantes médicinales	24
3.1	Métabolites primaires	24
3.2	Métabolites secondaires	24
3.2.1	Les Flavonoïdes	24
3.2.2	Tanins	25
3.2.3	Polyscharide	25
3.2.4	Phénol	25
3.2.5	Les Coumarines	26
3.2.6	Les Saponines	26
3.2.7	Les Alcaloïdes	27
4	Extrait des plantes médicinale	27
4.1	Les différents types d’extraits	27
4.1.1	L’extrait sec	27
4.1.2	L’extrait liquide	27
4.1.3	Les extraits standardisés	27
4.1.4	Les lyophilisats	27
5	Activités biologique des extraits de plantes médicinales	28
5.1	Activité antioxydant	28
5.1.1	Mécanisme d’action des antioxydants	29

5.1.2	Types des antioxydants	29
5.1.2.1	Antioxydants primaires.....	29
5.1.2.2	Antioxydants secondaires	29
5.2	Activitéanti-inflammatoire	29
5.3	Activité antidiabétique.....	29
5.4	Activités antimicrobienne et antivirale.....	30
5.4.1	Mécanisme d'action	31
5.5	Activité de système cardiovasculaire	31

Partie Expérimentale

Chapitre IV : Matériel Et Méthodes	32
1 Matériel utilisé	32
1.1 Matériel non biologique.....	32
1.1.1 Réactifs chimiques	32
1.2 Matériel biologique.....	33
1.2.1 Matériel animal	33
1.2.2 Matériel végétal.....	33
2 Méthodes.....	33
2.1 Séchage et broyage	33
2.1.1 Détermination de la matière sèche et de l'humidité.....	33
2.2 Préparation des extraits végétaux	34
2.2.1 Extraction par infusion a l'eau	34
2.2.2 Extraction par macération	34
2.3 Filtration et évaporation.....	34
2.4 Conservation de l'extrait	35
2.5 Rendement d'extraction.....	35
3 Etude in vitro.....	35
3.1 Les Analyses qualitatives	35

3.1.1	Recherche des polyphénols	35
3.1.2	Recherche des flavonoïdes	35
3.1.3	Recherche des tanins	36
3.1.4	Recherche des stérols et triterpènes	36
3.1.5	Recherche des saponines	36
3.1.6	Recherche des glycosides.....	36
3.1.7	Recherche des alcaloïdes.....	36
3.2	Les analyses quantitatives :	37
3.2.1	Dosage des polyphénols totaux (méthode de folin et ciocalteu).....	37
3.2.2	Dosage des flavonoïdes :.....	37
3.2.3	Chromatographie liquide a haute performance HPLC.....	39
3.3	Evaluation de l'activité antioxydant	40
4	Etude In Vivo.....	41
4.1	Evaluation de l'activité antidiabétique	41
4.1.1	Induction du diabète chez les souris par l'alloxane.....	41
4.1.2	Mode d'action de l'alloxane(ALX).....	41
4.1.3	Administration Des Extraits	42
4.1.4	Suivi Des Paramètres	42
4.1.4.1	Glycémie.....	43
4.1.4.2	Evolution Pondérale	43
4.1.5	Étude histopathologique	43

Travaux antérieurs

Chapitre V : Travaux antérieurs	46
1 Les analyses qualitatives	46
2 Les analyses quantitatives	48
2.1 Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes	48
2.2 Chromatographie liquide a haute performance HPLC	49
3 L'activité anti-oxydante	53
4 L'activité Antidiabétique	54
4.1 Discussion.....	55
4.1.1 glycémé	55
4.1.2 Poids corporel.....	55
4.1.3 L'étude histologique	55
Conclusion générale	56
Références Bibliographiques	58

Remerciement

Dieu merci.

Nous le louons et lui demandons aide et pardon,

Nous cherchons refuge auprès d'Allah contre le mal de nos âmes,

Et contre notre mal.

Personne ne sera induit en erreur par Dieu.

Celui qui s'égare ne sera pas guidé.

Et nous témoignons que rien n'est digne d'adoration si ce n'est Dieu Seul et sans partenaire et nous témoignons que Muhammad est son serviteur Son messager .

Au terme de ce travail , nos profondes gratitude va à notre promotrice **Al-Issaoui, Aicha**, pour l'honneur qu'elle nous a fait de nous encadrer, pour ses précieux conseils, ses orientations, sa disponibilité surtout pendant cette pandémie , son encouragement et la confiance qu'elle a mis en nous , dont nous garderons ses qualités profondément humaines comme exemple

Nous remercions également les enseignants de Biologie et surtout les enseignants de notre spécialité (pcp)

Et tous ceux qui ont contribué directement ou indirectement à

La réalisation de ce mémoire .

Merci tout le monde...

Dédicace

C'est avec l'aide et la grâce du Dieu que nous avons achevé ce modeste travail que je dédie :

A mon plus beau cadeau de la vie mes chers parents «MUSTAFA» et «REKIA»

Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que vous mérites pour tous

Les sacrifices que vous n'ont cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de vos sacrifices que vous avez consentis

À mes sœurs «NEDJADA, DOUA, RITADJ»

À mon unique frère «MOHAMMED ELHABIB»

À ma chérie " khedda Rania"

À oudali AJ, pour sa patience, son soutien

À Tous mes amis «MBARKA, DJAMILA, HOUDA, SOUAD, NYHAD»

À toute ma promo PCP et les Master 2 2020

A toute la famille Bakhabou et la famille Missoum.

Je dédie ce modeste travail à toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Wissal

Dédicace

Je remercie en premier lieu, le bon Dieu, tout puissant, pour m'avoir donné la santé, la force et le courage nécessaires pour réaliser ce modeste travail

Avec ma gratitude et grand amour, je dédie ce travail :

A mes chers parents qui ont toujours été présents pour me soutenir, veiller à mon éducation et m'encourager à bien travailler dans tous ce que j'entreprends et plus particulièrement dans mes études. Je leurs suis très reconnaissante. Leur fierté à mon égard aujourd'hui est pour moi la meilleure des récompenses.

A Ma chère grand- mère et mon cher grand-père, à qui je témoigne toute mon affection que Dieu les protège et les garde en bonne santé inch Allah.

A Ma chère grand-mère paternelle que Dieu garde en bonne santé

A ma unique sœur : Douaa, tu es ma moitié

A mon frère : Anes

A ma tante maternelle : Meriem et ses filles Maissam et Noursin

A la mémoire de ma tante paternelle Fouzia que la clémence de Dieu soit sur elle

A mes ami(es) : Sadouki Malak , khial Ikram et Wissal Bakhabou

Merci à Tous ceux qui ont participé de loin ou de près à la réalisation de ce mémoire

Rania...

Dédicace

Merci mon Dieu de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout de ce mémoire et la chance d'avoir des bons conditionnements de travail

A mes parents, symbole de sacrifice, de tendresse et d'amour, Vous avez comblés ma vie de tendresse d'affection et de compréhension. Rien au monde ne pourrait compenser les efforts et les sacrifices que vous avez consentis pour mon bien être, et la poursuite de mes études dans de bonnes conditions

Aucune dédicace, ne saurait exprimer à sa juste valeur le profond amour que je vous porte. Puisse Dieu, vous procure santé, bonheur et longue vie

A ma chère sœur ,son mari et ses enfants ; Layan Watin; Barae ; Zaid , je vous remercie pour la bonne ambiance qui a joué un grand rôle dans l'aboutissement de ce mémoire. Merci beaucoup pour votre gentillesse, bonne humeur et la chaleur familiale avec laquelle vous m'avez entouré, que Dieu vous garde et vous protèges.

A mes chers frères, Abdellah, Walid, Ahmed et Mohamed Amin ; Je ne sais pas comment vous remercier pour tout ce que vous avez fait pour moi. Je vous souhaite que le meilleur des meilleurs.

À ma chère grand-mère Awali et à mon cher grand-père Meliani, et tous les membres de la famille Merzoug et de la famille Hadj Maliani :des oncles et tantes et leurs fils et filles.

A tous les amis, et toutes personnes qui me sont chères, je me rappellerai toujours de tous les bons moments que nous avons partagé ensemble et qui resteront gravé dans ma mémoire.

MOUNIRA

Résumé

Crataegus azarolus est une plante très répandue dans l'Est Algérien. Elle appartient à la famille des *Rosacées* et est traditionnellement utilisée dans les pays arabes pour le traitement du diabète. c'est un fruit ayant des propriétés biologiques importante y'a compris activité antidiabétique et antioxydante .

A travers de notre recherche bibliographique ; après macération des parties aériennes de la plante *crataegus azarolus* dans une solution méthanolique, et aqueux, deux extraits sont obtenus : méthanoïque et aqueux. L'analyse quantitative des extraits du feuilles de *crataegus azarolus l* est représentée par le dosage spectral des substances bioactives (les polyphénols, les flavonoïdes) et a montré sa richesse en ces deux molécules bioactives.

Les extraits sont séparés en utilisant les méthodes de la chromatographie en phase liquide a haute performance pour aboutir des produits purs. Les composés phénoliques qui sont déterminés par (HPLC) sont les Polyphénols totaux, les flavonoïdes, les acide ascorbique, β carotène, tanins condensés ont une activité antioxydante déterminée par DPPH. Une étude phytochimique de l'extrait de plante a révélé la présence de certains principes actifs tels que les flavonoïdes, tripterpènes, saponosides et tanins qui pourraient être à l'origine de l'effet antidiabétique. On constate également l'absence d'alcaloïdes.

L'activité antidiabétique des extraits a été illustrée chez les rats diabétiques traités par gavage gastrique pendant 21 jours .le traitement a commencé 72 heures après injection de l'alloxane et confirmation de l'hyperglycémie chez les animaux, pour évaluer plusieurs paramètres physiologiques comme l'effet hypoglycémiant , pondérale et l'étude histopathologique. Les résultats de cette expérience s'avèrent que l'extrait des feuilles ayant une activité antidiabétique remarquable à la dose 150 mg /kg de l'extrait aqueux .

Mots Clés : *crataegus azarolus L*, extraits, alloxane, antioxydant et antidiabétiques, flavonoïdes, DPPH, HPLC.

Abstract

Crataegus azarolus is a very widespread plant in East Algeria. It belongs to the *Rosaceae* family and is traditionally used in Arab countries for the treatment of diabetes; it is a fruit with antioxidant, anti-diabetic properties.

Through our bibliographic research; after maceration of the aerial parts of the *crataegus azarolus* plant in a methanolic and aqueous solution, two extracts are obtained: methanoic and aqueous.

The quantitative analysis of extracts from the leaves of *crataegus azarolus* 1 is represented by the spectral assay of bioactive substances: polyphenols, flavonoids.

The extracts are separated using the methods of high performance liquid chromatography to finally give pure product Phenolic compounds which are determined by (HPLC). Total polyphenols, flavonoids, ascorbic acid, β -carotene, condensed tannins have an antioxidant activity determined by DPPH.

A phytochemical study of the plant extract revealed the presence of certain active ingredients such as flavonoids, tripterpenes, saponosides and tannins which could be at the origin of the anti-diabetic effect. There is also the absence of alkaloids, substances known to be toxic.

The anti-diabetic activity of the extracts was illustrated in diabetic rats treated by gastric gavage for 21 days. Treatment started 72 hours after injection of alloxan and confirmation of hyperglycemia in the animals, to evaluate several physiological parameters such as 'hypoglycemic and weight effect in addition to histopathological study .. the results of this experiment prove that the extract of the leaves having antidiabetic activity at a dose of 150 mg / kg.

Keywords: *crataegus azarolus* L, extracts, alloxan, antioxidant and antidiabetics, flavonoids, DPPH, HPLC.

ملخص

Crataegus azarolus هو نبات واسع الانتشار في شرق الجزائر. ينتمي إلى عائلة الوردية ويستخدم تقليدياً في الدول العربية لعلاج مرض السكري ؛ وهو عبارة عن فاكهة ذات خصائص مضادة للأكسدة ومضادة للسكري.

من خلال أبحاثنا الببليوغرافية. بعد نقع الأجزاء الهوائية من نبات *crataegus azarolus* في محلول ميثانولي ومائي يتم الحصول على مستخلصين: الميثانولي والمائي

يتم تمثيل التحليل الكمي لمقتطفات من أوراق *crataegus azarolus* 1 بالمقاييس الطيفية للمواد النشطة بيولوجياً: البوليفينول ، الفلافونويد. يتم فصل المقتطفات باستخدام طرق الكروماتوجرافيا السائلة عالية الأداء لإعطاء منتجات نقية في النهاية مركبات الفينول التي يتم تحديدها بواسطة (HPLC).

إجمالي البوليفينول ، الفلافونويد ، حمض الأسكوربيك ، كاروتين ، التانينات المكثفة لها نشاط مضاد للأكسدة يحدده DPPH. كشفت دراسة كيميائية نباتية للمستخلص النباتي عن وجود بعض المكونات النشطة مثل مركبات الفلافونويد والثالثرين والصابونوزيدات والعفص والتي يمكن أن تكون مصدر التأثير المضاد لمرض السكري. هناك أيضاً عدم وجود قلويدات ، وهي مواد معروفة بأنها سامة.

تم توضيح النشاط المضاد لمرض السكري للمستخلصات في الجرذان المصابة بداء السكري والتي عولجت بالتزقيم المعدي لمدة 21 يوماً ، وبدأت المعالجة بعد 72 ساعة من حقن الألوكسان وتأكيد ارتفاع السكر في الدم في الحيوانات ، لتقييم العديد من العوامل الفسيولوجية مثل "تأثير نقص السكر في الدم والوزن بالإضافة إلى دراسة الأنسجة المرضية .. نتائج هذه التجربة أثبتت أن مستخلص الأوراق له نشاط مضاد لمرض السكر بجرعة 150 مجم / كجم.

الكلمات المفتاحية : *Crataegus azarolus* L , المستخلصات , الألوكسان , مضادات الأكسدة ومضادات السكر ,

الفلافونويد , HPLC , DPPH

Liste des tableaux

Tableau 01	Les principaux radicaux libres du stress oxydant (Yosri, 2016)	P 06
Tableau 02	La composition biochimique de la partie comestible de <i>Crataegus azarolus L</i> (Koyuncu et al, 2007)	P 19
Tableau 03	Les différentes formes galéniques de phytothérapie (Limonier, 2018)	P 22
Tableau 04	Les principaux antioxydants non enzymatiques et sources alimentaires associées (Abudunia, 2018)	P28
Tableau 05	Désignation des lots et la dose administrée	P 43
Tableau 06	les résultats des analyses phytochimiques des extraits méthanoliques et aqueux des feuilles de <i>Crataegus Azarolus</i> (Kallassy et al., 2017)	P 46
Tableau 07	les résultats des analyses phytochimiques de extrait méthanolique des feuilles de <i>Crataegus Azarolus</i> (Lakache et al., 2016)	P 47
Tableau 08	les résultats des dosages des Phénols totaux, Flavonoïdes et tanins des différents extraits methanolique des feuilles de <i>Crataegus Azarolus</i>	P 48
Tableau 09	les résultats des résultats de HPLC (Belkhir et al.,2013)	P 50
Tableau 10	les résultats des résultats de HPLC $\lambda = 280$ nm (Abu-Gharbieh et al,2017)	P 51
Tableau 11	les résultats des résultats de HPLC $\lambda = 330$ nm(Abu-Gharbieh et all,2017)	P 52
Tableau 12	les résultats de activité de piégeage des radicaux libres de différents extraits de <i>C.azarolus</i> en pakistan(Al Mustafa et al., 2008).	P 53
Tableau 13	les résultats de activité de piégeage des radicaux libres de différents extraits de <i>C.azarolus</i> en algérien(Bouaziz et al., 2014).	P 53
Tableau 14	Effet de l'extrait aqueux de <i>Crataegus azarolus</i> sur les rats diabétiques (Zidi ,2010)	P 54

Liste des figures

Figure 01	stress oxydatif (Burg, 2016)	P 03
Figure 02	Les différentes cibles des Espèces Réactives de l'Oxygène (Poisson, 2013)	P 04
Figure 03	les sources des radicaux libres (www.namassté.fr)	P 05
Figure 04	Les anti-oxydants (Poisson, 2013)	P 08
Figure 05	Photographie de différentes parties de l'espèce <i>Crataegus Azarolus</i> (Zidi, 2010 ;Boudraa, 2019)	P 15
Figure 06	Répartition géographique de <i>Crataegus azarolus</i> (Boudjada, 2018)	P17
Figure 07	Aire de répartition du « <i>Crataegus azarolus L</i> » en Algérie (Boudjada, 2018)	P 18
Figure 08	Structure générale d'un flavonoïde (Balasundram et al., 2006)	P 24
Figure 09	Structure générale d'un tanin (Pasdeloup grenez,2019)	P 25
Figure 10	Structure générale d'un polysaccharide (Pasdeloup grenez,2019)	P 25
Figure 11	Structure générale d'un phénol (Pasdeloup grenez,2019)	P 26
Figure 12	Mécanisme de l'interaction du chlorure d'aluminium avec les flavonoïdes (Mezahem, 2015)	P 38
Figure 13	Schéma principal de la chromatographie en phase liquide à haute performance. (HPLC) (Penchev, 2010)	P 39
Figure 14	Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH•(Talbi et al.,2015)	P 40
Figure 15	Structure chimique de l'alloxane (Medjdoub, 2013)	P 42

Liste des abréviations

ADN : L'acide désoxyribonucléique

AlCl₃ : trichlorure d'aluminium

CAT : catalase

Cu/ZnSOD : Superoxyde dismutase cytoplasmique

DPPH : 2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl

DT1 : diabète de type I

DT2 : diabète de type II

EPS : extrait fluide de plante standardisé

ERO : Espèces Réactives de l'Oxygène

FeCl₃ : chlorure ferrique

GSH-PX : glutathion peroxydases

H : hydrogène

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène

HAT : transférer les atomes d'hydrogène

HCl : acide chlorhydrique

HIV : virus de l'immunodéficience humaine

HPLC : Chromatographie liquide à haute performance

LADA : Latent Autoimmune Diabetes in Adults

LDL : lipoprotéines de basse densité

LOX : lipoxygénase

MnSOD : Superoxyde dismutasemitochondriale

MODY : Maturity Onset Diabetes Of the Young

NADPH : nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

NO° : Monoxyde d'azote

O2. : peroxyde

O2•- : superoxydes

OH. : hydroxyl

OMS :L'Organisation mondiale de la Santé

ONOO : Peroxynitrite

PHGPx : phospholipide-hydroperoxyde glutathion peroxydase

RL : radical libre

SeCys : séléno-cystéine

SET : transfert d'électrons uniques

SIDA : syndrome d'immunodeficienciaacquise

SIPF : suspension intégrale de plante fraiche

SOD : Superoxyde dismutase

SOD : superoxydedismutase

UV : rayonnement *ultraviolet*

Introduction générale

Depuis l'antiquité les plantes médicinales constituent un potentiel médical accessible, disponible et à moindre coût. Elles sont devenues par la suite une source principale de la découverte de nouveaux principes actifs, déjà environ 170000 molécules bioactives ont été identifiées à partir de plantes(**Boudjada,2018**).

De nos jours, le traitement à base de plantes est reconnu pour sa facilité d'utilisation et son efficacité, et sa tendance de plus en plus à se développer pour rechercher des molécules actives d'origine naturelle à causes des effets indésirables des produits chimiques synthétiques (**Ghnimi,2015**).

La phytothérapie est l'art d'utiliser les plantes pour se soigner. il s'agit donc d'une thérapeutique allopathique (c'est-à-dire soigner par des substances qui ont l'effet inverse à la pathologie dont la souffrance de patient) destinée à prévenir et à traiter des troubles fonctionnels et des états pathologiques bénins par des plantes médicinales dénuées de toxicité dans les conditions normales d'utilisation. C'est une thérapeutique inspirée de la médecine traditionnelle basée sur un savoir empirique enrichi au fil des générations(**Limonier,2018**).

Selon l'OMS, 80% de la population mondiale a recours aux plantes pour se soigner, ceci sous plusieurs formes : plantes séchées ou pas (tisanes) ou préparations immédiatement dérivées (poudres, teintures, extraits...)(**Toure,2015**).

L'Algérie possède une flore végétale riche et diversifiée. Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal, se trouve L'azerolier« *Crataegus azarolus L* ». L'azérolier est localisé surtout dans le Tell Algéro-Constantinois, d'une façon spontanée en forme de forêts assez rares et parfois planté en haies ou en clôture dans les jardins en zone rurales (**Lakach,2015**)

Cette plante est largement utilisée dans la médecine traditionnelle comme bon remède pour les douleurs des appareils digestif et urinaire. Elle régularise les rythmes cardiaques, la circulation sanguine, l'hypertension artérielle et calme le système nerveux. D'ailleurs , elle possède plusieurs activités thérapeutiques : antispasmodique, astringente, diurétique, fébrifuge, hypotensive et sédative (**Hadjira et al.,2011**)

Le stress oxydatif est impliqué dans de très nombreux mécanismes pathologiques, notamment ceux dus au vieillissement, tels que l'athérosclérose, le cancer, les maladies auto-

immunes, les maladies de *Parkinson* ou encore d'*Alzheimer* et le diabète de type 2 (Toure,2015).

La recherche sur les antioxydants dans les plantes s'est beaucoup développée ces dernières années, afin de permettre de trouver les meilleurs antioxydants possibles dans l'espoir de protéger notre santé et même guérir ces différentes maladies (Guillouty,2013).

Le diabète est l'une des plus anciennes maladies connues de l'humanité dont l'effet dévastateur augmente de jour en jour et gravement à un niveau épidémique. Cette pathologie est considérée aujourd'hui comme le mal du siècle. Cette maladie métabolique chronique, liée aux changements de mode de vie et les habitudes alimentaires de ces 30 dernières années, voit en effet son incidence croître de manière exponentielle et touche désormais plus de 350 millions de personnes à travers le monde (Alexis Guerin,2014).

Donc notre travail consiste à répondre à la question suivante: "est ce que les extraits (aqueux, méthanolique et hydro-méthanolique) des feuillettes du *Crataegus azarolus* L peuvent provoquer **l'activité antioxydant et antidiabétique ?**

Notre étude consiste à l'évaluation de l'activité antioxydant et antidiabétique des l'extraits de la plante L'azerolier « *Crataegus azarolus*L », espèce de la famille des Rosacées. Elle comporte deux parties :

- La première partie se compose une étude bibliographique avec trois chapitres :
 - Le stress oxydant et le diabète
 - Présentation de la plante étudiée
 - La phytothérapie
- La deuxième partie présente les matériel et les méthodes d'extraction des composés Phénoliques qui utilisés dans ce mémoire . Et l'évaluation de leurs activités antioxydants et antidiabétique.
- La troisième partie présente les travaux antérieurs, il s'agit des comparaisons entre des résultats relatifs à notre thème de mémoire. Les points que nous avons les abordé :
 - Les analyses qualitatives et quantitatives
 - Les activités antioxydante et antidiabétique .

Revue
Bibliographique

Chapitre

I

Le stress

oxydant

Chapitre I : Le stress oxydant et le diabète

1 Stress oxydant

1.1 Définition

Les Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO) sont présentes dans la cellule à des doses raisonnables; leur concentration est régulée par l'équilibre entre leur taux de production et leur taux d'élimination par les systèmes antioxydants (Migdal & Serres, 2011). Lorsque cet équilibre est défavorable, il entraîne un stress oxydatif (figure 01).



Figure 01 : stress oxydatif (Burg, 2016)

Le stress oxydant se définit par un déséquilibre profond entre les antioxydants et les pro-oxydants (Yosri, 2016), Ce déséquilibre provient, soit d'une production exagérée d'agents oxydants (radicaux libres et ERO), soit d'une altération des mécanismes de défense cependant comme dans tout phénomène important, un dérèglement dans ces réactions d'oxydations peut créer un dysfonctionnement au niveau des cellules (Baraka, 2014).

1.2 Effets sur l'organisme du stress oxydant

Les Espèces Réactives de l'Oxygène réagissent avec de nombreuses molécules (Guillouty, 2016), ce qui entraîne certaines modifications de ces dernière set l'apparition des dégâts souvent irréversibles pour les cellules tel que l'oxydation des sucres et des protéines, peroxydation des lipides et mutations génétiques (Gutteridge & Halliwell,

1993), provoquant ainsi un dysfonctionnement dans les activités vitales des cellules à l'origine du développement de diverses pathologies (Koechlin, 2006).

1.3 Cible ERO

La production de ces espèces pro-oxydantes est normale à une faible concentration ,où elle s'accompagne d'un rôle physiologique important , comme la contribution à la synthèse de l'ADN, des hormones stéroïdes, et des acides biliaires... (Massart, 2011);mais aussi l'implication dans des nombreux processus pathologiques à une concentration élevée , leurs effets dans certains stimulation pathologiques endogènes (hyper-LDLémie, hypertension, diabète...) ou exogènes (polluants environnementaux, tabagisme...)(figure 02) (Belkheiri, 2010).

Le rôle prépondérant aux espèces réactives de l'oxygène est la provocation des attaques des cibles molécules cellulaires (Bonfont, 2007), parmi lesquelles l'ADN, les protéines, les lipides, les acide-aminés, les sucres et les métaux induisant des dommages oxydatifs moléculaires. Ils agissent selon trois modes d'actions : en arrachant soit un électron, soit un atome d'hydrogène ou encore en s'additionnant sur les doubles liaisons (Zerargui, 2015).

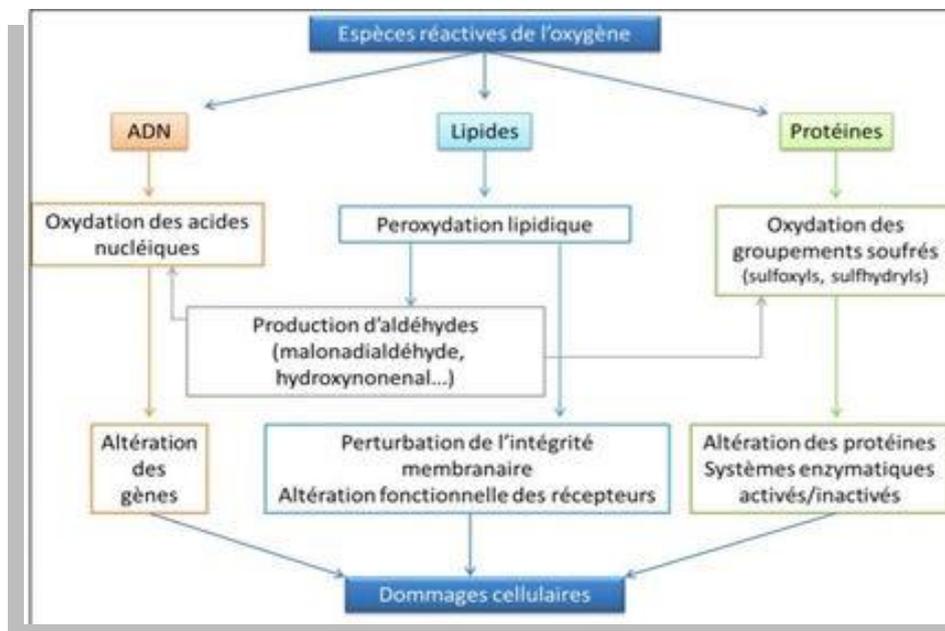


Figure 02 : Les différentes cibles des Espèces Réactives de l'Oxygène (Poisson, 2013)

1.4 Les radicaux libres

Un radical libre (RL) est une entité chimique (atome, molécule, fragment de molécule) capable d'exister sous forme indépendante, contenant au moins un électron libre sur sa couche externe, ce qui augmente considérablement sa réactivité par nécessité de se combiner avec un autre électron pour atteindre la stabilité selon un phénomène d'oxydation (Massart, 2011).

Les radicaux libres peuvent être formés par trois procédés :

1. Addition d'un électron libre à un non radical ($\text{NR} + e \rightarrow \text{R}^\cdot$)
2. Perte d'un électron par un non radical ($\text{NR} - e \rightarrow \text{R}^\cdot$)
3. Scission homolytique d'une liaison covalente ($\text{A}:\text{B} \rightarrow \text{A}^\cdot + \text{B}^\cdot$) (Massart, 2011)

1.4.1 Origine RL

Les mitochondries sont le siège d'une importante production physiologique d'ERO ; en effet, au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale, environ 2% de l'oxygène est transformé en radicaux superoxydes ($\text{O}_2^{\cdot-}$) (Bonfont, 2007).

Les autres sources de production de radicaux libres sont classées en deux catégories :

- les sources endogènes : les radicaux libres sont des produits des réactions de l'organisme (Production de radicaux libres lors des respirations, oxydatives (mitochondries), Cellules phagocytaires Métabolisme de l'acide arachidonique...)
- les sources exogènes : les êtres vivants sont exposés quotidiennement à des polluants (fumée de cigarette, rayons ultraviolets, radiations...)(Figure 03) (Pastre, 2005).

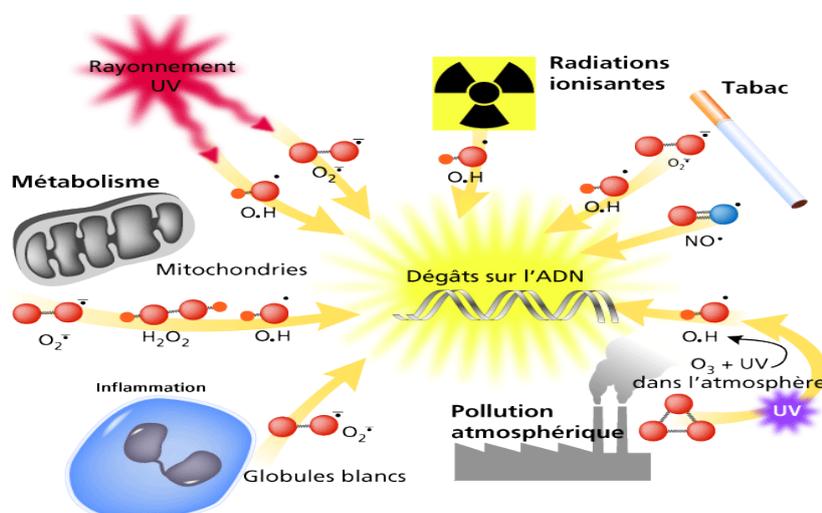


Figure 03 : les sources des radicaux libres (www.namassté.fr)

1.4.2 Les principaux radicaux libres

Les principaux radicaux libres sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 01: les principaux radicaux libres du stress oxydant (Yosri, 2016)

Radical superoxyde	O ₂ ·-
Radical hydroxyl	OH·
Radical peroxyde , R= substrat organique	RO ₂ ·
Radical Peroxynitrite	ONOO·
Peroxyde d'hydrogène	H ₂ O ₂
Monoxyde d'azote	NO°

2 Les systèmes antioxydants

2.1 Définition

Pour se protéger contre toute production excessive en espèces radicalaires, notre organisme est équipé d'un système complexe de défense antioxydant, localisé dans les compartiments intra et extracellulaire (Yosri, 2016).

Ils sont des agents qui réagissent facilement avec les substances oxydantes pour les inactiver et les éliminer, ou diminuer leur production. Ils sont des apports alimentaires (vitamines, sels minéraux, flavonoïdes,...) qui fournissent des antioxydants exogènes et d'antioxydants endogène qui sont produits par l'organisme (enzymes, protéines, bilirubine, acide urique,...) (Massart, 2011).

Les antioxydants sont définis selon Halliwell, 1999 ; Braz, 2019 comme toutes substances qui, lorsqu'elles sont présentes même à de faibles concentrations, retardent ou inhibent de manière significative les processus d'oxydation chez les êtres vivants. Cela se produit en raison de leur capacité à transférer les atomes d'hydrogène (HAT) et / ou le transfert d'électrons uniques (SET) pour éliminer l'état non apparié des radicaux libres et pour chélater les métaux résultant du processus d'oxydation.

Un antioxydant peut donc : prévenir la synthèse des radicaux libres et désactiver directement les ROS (Desmier, 2016).

Dans le système de défense antioxydant de notre organisme, on distingue des systèmes enzymatiques et des systèmes non enzymatiques(**figure04**) (**Kehili, 2018**).

2.1.1 *Le système antioxydant enzymatique*

Les antioxydants enzymatiques sont considérés comme la première ligne de défense de l'organisme contre les ERO (**Khither, 2019**). Les principaux systèmes enzymatiques comprennent les super oxydes dismutases (SOD), la catalase (CAT) et plusieurs formes de glutathion peroxydases (GSH-PX)(**Kehili N,2018 ; Halengj et al., 2007**).

2.1.1.1 **Superoxyde dismutase (SOD)**

L'O₂^{•-}étant le principal précurseur de ROS, sa dismutation par la superoxyde dismutase (SOD) est importante pour l'organisme et la signalisation cellulaire. La SOD cytoplasmique Cu/ZnSOD (SOD1), la SOD mitochondriale MnSOD(SOD2) et la SOD extracellulaire Cu/ZnSOD (SOD3) sont produites à partir de gènes distincts et sont localisées dans des compartiments différents mais elles catalysent la même réaction (**Perrotte, 2019**)avec une efficacité comparable. Elles accélèrent la vitesse de dismutation de l'anion superoxyde eperoxyde d'hydrogène (**Kehili, 2018**).

2.1.1.2 **Les catalases et les glutathion peroxydases**

Par la suite, la catalase (CAT) et la Glutathion peroxydase (GPX) sont toutes les deux capables de transformer le H₂O₂général par les SOD en eau et dioxygène (**Perrotte, 2019**).La CAT est enzyme est considérée comme la source majeure de protection. Elle est abondante dans le foie et les globules rouges.Elle se retrouve préférentiellement dans les peroxysomes eten plus faible quantité dans le cytosol(**Garait,2006 ; Khither, 2019**).la glutathion peroxydase est une enzyme dépendante du sélénium. Elle contient un seul résidu sélénocystéine (SeCys) dans chacune de ces quatre sous-unités identiques, ce qui est essentiel pour l'activité enzymatique (**Kehili, 2019**). Il existe associée à la membrane mitochondriale, la phospholipide-hydroperoxyde glutathion peroxydase (PHGPx) qui est spécifiquement impliquée dans ladiminution de la peroxydation lipidique(**Garait,2006**)

2.1.2 *Systèmes antioxydant non enzymatiques*

La défense antioxydant est composée d'antioxydants endogènes, qui sont synthétisés par le corps, et d'antioxydants exogènes, obtenue à partir de l'alimentation sous forme de fruits et légumes riches en vitamine C, vitamine E, caroténoïdes, ubiquinone, coenzyme Q, flavonoïdes, glutathion et acide lipoïque(**Halengjet al., 2007 ;Kehili, 2019**).

3 Le diabète

3.1 Définition

Le diabète est une maladie métabolique chronique qui se caractérise par une perturbation des métabolismes glucidique, lipidique et protéique (**Betu, 2018**). Il représente un vrai problème de santé publique à l'échelle mondiale. Il s'agit d'une affection chronique se traduisant par un taux de sucre élevé dans le sang (**Apema et al., 2012**), il apparaît lorsque la concentration du sucre est supérieure à 1.26 g/l (**Makan, 2006**).

Le diabète sucré se définit aussi selon L'Organisation mondiale de la Santé (**OMS**) comme un état d'hyperglycémie permanente avec une glycémie à jeun supérieure ou égale à 1,26 g/l (7mmol) à deux reprises et/ou supérieure ou égale à 2 g/l (11mmol/l) à n'importe quel moment de la journée (**Makan, 2006**).

D'insuline est l'hormone de la phase alimentaire. Elle est responsable de la régulation de la glycémie post prandiale. Chez l'individu sain, la normo-glycémie (valeur basale) est rétablie trois heures après l'hyperglycémie postprandiale (**Diop, 2015**). Une carence ou un défaut d'insuline entraîne une hyperglycémie chronique qui est la cause principale de la survenue des complications dégénératives de la maladie diabétique (**Naceiri mrabti, 2018**).

3.2 Types de diabète

Cette pathologie se décline sous plusieurs sous types dont les majeurs sont ceux du type 1, du type 2 :

3.2.1 *Le diabète de type I (DTI)*

Était anciennement connu sous le nom de diabète juvénile ou diabète « maigre ». Cette forme de la pathologie est dite insulino-dépendante. DTI est dû à la destruction auto-immune des cellules β -pancréatiques qui conduit à un déficit absolu de la sécrétion de l'insuline . Le diabète de type 1 peut toucher les personnes de tout âge mais affecte surtout les enfants et les jeunes et concerne 10 % des patients diabétiques. (**Betu, 2018 ;Diop, 2015**).

3.2.1.1 Physiopathologie du diabète de type I

Ce diabète insulino-dépendant est provoqué par une réaction auto-immune au cours de laquelle les propres moyens de défenses de l'organisme attaquent les cellules bêta du pancréas qui produisent l'insuline. Alors l'organisme devient incapable de fabriquer l'insuline dont il a besoin (**Kone, 2017**). Le diabète de type 1 peut être idiopathique c'est-à-dire sans cause

évidente ou auto-immune;LADA (Lantent Autoimmune Diabetes in Adults) .Il peut toucher des personnes de tout âge,chez les enfants ou les jeunes adultes (**Makan, 2006**).

3.2.2 *Le diabète de type II (DT2)*

Le diabète de type 2 ou diabète non insulino dépendant est une affection multifactorielle résultant à la fois d'une prédisposition génétique et des facteurs environnementaux (obésité, sédentarité). Il représente plus de 80% des diabètes et est subdivisé en deux types : le diabète de type 2A avec insulino déficience prépondérante et le diabète de type 2B avec insulino résistance prépondérante (**Makan, 2006**)

3.2.2.1 **Physiopathologie du diabète de type II**

Le diabète de type 2 est une maladie multifactorielle. L'hyperglycémie est due à une altération de la sécrétion d'insuline en réponse au glucose par les cellules β du pancréas endocrine, ce qui se traduit par une insulino résistance (**Naceiri mrabti, 2018**).

3.2.3 *Autres types de diabètes*

Il existe aussi des formes plus rares de diabète :

- Le diabète gestationnel : diabète temporaire qui survient chez certaines femmes enceintes.
- Le diabète MODY (Maturity Onset Diabetes Of the Young) : un diabète lié à la mutation d'un gène (représente entre 2 à 5% des diabètes non insulino-dépendants) (**Delpech, 2015**).

3.3 **Les symptômes du diabète**

Les signes cardinaux sont :

- polyurie
- polydipsie,
- déshydratation
- asthénie
- altération de la conscience
- polyphagie
- perte de poids
- nausée
- vomissement
- infections bactériennes ou mycosiques

Les symptômes évoluent selon la fluctuation de la glycémie. (**Erika, 2019**).

3.4 Épidémiologie du diabète

3.4.1 Dans le monde

Le diabète sucré est actuellement un problème de santé publique majeur dans le monde où son taux prévalence augmente de manière constante. Ainsi, le diabète sucré touche environ 387 millions dans le monde. Les estimations de prévalence en 2035 sont de plus de 592 millions de personnes atteintes dans le monde. Une hyperglycémie chronique conduit bien souvent à de nombreuses complications qui auront une issue fatale dans un grand nombre de cas (Ribot, 2016).

3.4.2 En Algérie

Le nombre des diabétiques en Algérie a doublé en l'espace de 15 ans, selon le ministère de la Santé. L'inactivité physique, la mauvaise alimentation, l'obésité, l'hypertension en sont les principales causes. En 2004, la prévalence de cette maladie chronique a été estimée à 8,9% chez la population âgée de 25 à 64 ans. (Azzegag, 2018). Elle est passée à 14,4% en 2018 et ce chiffre augmente chaque année. (communiqués, 2019).

3.5 Complications du diabète

Quel qu'en soit le type, le diabète peut entraîner des complications qui affectent plusieurs parties de l'organisme et accroître le risque général de décès prématuré.

Au nombre des complications possibles figurent :

- l'infarctus du myocarde,
- l'accident vasculaire cérébral, l'insuffisance rénale,
- l'amputation des jambes,
- la perte de vision
- lésions nerveuses. (Margaret, 2016).

3.6 Les plantes médicinales et diabète

Les plantes médicinales renferment de nombreux actifs qui ont des activités thérapeutiques. Dans le monde, les plantes ont toujours été utilisées comme médicaments (Tahri, 2012).

Plusieurs plantes médicinales ont pour leur utilisation bénéfique dans différents cas du diabète. Ces plantes peuvent retarder le développement de complications diabétiques et corriger les anomalies métaboliques (Jarald *et al.*, 2008).

L'activité antidiabétique des plantes peut dépendre de plusieurs mécanismes :

- Réduction de la résistance à l'insuline.
- Stimulation de la sécrétion d'insuline par les cellules bêta d'îlots ou / et inhibition de l'insuline dégradante processus
- Fournir certains éléments nécessaires comme le calcium, le zinc, le magnésium, le manganèse et le cuivre pour les cellules bêta.
- Régénérer et / ou réparer la bêta pancréatique cellule.
- Augmenter la taille et le nombre de cellules dans le îlots de Langerhans.
- Stimulation de la sécrétion d'insuline.
- Effet protecteur sur la destruction des bêtacellules.
- Amélioration de la digestion et réduction dans la glycémie et l'urée.
- Prévenir le stress oxydatif qui est peut-être impliqué dans le dysfonctionnement des cellules bêta pancréatiques trouvé dans le diabète. (**Jarald et al., 2008**).

4 Diabète et stress oxydant

Le stress oxydant augmente dans les différents tissus que se soit dans le cas du diabète expérimentale ou chez les patients diabétiques (**Guerin, 2014**).

Au cours du diabète, lié à un syndrome métabolique, l'hyperglycémie est associée à un stress oxydant lié à une hyperproduction de radicaux libres et ROS intracellulaires et ceux-ci prolongent le gradient de proton généré par la chaîne respiratoire mitochondriale est à l'origine de la production de radicaux superoxydes ($O_2\cdot^-$), qui est l'une des espèces réactives de l'oxygène qui peut endommager les cellules dans de nombreuses voies à travers le stress oxydatif, entraînant un déséquilibre d'oxydo-réduction, (**Guerin, 2014 ; Naceiri mrabti, 2018**).

Les espèces réactives de l'oxygène générées lors de l'hyperglycémie causent principalement des dommages de l'ADN, des protéines et des lipides. En plus il est évident l'activation des voies du stress oxydant est sensible par l'élévation du glucose et des acides gras, elle conduit à deux niveaux de résistance à l'insuline et une diminution de la sécrétion d'insuline et la dysfonction des cellules β sécrétrices de l'insuline (**Naceiri mrabti, 2018**)

Les espèces réactives de l'oxygène générées lors de l'hyperglycémie causent principalement des dommages de l'ADN, des protéines et des lipides. En plus il est évident

l'activation des voies du stress oxydant est sensible par l'élévation du glucose et des acides gras, elle conduit à deux niveaux de résistance à l'insuline et une diminution de la sécrétion d'insuline et la dysfonction des cellules β sécrétrices de l'insuline (**Naceiri mrabti, 2018**).

Chapitre II
Généralité
sur
Crataegus
Azarolu

Chapitre II : Généralité sur *crataegus azarolus*

Introduction

Depuis des années, l'aubépine (*Crataegus Azarolus L*) existe en Algérie et est utilisée dans différents domaines et spécialement comme aliment ; cette utilisation se prolonge jusqu'à nos jours. Aubépine (*Crataegus* espèces), appartenant à la famille des *Rosacées*, qui sont des petits arbres ou arbustes. Le nom commun de (*Crataegus azarolus L*) est aubépine ou azérole. L'arbre d'aubépine préfère les étages de secteurs inférieurs de la forêt (**Boudraa, 2008**).

1 Etymologie

Azérolier ou *Épine d'Espagne* (*Crataegus Azarolus*) est un arbre fruitier du genre *Crataegus* appartenant à la famille des *Rosaceae*, originaire du bassin méditerranéen.

Crataegus : nom générique des aubépines (rosacées), désignant en latin ("*Crataegon*" ou "*Cratægus*" et en grec ("κρά τα γρος ou κρά τα γρου"), l'azerolier (*Crataegus azarolus L.*) ; peut-être du grec "κρά ιος" par allusion à la dureté du bois. Le nom botanique des aubépines est dérivé d'un terme qui, chez Théophraste, désignait l'azerolier. Le genre *Crataegus* comprend plus de 600 espèces. Ce nombre varie selon les auteurs (**Saadoudi, 2008**).

2 Historique et origine

L'aubépine a été découverte en 1896 par le Docteur J. C. Jennings, à Chicago, qui utilisait ces plantes pour les traitements des maladies cardiovasculaires chez les personnes âgées.

Au début de xx siècle, ils ont commencé à étudier sérieusement les propriétés thérapeutiques de l'aubépine. Aujourd'hui, la plante connaît une grande vogue en Europe.

Au cours des années 1980 et 1990, ils ont mis au point des extraits normalisés qui ont fait l'objet de nombreux essais cliniques (**Boudraa, 2019**).

L'azerolier est originaire de l'Europe tempérée, de l'Asie Mineure et de l'Asie du Sud Est et d'Amérique du Nord. Il n'aurait fait son apparition à Rome que pendant le règne d'Auguste. En France, il est rencontré près du littoral méditerranéen et en Corse. Il est souvent cultivé pour ses fruits et son aspect décoratif (**Abdeddaim, 2016**).

3 Caractères morphologiques

L'azerolier est un Arbuste ou arbrisseau (4-6m), plus rarement petit arbre (jusqu'à 12m), très épineux. Son écorce lisse est de couleur gris clair. Ses feuilles caduques, alternes sont divisées en 3 à 5 lobes entiers ou peu dentés, de couleur verte blanchâtre en dessous. Ses fleurs sont blanches roses en inflorescences denses. Ses fruits assez gros, (1,5 à 2cm de diamètre) appelés azeroles sont de couleur jaunâtre à maturité (**Figure 05**). Leur saveur est très fade, à goût acidulé et agréable (**Saadoudi et al,2012**).

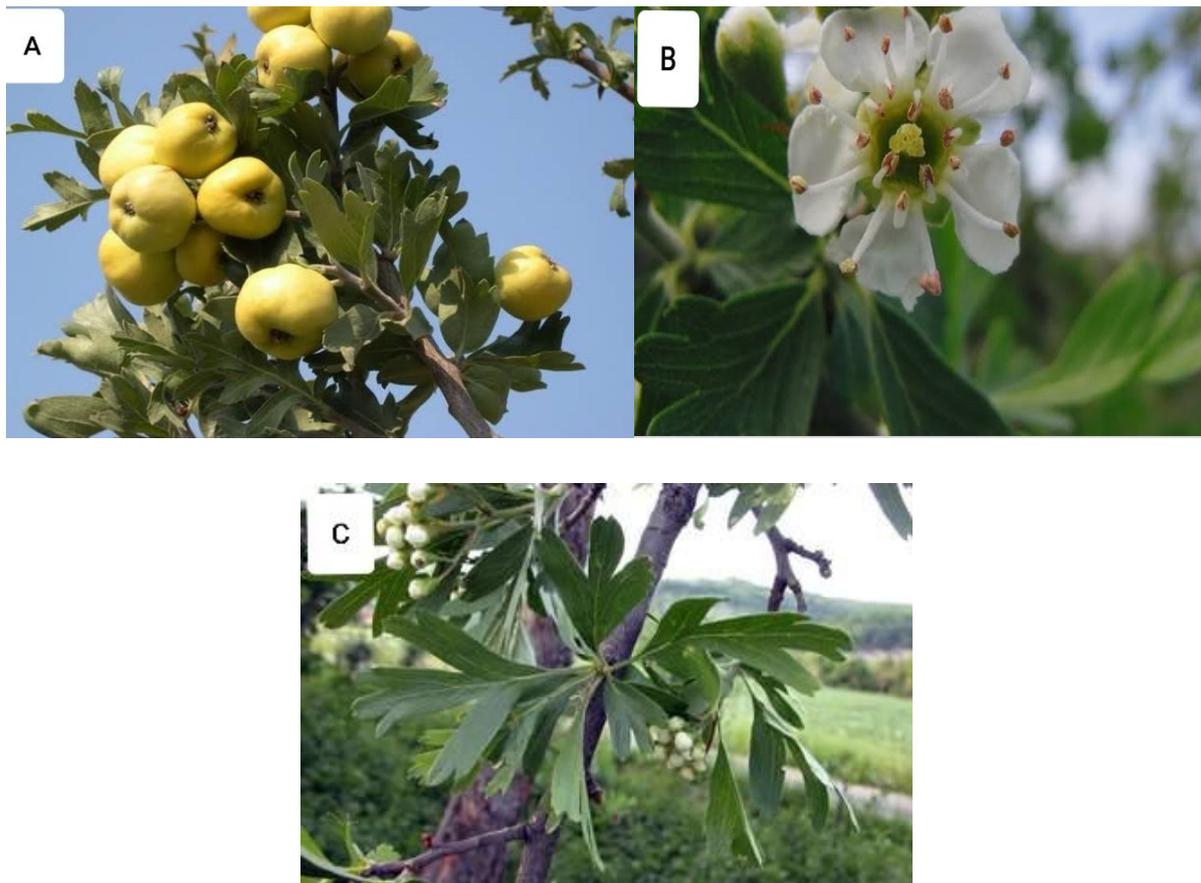


Figure 05 : Photographie de différentes parties de l'espèce *Crataegus Azarolus*((**Zidi, 2010 ;Boudraa, 2019**):(A) photographie des fruits , (B) photographie des fleurs , (C) photographie des feuilles.

4 Classification botanique

Règne : *Plantae*

Sous règne : *Tracheobionta*

Embranchement : *Spermaphytae / Magnoliophyta (Angiospermes)*

Classe : *Magnoliopsida (Dicotylédones)*

Sous classe : *Rosidaeae*

Ordre : *Rosales*

Famille : *Rosaceae*

Sous famille : *Maloideae*

Genre : *Crataegus*

Espèce : *Crataegus Azarolus (Zidi, 2010)*

L'Azerolier compte plusieurs sous espèces. On peut citer(Zidi, 2010):

- ✓ *Crataegus azarolus* subsp. aronia
- ✓ *Crataegus azarolus* subsp. azarolus
- ✓ *Crataegus azarolus* subsp. chlorocarpa Moris
- ✓ *Crataegus azarolus* subsp. pontica C.Koch

5 L'habitat et répartition géographique

5.1 Habitat

L'Azerolier préfère les climats chauds, les positions ensoleillées, les sols neutres, bien drainés sans excès d'argile(Boudraa, 2019).

Cette aubépine pousse spontanément dans les forêts et broussailles des plaines et de la montagne jusqu'à 2000 m d'altitude. Elle peut vivre jusqu'à 500 ans (Boudraa, 2019).

5.2 Répartition :

5.2.1 Dans le monde

Le genre "*Crataegus*" comprend plus de 600 espèces des régions tempérées froides de l'hémisphère Nord : Europe, Asie et surtout l'Amérique du Nord. Cette espèce s'installe au bord des ruisseaux, des fosses et des forêts humides et en bordure des chemins de toutes les régions tempérées d'Europe, de l'Asie occidentale et de l'Afrique du Nord. *L'azerolier* est cultivé en région méditerranéenne (Farhat *et al*, 2014).

L'azerolier est très répandu au sud de l'Europe (France – Espagne.....etc.), Asie mineur (Jordanie – Liban – Palestine- Turquie– Syrie - Iraqetc.), en Chine, le nord de

l'Amérique, l'Afrique du nord (Tunisie- Maroc - tell Algero-Constantinois ...etc) et aussi le Proche Orient comme(L'Egypte)(figure 06)(Christensen,2012).



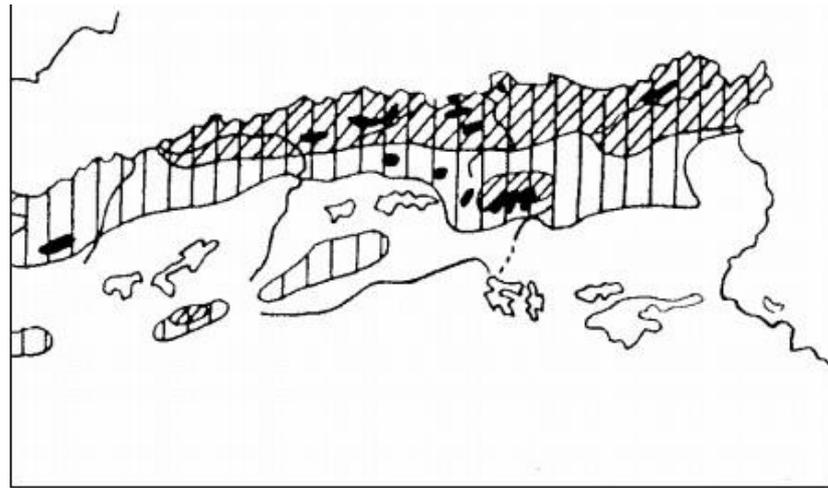
Figure 06 : Répartition géographique de *Crataegus azarolus*. (Boudjada, 2018)

5.2.2 En l'Algérie

En Algérie, l'azerolier est localisé surtout dans les régions de Constantine (figure 07), d'une façon spontanée en forme de forêts assez rares et parfois planté en haies ou en clôture dans les jardins en zone rurales. En plus de *Crataegus azarolus* ; il existe d'autres espèces en Algérie tell que : *Crataegus oxyacantha* L. (boumekherri ou babaadjina), *Crataegus monogyna* Jacq. (Ssp de *C. oxyacantha*), *Crataegus maura* et l'hybride *azarolus* × *oxyacantha* *C. ruscinonensis* Gren et (Azerolier du Roussillon), Ce dernier existe dans le constantinois, il défère de *C. azarolus* par ses pédicelles glabres et ses fruits plus petits (10-15mm) au lieu de 15 à 30 mm (Boudjada, 2018).

La présence de l'azerolier a pu être confirmée dans les régions suivantes :

- Constantine : Djebel El Meridj, El Khroub et Ain Abid ;
- Guelma : Oued Zenati, Ras el Akba ;
- Souk Ahras : Bouchegouf ;
- Sétif : Bougaa, Ain Roua, Ain Kbira, Beni Aziz, djebel Boutaleb et OuledTebène (Boudjada, 2018).



 Aire de *Crataegus azarolus l*

Figure 07: Aire de répartition du « *Crataegus azarolus L* » en Algérie (Boudjada, 2018).

6 Culture :

L'Azerolier est multiplié soit par semis stratifiés des graines ou par greffage sur une aubépine. Il ne se lève pas sur les montagnes, on le trouve dans les forêts, les broussailles et plaines et dans les régions bien arrosées et semi arides. Il s'accommode à tout type de sol, même très pauvre, sec et rocailleux à condition qu'il ne soit ni excessivement calcaire ni trop argileux. Il apprécie le soleil et ne redoute aucunement le froid (plante rustique)(Pascal et al,2020).

7 Composition biochimique du fruit de *Crataegus Azarolus L* :

La composition biochimique de fruit de *Crataegus azarolus L* est donnée dans le tableau suivant :

Tableau 02 :La composition biochimique de la partie comestible de *Crataegus azarolus* L.(Koyuncu *et al*, 2007).

Propriété	Valeur
Teneur en eau %	64,2
Sucre totaux %	15,9
Protéine %	0,95
Flavonoïdes %	1-2
Acidité total mg/100g	1,38
Vitamine C mg/100g	27,58
Vitamine A (Prov A) mg/100g	380-680
Ca mg	9,80
P mg	1,16
K mg	1,58
Mg mg	7,10
Na mg	2,00
Cu mg	0,16
Mn mg	0,24

- La partie comestible du fruit est composée de 15,9 g de sucre, 0,95 g de protéines et 1,38 mg d'acidité totale dont l'acide caféique, malique, tartrique et citrique(Drouet, 2004)..Elle a une teneur élevée en Ca, K, Mg, Na, P, Cr, Co, Fe, Mn, Si, Se, Zn. (Boudraa, 2019).
- La pulpe des "azeroles" contient quarante quatre composés volatils dont les plus importants sont caractérisés par les aldéhydes aliphatiques et aromatiques, les cétones, les alcools, les monoterpènes et les terpènes(Drouet, 2004).
- Le fruit de *l'azérolier* est considéré comme une bonne source d'antioxydants (vitamine A et E et la vitamine C).Selon Bignami et al (2003), ont été montré que la pulpe de fruit de *Crataegus azarolus* est très riche en polyphénols de 1,8 à 2,4% de la matière fraîche(Pascal et al,2020).

8 Différentes utilisations des fruits de *Crataegus azarolus*

8.1 Usages alimentaires

Jus Et Vin

- ✓ Par fermentation des fruits de *Crataegus azarolus*, on peut faire une boisson alcoolique ressemblant au cidre (**Saadoudi, 2008**).
- ✓ Le rendement en jus pulpeux, par blanchiment, broyage, et tamisage centrifuge, est de l'ordre de 80 à 85%, selon l'état de maturité et les perforations des tamis (**Pascal et al, 2020**).
- ✓ les fruits peuvent être consommés crus ou utilisés en jus, gelées et confitures. Ils sont réputés riches en vitamines A et C (**Chakass et al, 2008**).
- ✓ Leurs fruits traditionnellement exploités sont sources de minéraux et vitamines qui pourraient constituer une matière première non négligeable pour l'alimentation. Ils sont consommés frais ou secs (**Boudraa et al., 2010**).

8.2 Usages médicinaux

- ✓ Depuis longtemps, apprécié par leur astringence, l'aubépine permet de réduire les diarrhées et les maux du cycle menstruel et d'assouplir la peau. De plus ses remarquables propriétés tonocardiaques avaient été reconnues (**Drouet, 2004**).
- ✓ Les fleurs ont un effet sur la régulation des rythmes cardiaques et de la circulation sanguine, tonifient le muscle cardiaque, calment le système nerveux et le système sympathique, combattent l'hypertension artérielle, agissent sur l'insomnie, les problèmes de respiration, et de l'angoisse (**Rajeb et al, 2010**).
- ✓ Les feuilles sont employées pour leur propriété tonocardiaque, anti-diarrhéique. Elles soignent le cancer, le diabète et la faiblesse sexuelle (**Rajeb et al, 2010**).
- ✓ Les fruits sont utilisés pour le traitement des maladies cardiovasculaires et l'athérosclérose du fait qu'ils possèdent un potentiel cardiotonique (**Pascal et al, 2020**).

8.3 Usages pharmacologiques

- ✓ l'azerolier est préparé en pharmacie sous diverses formes: sirop, dragée, associé à d'autres plantes ; telles que le saule blanc et aussi se trouve sous forme de comprimés, comme d'acérola (la vitamine C « 23-25% » naturelle), cet extrait serait un bon reconstituant de convalescence en cas de forte fatigue (**Boudraa, 2008**).

- ✓ Le fruit de *Crataegus azarolus* est utilisé dans les préparations pharmaceutiques principalement en raison de ses actions neuro, de cardio-sédatif et de sa basse toxicité (Pascal *et al*, 2020).

9 Intérêt des biomolécules « Les activités biologique d'azerolier »

- Pour les phytothérapeutes, c'est la plante du cœur. Elle est utilisée pour différents problèmes cardiaques, comme les troubles de l'excitabilité cardiaque (tachycardies paroxystiques et extrasystoliques...) et aussi comme cardiotonique en cas d'insuffisance cardiaque légère, comme les formes bénignes d'insuffisance coronarienne ou la fatigue du cœur sénile (Zidi, 2010).
- Elle est aussi utilisée Comme antiangineuse (angine de poitrine), sédatif, relaxant, vasodilatatrice, hypotensive, antispasmodique, Diurétique, anti-diarrhéique, anti-lithiasique, hypoglycémiant, astringent, antidiabétique, antipyrétique, anticancéreuse, contre les vertiges et les bourdonnements d'oreilles (acouphènes), contre l'artériosclérose et l'athérosclérose, contre les hémorragies, dans la pleurésie, contre la goutte, comme antioxydant, contre la faiblesse sexuelle en médecine arabe traditionnelle et enfin contre les troubles de la ménopause (Rjeibi *et al*, 2020).
- Plante traditionnellement connue pour son pouvoir anti-athérosclérotique, antihyperlipidémiant, régulateur de la tension artérielle et du rythme cardiaque (Ben Jemaa *et al*, 2016).

10 Marché de *crataegus azarolus*

Devant les écoles primaires ou à l'entrée des marchés et des souks, les vendeurs de « zaârour » marquent leurs territoires munis de leurs couffins remplies de ces baies jaunâtres. Vendu, aujourd'hui, à 50 da le « Kess » (un verre de 25 cl), l'azérole a toujours été le fruit de prédilection des enfants et des petits friands de gâteries (Boudraa, 2019).

Chapitre III
La
phytothérapie

Chapitre III : La phytothérapie

1 Définition

La phytothérapie est une thérapie médicale qui utilise les plantes pour élaborer des Remèdes destinés à améliorer le bien-être général et à soigner. Elle utilise la plante ou ses extraits(Kandouli,2018).

Le mot "phytothérapie" se compose étymologiquement de deux racines grecs : phuton et therapeia qui signifient respectivement "plante" et "traitement". Elle est considérée comme médecine complémentaire voire alternative pour certains, et elle est souvent perçue comme moins nocive et iatrogène que les médicaments issus de l'industrie chimique(Bellamina,2017).

Selon l'OMS, cette phytothérapie est considérée comme unemédecine traditionnelle, est encore massivement employée dans certains pays dont les pays en voie dedéveloppement. C'est une médecine parallèle du fait de l'absence d'étude clinique(Tableau 03)(Bellamina,2017).

Tableau 03 :Les différentes formes galéniques de phytothérapie (Limonier, 2018)

Présentation	Formes galéniques
Formes solides	<ul style="list-style-type: none"> • Gélules • comprimés
Formes liquides	<ul style="list-style-type: none"> • Extraits fluides • Teintures, alcoolatures, alcoolats • Teinture mère • SIPF (Suspensions Intégrales de Plantes Fraîches) • Macérats glycélinés • Digestés huileux et huiles infusées • Sirops, eau distillée, élixirs floraux • Huiles essentielles

Formes destinées à l'usage externe

- Pommades
- Liniments
- Gel
- Décoction, tisane
- Huile essentielle

2 Plantes médicinales

Depuis l'antiquité, les plantes médicinales sont considérées comme une source majoritaire des produits utilisés en thérapeutique. Elles ont constitué la source majeure de médicaments grâce à leur richesse en métabolites secondaires(**Gayet,2013**)

Environ 80% de la population mondiale à recours aux préparations traditionnelles à base de plantes en tant que soins de santé primaires. De plus les effets secondaires causés par les plantes sont minimes voire absents, au contraire des médicaments semi-synthétiques ou synthétiques(**Toure,2014**).

Les connaissances empiriques accumulées depuis des milliers d'années ont permis la sélection de plantes pour soigner diverses maladies. Certains de ces usages anciens sont aujourd'hui vérifiés par des études scientifiques et ont conduit à l'isolement de nouveaux principes actifs et à la mise sur le marché de médicaments à base de plantes ou d'extraits standardisés .De la plante entière ou partie de la plante utilisée au départ, on a en suite utilisé des extraits totaux ,obtenus par(décoction ,macération ,infusion ou percolation) avec différents solvants liquides ou secs pour faciliter la prise et standardiser les traitements(**Beddou,2015**).

Les plantes médicinales trouvent encore leurs indications thérapeutiques dans le traitement de plusieurs maladies en Algérie, y compris le diabète. Des enquêtes ethnobotaniques récentes effectuées dans le but de répertorier les plantes médicinales antidiabétiques dans l'Ouest et l'Est Algérien (**Kandouli,2018**).

2.1 Les propriétés des plantes

Les propriétés des plantes sont multiples, elles peuvent agir, entre autres, sur (**Gayet,2013**):

- le système nerveux : contre la déprime, les maladies dégénératives (Alzheimer)...
- la sphère digestive : contre les spasmes, les flatulences, les aigreurs d'estomac...
- la sphère respiratoire : contre la toux, la sinusite, la bronchite, l'asthme...
- la sphère immunitaire : stimuler les défenses en hiver, lutter contre une mycose...

- la sphère hormonale : contre les troubles de la ménopause, de la glande thyroïde, de la libido...
- la sphère urinaire : contre les cystites, l'adénome de la prostate, les calculs rénaux...

3 Les éléments actifs des plantes médicinales

3.1 Métabolites primaires

Se trouvent dans toutes les cellules de l'organisme d'une plante pour y assurer sa survie, ils sont classés en quatre grandes familles, à savoir, les glucides, les lipides, les acides aminés (Protéines) et les acides nucléiques. Ils sont caractérisés par leur caractère nécessaire et vital à la survie de la cellule ou de l'organisme(Djebaihia,2019).

3.2 Métabolites secondaires

Les plantes produisent un grand nombre de métabolites issus du métabolisme secondaire qui ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse, mais résultent de réactions chimiques ultérieures. On trouve des métabolites secondaires dans toutes les parties de plantes, mais ils sont distribués différemment selon leurs rôles. Cette distribution varie d'une plante à l'autre (Djebaihia,2019).

Parmi les principales familles de métabolites secondaires trouvées chez les plantes on distingue : les polyphénols, les terpènes et les alcaloïdes(Kandouli,2018).

3.2.1 Les Flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent le plus grand groupe de composés phénoliques, avec plus de 6000 composés naturels qui sont quasiment universels chez les plantes vasculaires. Ils présentent une structure commune de phenylbenzopyrane C6-C3-C6, constituée de deux noyaux aromatiques (cycles A et B) reliés par une chaîne de trois atomes de carbone, habituellement un hétérocycle oxygéné (cycle C). Ils sont des composés phénoliques et interviennent pour protéger les plantes des herbivores et contrôler les transports des auxines (Figure 08) (Hamdaoui, 2018).

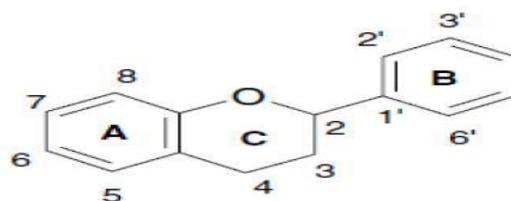


Figure 08: Structure générale d'un flavonoïde (Balasundram *et al.*, 2006)

3.2.2 Tanins

Le terme tannin fut introduit à la fin du dix huitième siècle pour définir les substances organiques présentes dans les extraits aqueux des feuilles, écorce, bois, fruits, galles de certaines fougères, gymnospermes et angiospermes. Ce sont des composés phénoliques solubles dans l'eau, de poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Daltons, et ayant, outre les propriétés habituelles des phénols, la capacité à précipiter les alcaloïdes, la gélatine et autres protéine(**figure 09**)(Hamdaoui,2018).

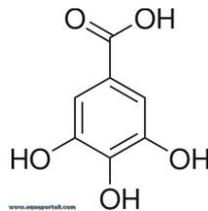


Figure 09: Structure générale d'un tanin (Pasdeloup grenez,2019)

3.2.3 Polyscharide

Les sources de polysaccharides végétaux sont multiples. On distingue les polysaccharides de structures (cellulose, hémicellulose, pectines), les polysaccharides de réserve (amidon, caroube), les polysaccharides exsudats (gomme arabique) et enfin les mucilages(**figure 10**)(Hamdaoui,2018).

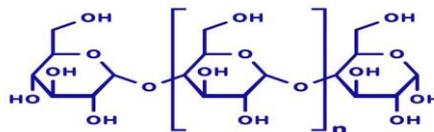


Figure 10: Structure générale d'un polysaccharide (Pasdeloup grenez,2019)

3.2.4 Phénol

Petites molécules constituées d'un noyau benzénique et au moins d'un groupe hydroxyle, elles peuvent être également estérifiées, étherifiées et liées à des sucres sous forme d'hétérosides. Leur biosynthèse dérive de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique (**figure11**)(Palici,2016).

Ce sont surtout des antiseptiques (arbutoside de la busserole), des antalgiques (dérivés salicylés de la reine des prés et du saule) et des anti-inflammatoires (**Pasdeloup,2019**).

Ces dérivés possèdent également des propriétés antitumorales ; En effet, ils peuvent bloquer la nitrosation des amines soit par réduction du nitrite en oxyde nitrique, soit par formation de dérivés C-nitroso en agissant non seulement *in vitro*, mais également *in vivo* (Huang et Ferraro, 1991). Ces composés possèdent des activités anti-oxydantes et Anti-radicalaires (Palici,2016).

Parmi ces composés l'acide gallique, l'acide caféique, l'acide chlorogénique qui captent les radicaux superoxydes produits par le système NADPH / Methosulfate de phénazine (Cheurfa,2015).

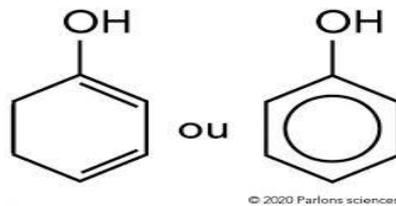


Figure 11: Structure générale d'un phénol (Pasdeloup,2019)

3.2.5 Les Coumarines

Les coumarines sont des substances naturelles dérivant de la benzo- α -pyrone ; ils résultent de la lactonisation de l'acide ortho-hydroxycinnamique. elles sont des molécules largement répandues dans tout le règne végétal (Pasdeloup,2019).

Elles possèdent des propriétés très diverses et existent sous forme libre solubles dans les alcools et dans les solvants organiques ou les solvants chlorés ou encore liées à des sucres (hétérosides) sont plus ou moins solubles dans l'eau (Hamdaoui,2018).

Les plantes à coumarines simple comme le mélilot (*Melilotus officinalis* (L.) Lam., Fabaceae) et le marronnier d'inde (*Aesculus hippocastanum* L., Sapindaceae) ont des propriétés antiinflammatoires à tropisme vasculaire souvent anti-agrégants plaquettaires et des propriétés veinotonique et vasculoprotecteur (Pasdeloup,2019).

3.2.6 Les Saponines

Les saponines sont des glycosides contenus dans les plantes qui doivent leur nom au fait qu'elles moussent lorsqu'on les mélange avec l'eau. Elles sont des constituants de nombreuses plantes médicinales, elles existent sous deux formes : les stéroïdes et les triterpénoïdes (Pasdeloup,2019).

3.2.7 *Les Alcaloïdes*

Sont des substances basiques, contenant un atome ou plus d'azote généralement inclus dans un système hétérocyclique. Ce sont des composés relativement stables qui sont stockés dans les plantes en tant que produits de différentes voies biosynthétiques(Hamdaoui,2018).

4 **Extrait des plantes médicinales**

L'appellation « extrait de plante » n'est pas appropriée, dans la mesure où l'extrait de plante porte précisément un nom : un alcoolat, une teinture mère, un sirop, une poudre.

Il existe plusieurs sortes d'extraits, la plupart du temps réservés aux compléments alimentaires ou à la fabrication de médicaments (Gayet,2013).

4.1 **Les différents types d'extraits (Gayet,2013) :**

4.1.1 *L'extrait sec*

Est le résultat de l'évaporation du solvant sur une plante. Il est ensuite encapsulé en gélule. Il est jusqu'à dix fois plus concentré que la plante en poudre en gélule.

4.1.2 *L'extrait liquide*

Est le résultat d'une macération dans un solvant (alcool, eau), il a une consistance molle, il est surtout utilisé dans les sirops, les teintures, les suspensions intégrales de plantes fraîches (SIPF) ou les extraits fluides de plantes standardisés (EPS).

4.1.3 *Les extraits standardisés*

Sont obtenus de la même façon que précédemment, seulement ils sont définis par la teneur précise de leur principal principe actif (exemple : griffonia standardisé à 30 mg de L-5 HTP).

4.1.4 *Les lyophilisats*

Sont obtenus par séchage du végétal congelé, l'objectif étant de dessécher le végétal sans apport de chaleur.

5 Activités biologique des extraits de plantes médicinales

5.1 Activité antioxydant

Un antioxydant est défini comme toute substance qui lorsqu'elle est trouvée à des concentrations faibles par rapport à celles d'un substrat oxydable, retarde ou prévient significativement l'oxydation de ce substrat(Abudunia,2018).

Les antioxydants sont des systèmes enzymatiques ou non-enzymatiques, endogènes ou exogènes(tableau 04)(Abudunia,2018).

Tableau 04 : Principaux antioxydants non enzymatiques et sources alimentaires associées (Abudunia, 2018)

Antioxydants	Sources alimentaires
Vitamine C	Agrume, melon, brocoli, fraise, kiwi, chou, poivron
Vitamine E	huile de tournesol, de soja, de maïs, beurre, oeufs, noix
β -carotène	Légumes et fruits
Sélénium	Poissons, oeufs, viandes, céréales, Volailles
Zinc	Viande, pain complet, légumes verts, huîtres, produits laitiers
Flavonoïdes	Fruits, légumes, thé vert
Acides phénoliques	Céréales complètes, baie, cerises
Tannins	Lentilles, thé, raisins

5.1.1 Mécanisme d'action des antioxydants

Les antioxydants peuvent protéger l'organisme contre les effets néfastes des espèces réactives comme suit:

- ✓ inhibition de la formation des radicaux libres.
- ✓ neutralisation des radicaux libres.
- ✓ augmentation du système de défense du corps.
- ✓ réparation des dommages résultants de radicaux libres(Ferdjioui,2014).

5.1.2 Types des antioxydants

5.1.2.1 Antioxydants primaires

La cellule est pourvue d'enzymes antioxydantes qui sont des systèmes de défense très efficaces. Cette ligne de défense est constituée de superoxydedismutase (SOD), de catalase et de peroxydase (glutathion et ascorbate).

5.1.2.2 Antioxydants secondaires

Ce sont des molécules exogènes. Contrairement aux enzymes antioxydantes, une molécule d'antioxydant piège un seul radical libre. Pour pouvoir fonctionner à nouveau, cette molécule d'antioxydant doit donc être régénérée par d'autres systèmes (Djebaihia,2019).

5.2 Activitéanti-inflammatoire

L'inflammation c'est un processus normal et complexe qui se produit en réponse à des agressions physiques (choc thermique), chimiques ou infectieuses.Le plus souvent cette réaction est bénéfique pour l'organisme agressé. Elle met en jeu de nombreux systèmes biologiques qui visent à détruire ou à éliminer la substance étrangère(Ferdjioui,2014).

Plusieurs plantes prouvent leur activité anti-inflammatoire,tels que: **Zingiber officinale, Urtica dioica, Nerium oleander ,Harpagophytum procumbe** et**Oenothera biennis** utilisées en médecine traditionnelle(Abudunia,2018).

5.3 Activité antidiabétique

Une des remarquables applications de la phytothérapie, est l'utilisation des plantes médicinales pour le traitement du diabète sucré(Zerriouh,2015).

Ainsi plusieurs plantes sont utilisées par la population pour maintenir un taux de glucose sanguin dans les normes. Cette pratique a fasciné des chercheurs pour entreprendre

des expériences afin de comprendre le mécanisme d'action de ces remèdes naturels et d'en tirer les principes actifs(Bayle,2017).

Les complications du diabète sont fortement liées à certain nombre de facteurs. A coté de l'hyperglycémie chronique et la glycosylation non enzymatique des protéines, un facteur très important impliqué dans la genèse de ces complications est le stress oxydatif(Abudunia,2018).

De même d'autres mécanismes d'actions ont été proposés pour d'autres molécules isolées de plantes, par exemple l'acide ursolique ,untriterpene isolé de *Rosmarinus officinalis* L, qu'est actif comme antidiabétique par l'augmentation de la translocation des vésicules de l'insuline, la sécrétion de l'insuline et l'augmentation du contenu du glycogène musculaire soléaire(Bayle,2017).

5.4 Activités antimicrobienne et antivirale

La thérapeutique des infections bactériennes base principalement sur l'usage des antibiotiques. La prescription à grande échelle et parfois inappropriée de ces agents peut entraîner la sélection de souches multi résistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers la découverte de nouvelles voies qui constituent une source d'inspiration de nouveaux médicaments à base des plante (Abudunia,2018).

Les plantes ont développé plusieurs stratégies pour contrôler les infections bactériennes. Beaucoup de travaux portés sur l'activité antimicrobienne des extraits de plantes médicinales telles que fenel (*Foeniculum vulgare*), peppermint (*Mentha piperita*), thyme (*Thymus vulgaris*), ont montré que ces extraits sont actifs non seulement contre les bactéries mai aussi contre les champignons, les levures et les virus(Kebieche,2009).

- Le mécanisme des effets antimicrobiens des polyphénols est sans doute très complexe. Parmi les hypothèses avancées, il faut citer(Saffidine,2015) :

- ✓ L'inhibition des enzymes extracellulaires microbiennes.
- ✓ Séquestration de substrats nécessaires à la croissance microbienne ou la chélation de métaux tels que le fer.
- ✓ L'inhibition du métabolisme microbien.

Des travaux ont mis en évidence un impact des flavonoïdes sur le rétrovirus HIV responsable du syndrome d'immunodeficiency acquise (SIDA).

5.4.1 Mécanisme d'action

L'action antibactérienne des phénols est liée à leurs capacités à dénaturer les protéines et sont généralement classés comme agents agissant en surface. Leur action conduirait à la fuite des constituants cellulaires des bactéries tels que les protéines, le potassium et le phosphate. Ces effets pourraient être dus à la destruction du peptidoglycane ou aux dommages de la membrane cellulaire(Saffidine,2015).

5.5 Activité de système cardiovasculaire

Les flavonoïdes sont réputés pour leur effet protecteur sur la santé cardiovasculaire en modifiant plusieurs processus pathologiques qui interviennent dans l'apparition des maladies cardiovasculaires. Certains flavonoïdes auraient un effet positif dans l'athérosclérose et les formes stables de maladies cardio-vasculaires en diminuant l'oxydation de LDL par inhibition de LOX, une atténuation du stress oxydatif et une diminution de l'inflammation.les flavonoïdes agiraient par inhibition de l'agrégation plaquettaire et une diminution des ROS(Saffidine,2015).

Partie

Expérimentale

Chapitre IV
Matériel Et
Méthode

Chapitre IV : Matériel Et Méthodes

Introduction

Une petite partie de cette étude expérimentale (juste la préparation des extraits) a été réalisée au niveau de laboratoire de biochimie de l'université de Djilali Bounaâma de khemis- Miliana. durant .. mois de Mars, alors que une grande partie n'a été pas réalisé vue au COVID-19 dont les analyses qualitatives et quantitatives, activités antioxydante et diabétique.

Les extraits étudiés sont obtenu à partir des feuilles du *Crataegus Azarolus*, notre travail a pour objectif de faire :

- L'étude qualitative et quantitative des extraits.
- L'étude de l'activité anti oxydante.
- L'étude de l'activité antidiabétique.

1 Matériel utilisé

1.1 Matériel non biologique

- Etuve séchant
- Réfrigérateur
- Agitateur magnétique et plaque chauffante
- Boîte de Petri(en verre)
- Mortier et Pistil
- Thermomètre à sonde
- Balance électrique
- opapier filtre
- Pompe sous vide - Erlenmeyer à vide - Cône en caoutchouc – Büchner
- appareil glucomètre

1.1.1 Réactifs chimiques

Les produits chimiques spécifiques tels que chlorure ferrique (FeCl_3) et acide chlorhydrique (HCL), chlorure ferrique, acide sulfurique, chloroforme, solution ammoniacale, les réactifs de Mayer et de Wagner et de FolinCiocalteu, acide phosphotungstique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$), d'acide phosphomolybdique ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$), trichlorure d'aluminium (AlCl_3) d'acide gallique, m'éthanol, d'alloxan monohydraté.

1.2 Matériel biologique

1.2.1 Matériel animal

Les animaux utilisés dans cette expérience sont des souris mâles/femelles issues de la souche Swiss albinos, en nombre de 25 souris provenant de l'institut pasteur, d'un poids vif moyen de 20-30 g. Largement utilisés dans divers domaines de la recherche.

1.2.2 Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des feuilles de *Crataegus Azarolus*, elle sont récoltées à Khamis - Miliana (wilaya de d'Ain Defla) en mois de Février 2020.

2 Méthodes

2.1 Séchage et broyage

Après la récolte, les feuilles sont nettoyées à l'eau pour enlever la poussière puis étalées et séchées à température ambiante et à l'obscurité durant 20 jours(jusqu'à l'obtention d'une plante vraiment sèche). puis finement broyés à l'aide d'un moulin à café (**Mahmoudi, 2013**).

2.1.1 Détermination de la matière sèche et de l'humidité

Le Taux d'humidité :

Afin de taux d'humidité (déterminer la teneur en eau) une quantité de feuilles fraîches de masse $M_f = 5 \text{ g} \pm 0,01\text{g}$ a été séchée dans une étuve à $105 \text{ }^\circ\text{C}$ pendant 24 heures(jusqu'à un poids constant). La masse des feuilles séchées (M_s) a été déterminée à l'aide d'une balance précise à $0,01\text{g}$ et la teneur en eau est donnée par la formule ci dessous :(**Bourkhisset al.,2009**)

$$H (\%) = [(M_f - M_s) / M_f] \times 100$$

H(%): Taux d'humidité exprimé en pourcentage.

La Matière sèche

$$MS\% = 100 - H\%$$

2.2 Préparation des extraits végétaux

Les extraits de plantes ont été obtenus à partir de feuilles sèches de notre plante *Crataegus azarolus*.

Deux étapes sont réalisées pour cette expérience scientifique. La première se résume dans l'extraction aqueuse et méthanolique des échantillons *Crataegus Azarolus*.

L'extrait des principes actifs, a été obtenu à partir des feuilles du *Crataegus Azarolus* en utilisant une technique d'extraction solide- liquide par l'eau distillée (infusion) et par méthanol(macération).

2.2.1 Extraction par infusion a l'eau

On verse de l'eau bouillante sur une quantité donnée de matière végétale puis on laisse reposer la mixture pendant environ 15 mn (**Potel, 2002**).

➤ Protocole expérimental :

Les extractions sont effectuées par Infusion selon la méthode décrite par (**Awa et al., 2018**). 10 g de poudre végétale, ont été ajoutés 100 mL d'eau distillée. L'ensemble a été porté à ébullition pendant 15 min.

2.2.2 Extraction par macération

Consiste en la mise en contact du matériel végétal avec le solvant sans ou avec agitation, habituellement à température ambiante. Une macération sans agitation, peut durer de 4 à 10 jours (Leandro, 2013).

Les extractions sont effectuées par macération selon la méthode décrite par (**Medini et al., 2018**) .avec quelques modifications.

➤ Protocole expérimental macération

A 10 g de poudre fine des feuilles du *Crataegus Azarolus*, a été ajoutée d'un mélange méthanol pur 100 ml, Après agitation pendant 24h.

2.3 Filtration et évaporation

Ce mélange a été enfin filtré sur du papier filtre , sont évaporées à sec (dans l'étuve à 47°C pendant 24h), les résidus obtenus sont solubilisés dans l'eau distillée.

2.4 Conservation de l'extrait

Les extraits obtenus ont été conservés dans un réfrigérant à température à 4°C et à l'abri de la lumière par un papier d'Aluminium jusqu'à utilisation(Oueslati *et al.*, 2018).

2.5 Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction a été obtenu par la formule suivante :

$$R (\%) = (Me/Mv) * 100$$

R (%) = Rendement de l'extraction en %

Me = Masse de l'extrait après l'évaporation du solvant en mg.

Mv = Masse de la matière végétale utilisée pour l'extraction en mg(Awa *et al.*, 2018)

3 Etude in vitro

3.1 Les Analyses qualitatives

Cette étude permet de mettre en évidence la présence de quelques groupes chimiques (polyphénols, flavonoïdes, tanins....etc.) dans les extraits. Ces essais permettent d'avoir des informations préliminaires sur la composition chimique.

3.1.1 Recherche des polyphénols

La réaction au chlorure ferrique (FeCl₃) a permis de caractériser les polyphénols A 2 ml de chaque extrait, on ajoute une goutte de solution alcoolique de trichlorure ferrique à 2 %. La présence de dérivés polyphénoliques provoque l'apparition d'une coloration bleue ou vert foncé(Cheurfa,2016).

3.1.2 Recherche des flavonoïdes

Le test consiste à ajouter à 1 ml des extraits quelques gouttes d'acide chlorhydrique concentré (HCL) et 0.5g de magnésium (Mg). On laisse agir 3 minutes. Une coloration orange ou rouge implique la présence des flavonoïdes(Cheurfa,2016).

3.1.3 Recherche des tanins

La présence des tanins est mise en évidence par l'addition à 1 ml de l'extrait aqueux (5%) de la plante de 2 ml d'eau et de 2 à 3 gouttes de solution de FeCl₃ diluée à 1%. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleue-noire ou bleue-verte (**Daira et al.,2016**).

3.1.4 Recherche des stérols et triterpènes

A 2 ml de chaque extrait, 1 ml d'acide sulfurique concentré est ajoutée, Le chloroforme a été ajouté le long des côtés du tube d'essai. Les tubes à essai ont été bien agités. Après un repos, l'apparition de la couleur rouge dans la couche supérieure a montré la présence de stérol et l'apparition de la couleur jaune dans la couche inférieure a indiqué la présence de triterpenoides(**Cheurfa,2016**).

3.1.5 Recherche des saponines

La détection des saponosides est réalisée en ajoutant un peu d'eau à 2 ml de l'extrait aqueux, la solution est fortement agitée. Ensuite, le mélange est laissé pendant 20 minutes. La présence des saponosides est évaluée comme suit :

- Pas de mousse = test négatif
- Mousse moins de 1 cm = test faiblement positif
- Mousse de 1-2 cm = test positif
- Mousse plus de 2 cm = test très positif (**Daira et al.,2016**).

3.1.6 Recherche des glycosides

2 ml de chloroforme est ajouté à 1 ml de l'extrait, l'apparition d'une coloration brun-rougeâtre après l'ajout de H₂SO₄ indique la présence des glycosides (**EL-Haoudet al, 2018**).

3.1.7 Recherche des alcaloïdes

Les alcaloïdes ont été caractérisés à partir des réactifs de Burchard (réactif iodo-ioduré) et de Dragendorff (réactif à l'iodo-bismuthate de potassium). 6 ml de chaque solution ont été évaporés à sec. Le résidu est repris par 6 ml d'alcool à 60°. L'addition de 2 gouttes du réactif de Dragendorff sur la solution alcoolique provoquait un précipité ou une coloration orangée. L'ajout de 2 gouttes du réactif de Burchard sur la solution alcoolique provoquait un précipité de coloration brun-rougeâtre et indiquait une réaction positive (**N'guessanet al, 2009**).

3.2 Les analyses quantitatives :

3.2.1 Dosage des polyphénols totaux (méthode de folin et ciocalteu)

Le dosage des polyphénols totaux à été effectué avec le réactif colorimétrique de folincioalceu.

Principe :

La teneur polyphonique totale est habituellement déterminée colorimétriquement avec Spectrophotomètre UV-VIS. Cette méthode est basée sur la réaction d'oxydation des polyphénols par les constituants du réactif de FolinCiocalteu ; acide phosphotungstique (H₃ PW₁₂ O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃ PMo₁₂ O₄₀). Ces derniers réduits en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. Présentent une absorbance maximale à 765nm. La coloration bleue ainsi produite sera proportionnelle à la quantité des polyphénols présents dans l'extrait végétal (Abdeddaim, 2016).

Mode opératoire :

0.2ml de chaque extrait végétal est bien mélangé avec 1.5 ml de réactif de Folin (dilué dix fois dans l'eau distillée). Les solutions sont mélangées et incubées à l'obscurité pendant 5 minutes. 1.5 ml de bicarbonate de sodium (60g/l) sont additionnés au milieu réactionnel. Après 2h d'incubation à la température ambiante, l'absorbance de tous les extraits a été mesurée par un spectrophotomètre UV/ visible à 765 nm contre le blanc sans extrait (Abdeddaim, 2016).

La courbe d'étalonnage est obtenue dans les mêmes conditions que précédemment en utilisant une gamme de concentrations de solution d'acide gallique préparée dans le méthanol

- Les expériences sont répétées 3 fois.

✓ Expression des résultats :

La teneur en polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage, établie avec le standard étalon de l'acide gallique (5-200 µg/ml) et exprimée en milligramme équivalent d'acide gallique par 100 gramme du poids de la matière sèche (mg EAG / 100g MS) (Ali haimoud, 2017).

3.2.2 Dosage des flavonoïdes :

La méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans nos extraits.

Principe :

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode colorimétrique de **Quettier-Deleu et ses collaborateurs (2000)**. Dont le principe étant la capacité du groupement hydroxyle (OH) libre en position 5 des flavonoïdes à se complexer au chlorure d'aluminium par chélation de l'ion Al^{3+} formant ainsi un complexe jaunâtre qui présente un maximum d'absorbance à 488nm (**Figure 12**)(**Mezahem, 2015**).

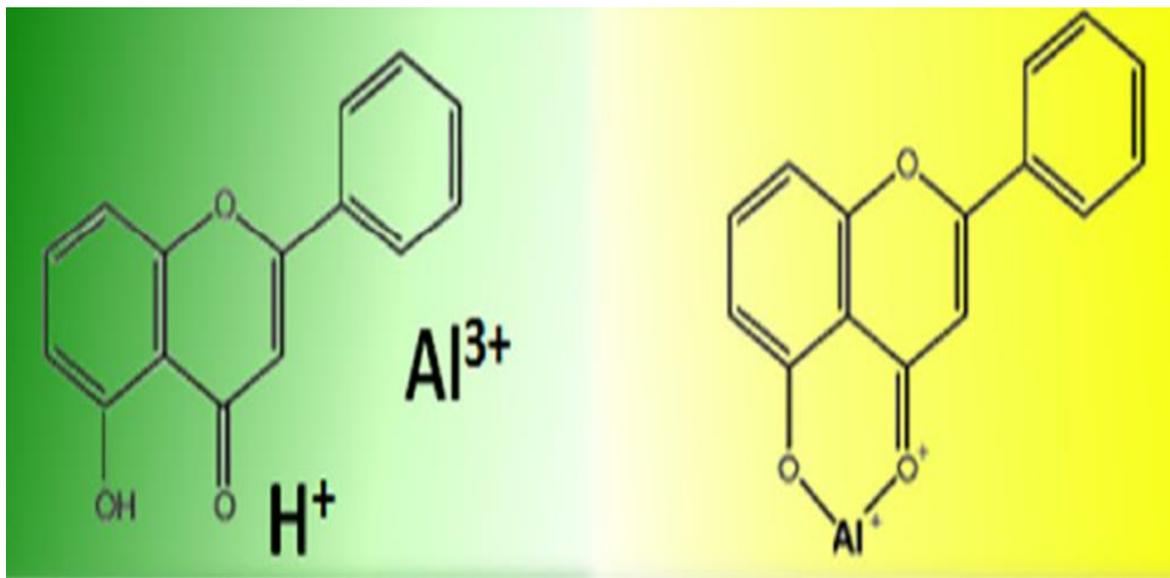


Figure 12: Mécanisme de l'interaction du chlorure d'aluminium avec les flavonoïdes (**Mezahem, 2015**)

Mode opératoire :

1ml d'extrait végétal (1mg/ml) a été mélangé avec 1ml de Solution méthanolique de chlorure d'aluminium ($AlCl_3$ à 2%). Après incubation pendant 10 mn à température ambiante, la mesure de l'absorbance a été effectuée à 488 nm. Un blanc a été préparé en mélangeant 1 ml de solution d'extrait avec 1 ml de méthanol pour chaque extrait.

✓ **Expression des résultats**

La concentration en flavonoïdes contenue dans les différents extraits, est calculée par référence à une courbe d'étalonnage, en utilisant la quercétine comme standard et la concentration a été exprimée en mg équivalent de quercétine /g de matière sèche(**Mezahem, 2015**).

3.2.3 Chromatographie liquide a haute performance HPLC

Parmi les différentes méthodes chromatographiques existantes, la chromatographie liquide à haute performance (HPLC-C18) (Figure 13.) a été utilisée pour analyser les différents extraits.

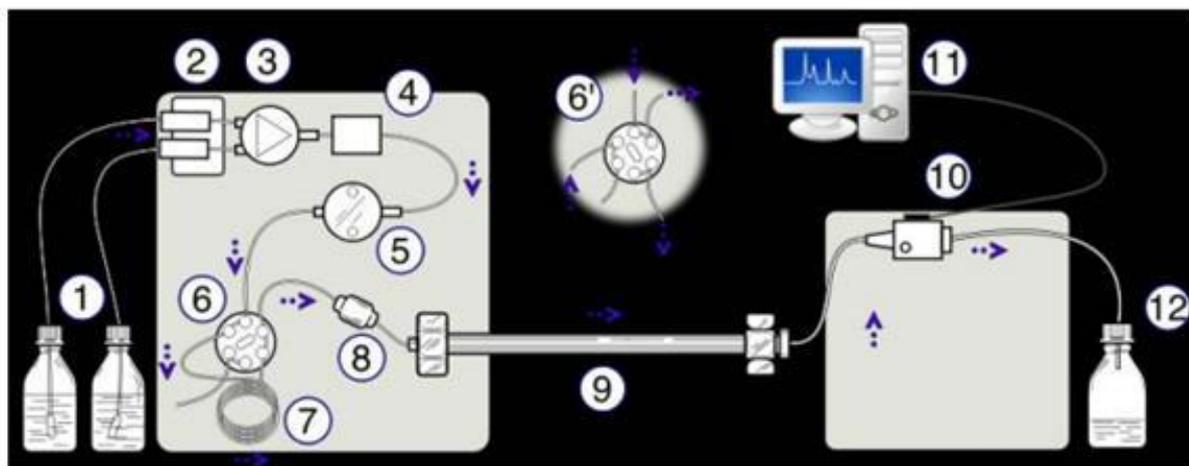


Figure 13 : Schéma principal de la chromatographie en phase liquide à haute performance. (HPLC)(Penchev, 2010)

1- Réservoirs des solvants, 2 - Dégazeur, 3 - Valve de gradient d'élution, 4 - Doseur de phase mobile (ou éluant), 5 - Pompe à haute pression, 6 - Vanne d'injection en position "inject", 6' - Vanne d'injection en position "load", 7 - Boucle d'injection de l'échantillon, 8 - Précolonne (éventuelle), 9 - Colonne analytique, 10 - Détecteur, 11 - Acquisition du signal, 12 - Décharge déchets.

Principe :

L'échantillon à analyser est poussé par un liquide (appelé phase mobile) dans une colonne remplie d'une phase stationnaire. Le débit d'écoulement de la phase mobile est élevé ce qui entraîne une augmentation de la pression dans le système. Ce débit élevé diminue le temps nécessaire pour séparer les composants le long de la phase stationnaire (Ali Haimoud, 2017).

Mode opératoire :

L'analyse des composés phénoliques dans les différents extraits étudiés a été réalisée en utilisant la chromatographie liquide à haute performance de marque WATERS (HPLC) couplée à un détecteur multi-longueur d'onde UV visible. L'analyse s'effectue selon les conditions opératoires:

- ✓ La colonne en acier de longueur de 25x0.46 cm,

- ✓ Phase stationnaire C18.
- ✓ Solvant d'éluion: méthanol/ethanolique (V/V).
- ✓ Longueur d'onde: 220, 280, 300 et 365nm

Les pics ont été identifiés par les temps de rétention de congruents par rapport aux standards(Ali haimoud,2017).

3.3 Evaluation de l'activité antioxydant

Pour évaluer l'activité antioxydante *in vitro* ; différentes méthodes ont été développées. Ces méthodes impliquent le mélange d'espèces oxydantes, tels que des radicaux libres ou des complexes métalliques oxydés, avec un échantillon qui contient des antioxydants capable d'inhiber la génération de radicaux. Parmi les quelles test DPPH• (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle)(Boudra, 2019).

Principe :

En présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène (AH), il est réduit en 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazine (DPPH-H) (Hadjadj, 2017). En présence de composés anti-radicalaires, le radical DPPH• est réduit et change de couleur en virant au jaune qui peut être suivie à 517 nm ce qui entraîne une diminution de son absorbance. (figure14)(Boubekeur, 2019).

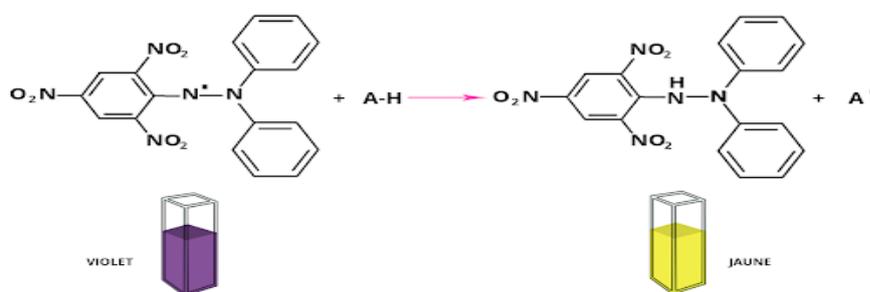


Figure14 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH•(Talbi *et al.*,2015)

Mode opératoire :

La capacité d'élimination des radicaux DPPH a été mesurée en utilisant la méthode de Keser *et al*(2014). En bref, solution 0,1 mM de DPPH• dans de l'éthanol a été préparé, et 1 ml de cette solution a été ajouté à 3 mL de solution d'extraits d'aubépine à 100 µg / mL concentration. L'absorbance à 517 nm a été déterminée après 0,5 h contre une solution à blanc contenant de méthanol.

Le pourcentage de piégeage du radical est calculé selon l'équation suivante :

$$\% \text{Inhibition (DPPH)} = [(A_0 - A_1) / A_1] \times 100$$

A0 = Absorbance du blanc,

A1 = Absorbance de l'extrait à une concentration donnée. (Oueslati *et al.*, 2018)

4 Etude In Vivo

4.1 Evaluation de l'activité antidiabétique

L'étude évaluant les effets antidiabétiques d'un extrait est réalisée d'abord sur l'animal (les souris) sain et sur un animal présentant le diabète (Medjdoub, 2013).

Protocole expérimental :

La recherche de l'activité antidiabétique est effectuée sur les souris rendu diabétique par l'alloxane, décrites par Lartey *et al.*, (2020) ont été utilisés.

4.1.1 Induction du diabète chez les souris par l'alloxane

L'état diabétique a été induit chez des souris par une injection intra péritonéale unique d'alloxane monohydraté (150 mg /kg). L'alloxane a d'abord été pesé individuellement pour chaque animal selon le poids corporel puis dissous dans 0,5 ml de solution saline (0,9% NaCl) juste avant l'administration à l'animal.

Deux jours après l'administration d'alloxane, la glycémie à jeun des souris a été déterminée, et ceux avec, le taux de glucose dans le sang est supérieur à 200 mg/dl (7.8 mM), sont considérés comme diabétiques et par conséquent, inclus dans l'étude.

4.1.2 Mode d'action de l'alloxane (ALX)

L'une des méthodes les plus efficaces pour induire le diabète expérimental est l'induction chimique par l'alloxane 2,4,5,6-tetraoxypyrimidine, est une pyrimidine oxygénée (figure 15) (Medjdoub, 2013). Il est utilisé chez les souris en provoquant une nécrose sélective des cellules β des îlots pancréatiques et inhibe la sécrétion de l'insuline glucose-dépendante. Il s'accumule de manière préférentielle dans les cellules bêta par absorption via le transporteur de glucose GLUT2 (Kebir, 2018), ainsi une déficience insulinaire chronique (Kebieche, 2009).

Cela provoque un diabète sucré insulino-dépendant (appelé «Alloxan Diabetes») (Kebir, 2018).

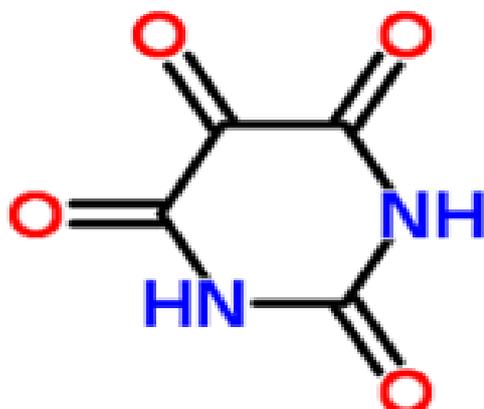


Figure 15 : Structure chimique de l'alloxane.(Medjdoub, 2013).

4.1.3 Administration Des Extraits

Les souris ont été divisées en 04 lots de 4 souris chacun, les extraits administrés de façon quotidienne pendant trois semaines par gavage intra-gastrique à des doses montrées dans le tableau suivant :

Tableau 05 : Désignation des lots et la dose administrée.

lots	Désignation	La dose administrée
1	Témoin (T)	Aucune dose
2	Diabétique non traité (DNT)	Aucune dose
3	Diabétique traité par l'extrait de l'infusion (DT I)	200 mg/Kg/j
4	Diabétique traité par l'extrait de la macération (DTM)	200 mg/Kg/j

4.1.4 Suivi Des Paramètres

Pour l'évaluation de l'activité antidiabétique, plusieurs paramètres physiologiques sont étudiés(Medjdoub, 2013).

4.1.4.1 Glycémie

L'effet antidiabétique a été évalué sur une période de 21 jours, la glycémie est mesurée chaque semaine à l'aide d'un glucomètre et des bandelettes (ACCU-CHEK) pour chaque souris. La prise de sang se fait par incision au niveau de la partie distale de la queue, après mis à jeun pendant 16 heures avec libre accès à l'eau.

4.1.4.2 Evolution Pondérale

La moyenne du poids de toutes les souris a été mesurée avant l'induction du diabète, et son évolution au niveau de chaque lot a été déterminé deux fois par semaine à l'aide d'une balance électronique jusqu'aux 21ème jours.

4.1.5 *Étude histopathologique*

(Naceiri, 2018; Larteyet *al.*, 2020)

- **Prélèvement de pancréas :**

Après 20 jours de traitement, les souris des différents groupes, ont été sacrifiées, et après dissection, le pancréas a été isolé et conservé dans le formol à 10% pour une subséquente étude histopathologique

- **Fixation des pancréas prélevés :**

Cette étape a pour but de conserver les structures cellulaires dans un état morphologique aussi proche que possible de l'état vivant. Les pancréas récupérés sont lavés avec de l'eau physiologique, et immédiatement immergés dans le formol (10%) afin d'éviter leur dégradation et obtenir une rigidité tissulaire suffisante. Les organes sont coupés en petits fragments et déposés dans des cassettes spéciales en plastiques.

- **La confection des coupes**

Cette étape a pour but la réalisation des coupes histologiques et pour cela, les prélèvements fixés sont lavés (lavage) à l'eau courante pendant 30 minutes ou plus, afin d'éliminer l'excès de fixateur, passons ensuite à l'étape de la déshydratation qui se fait d'une façon automatique à l'aide d'un appareil de traitement de tissus. Celui-ci est réglé sur un cycle de 18 heures :

1. **Déshydratation**

Les prélèvements découpés en tranches fines (2-3 mm sur 1-2cm) et placés dans des cassettes sont passés successivement dans 7 bacs d'alcool éthylique à titrage croissant de 70° à

100° pour réaliser une déshydratation en douceur et non brutale qui risque de rétracter les cellules.

2. Inclusion

Les tissus déshydratés ont été immergés dans deux bains successifs de paraffine liquide pendant 24 heures, pour que cette dernière s'infilte dans les échantillons.

- **Réalisation des coupes**

Les coupes du bloc de paraffine ont été réalisées avec un microtome permettant d'obtenir des tranches de section (coupes histologiques) de 4 à 5 microns d'épaisseur. Les coupes sont recueillies sur des lames de verre à partir d'un bain marin et étalées à l'aide d'une solution d'eau gélatinée, puis laissées sécher dans l'étuve pendant une nuit à 37°C.

- **Déparaffinage des coupes**

Avant la coloration, les coupes doivent être débarrassées de la paraffine, les lames sont baignées dans 2 bains successifs de xylène pendant 15 minutes chacun suivi de 3 bains successifs d'éthanol de degrés décroissant (100%, 90%, 70%) pendant 3 minutes chacun, puis rincées à l'eau distillée pendant 1 minute.

- **Coloration des coupes**

Cette étape permet de mettre en évidence spécifiquement les différentes structures tissulaires et cellulaires et pour cela, les lames ont été mises dans un bain d'hématoxyline pendant 03 mn, suivi d'un bain d'éosine pendant 5 mn, puis rincées dans deux bains successifs d'éthanol à 90%, suivi d'un séchage.

- **Observation microscopique**

L'observation a été effectuée à des grossissements G x10. La prise des photos a été effectuée avec un appareil photo numérique (SONY DIGITAL STILL CAMERA).

*Travaux
antérieur*

Chapitre V : Travaux antérieurs

Introduction

Un peu des travaux ont été effectués sur les extraits étudiés obtenus à partir des feuilles du *Crataegus Azarolus*, qui ont traité les Analyses qualitatives et quantitatives, l'activité antioxydante ;en revanche, il y'a peu de travaux voir nul à propos de l'évaluation de l'activité antidiabétique sachant que elle est l'objectif principale de ce travail.

1 Les analyses qualitatives

Les résultats obtenus dans l'analyse de la composition chimique de l'extrait méthanoliques et aqueux des feuilles de *Crataegus Azarolus* sont présentés dans les tableaux (06) et (07).

Le tableau (06) : les résultats des analyses phytochimiques des extraits méthanoliques et aqueux des feuilles de *Crataegus Azarolus* (Kallassy *et al.*,2017)

	Aqueux	Méthanolique
Alcaloïdes	–	+++
Tannins	–	–
Saponins	+++	–
Phenol	+++	+++
Flavonoids	+++	+
Quinones	–	+++
Coumarin	–	–
Sterols + Steroides	–	++
Flavones	+	+
Anthocyanins	–	–

–, absent; +, low in abundance; ++, moderate in abundance; +++, high in abundance.

D'après **Kallassy et al., (2017)** ,l'extrait méthanolique est riche en Alcaloïdes ,Phenol et Quinones ,par ailleurs il est pauvre en Tannins, Coumarin Saponins et Anthocyanins. ; Alors que,l'extrait Aqueux contient une grande concentration de Saponins, Phenol et Flavonoids. et l'absence de Alcaloïdes, Tannins, Quinones ,Coumarin, Sterols + Steroides et Anthocyanins.

Le tableau (07) : les résultats des analyses phytochimiques de extrait méthanolique des feuilles de *Crataegus Azarolus*(**Lakache et al.,2016**)

	extrait méthanolique
Alkaloids	+
Tannin (gallic acid)	-
Tannin (catechique)	+
anthraquinones	+
anthracyanines	-
steroids	++
triterpenes	++
saponin	-

+++ : Strong positive test; ++ : Low positive test; + : Weak positive test; - : Negative test.

Les résultats trouvés par **Lakache et al., (2016)**, sont en accord avec ceux de **Kallassy et al., (2017)** ou, ils déclaraient que dans l'extrait méthanolique une grande concentration observé de Alcaloïdes tannin catechique , Steroides et triterpenes et une absence de Saponins ,tannin gallic, Anthocyanins.

2 Les analyses quantitatives

2.1 Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes

La teneur en polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage, établie avec le standard étalon de l'acide gallique.

La concentration en flavonoïdes contenue dans les différents extraits, est calculée par référence à une courbe d'étalonnage, en utilisant la quercétine comme standard(**tableau 08**).

le tableau 08 : les résultats des dosages des Phénols totaux, Flavonoïdes et tanins des différentes extraits methanolique des feuilles de *Crataegus Azarolus*.

Extrait	Phénols totaux ($\mu\text{gEA/gmgext}$)	Flavonoïdes ($\mu\text{gEQ/gmgext}$)	Tanins ($\mu\text{gECat/gmgext}$)
(Abu-Gharbieh <i>et al.</i> ,2017)	1.3 ± 0.7	1.1 ± 0.3	-
(Lakache <i>et al.</i> ,2016)	67.68 ± 2.241	5.18 ± 0.123	-
(Bouaziz <i>et al.</i> ,2014)	$188.91 \pm 0,633$	21.03 ± 0.810	115.33 ± 1.191
(Nadia <i>et al.</i> ,2014)	228.72 ± 0.01	1673.85 ± 0.00	24.49 ± 0.00

les résultats obtenus par (Abu-Gharbieh *et al.*, 2017) sont inférieurs que les résultats de (Lakache *et al.*, 2016). Dans le taux des polyphénols totaux est ($67,68 \pm 2,241$), et les Flavonoïdes ($5,18 \pm 0.123$). tandis que les résultats de (Bouaziz *et al.*, 2014) sont plus élevés avec un taux des polyphénols de (188.91 ± 0.633) et des flavoïdes de (21.03 ± 0.810). On autre les résultats de (Nadia *et al.*, 2014) révèlent les teneurs les plus élevés d'un taux des polyphénols de ($228,72 \pm 0,01$) et de ($1673,85 \pm 0,00$) des flavonoïdes. le taux de tanins de (Nadia *et al.*, 2014) est de (24.49 ± 0.00), il est plus faible que (Bouaziz *et al.*, 2014).

La concentration en phénoliques et flavonoïdes totaux des différents extraits dépend de la polarité de solvants utilisés dans la préparation d'extrait. Selon ces études, les richesses des extraits et ses fractions de *Crataegus azarolus* dans les flavonoïdes et principalement dans les composés phénoliques peuvent expliquer leur activité antioxydante et antidiabétique.

2.2 Chromatographie liquide a haute performance HPLC

L'analyse des composés phénoliques dans les différents extraits méthanolique des feuilles de *Crataegus Azarolus* étudiés a été réalisée en utilisant la chromatographie liquide à haute performance de marque WATERS (HPLC) couplée à un détecteur multi-longueur d'onde UV visible.

Les résultats sont présentés dans **les tableaux (09) et (10) et (11)** :

Les résultats de (**Belkhir *et al.*,2013**) prouvent que nombreux flavonols (quercétine, isoquercitrine, kaempferol 3-O-glucoside) ont été trouvés principalement dans extrait méthanolique où l'isoquercitrine (quercétine-3-O-glucoside) représentait 44,9% des composés phénoliques totaux. L'apigénine représentait la seule flavone détectée dans les feuilles d'azeroliers tunisiennes.

Le tableau (09) : les résultats des résultats de HPLC (Belkhir *et al.*, 2013)

Peak No.	R _t (min)	λ _{max} (nm)	[M+H] ⁺ (m/z)	Identity	Concentration
1	5,68	279	291	(-)-Epicatechin	30.60 ± 1.66
2	11,44	325	355	Neochlorogenic acid (3-O-caffeoylquinic acid)	ND
3	13,07	324	355	Cryptochlorogenic acid (4-O-caffeoylquinic acid)	ND
4	15,7	326	355	Chlorogenic acid (5-O-caffeoylquinic acid)	ND
5	18,47	279	291	(+)Catechin	0.90 ± 0.66
6	37,26	355	465	Hyperosid (quercetin-3-O-galactoside)	27.36 ± 1.33
7	37,7	354	465	Isoquercitrin (quercetin-3-O-glucoside)	68.40 ± 2.66
8	41,68	340	271	Apigenin	ND
9	42,19	278	449	Kaempferol 3-O-glucoside	11.44 ± 0.66
10	47,8	371	303	Quercetin	13.68 ± 1.33
totale					152.38 ± 8.3

Le tableau (10) : les résultats des résultats de HPLC(Abu-Gharbieh *et al.*2017) $\lambda = 28\text{nm}$

Perak No	Rétentions time	Identifies component	%
1	6.81	Pyrogallol	0.17
2	6.92	Gallic acid	0.24
3	8.235	Protocatechuic acid	3.95
4	8.444	Catechin	4.82
5	8.593	Chlorogenic acid	2.97
6	8.950	Catechol	1.90
7	10.040	Caffeic acid	0.75
8	11.620	Ferulic acid	0.75
9	12.466	Salicylic acid	11.91
10	12.943	Ellagic acid	9.78
11	14.980	Cinnamic acid	0.47
Total			37.73

Le tableau(11) : les résultats de HPLC(Abu-Gharbieh *et al.*2017) $\lambda=330$ nm

Peak No	Retention time	Identified component	%
1	3.83	Quercetin	0.01
2	11.78	Rosmarinic acid	0.89
3	12.44	Rutin	6.50
4	14.576	Narenginin	0.43
5	14.952	Hispertin	0.80
6	16.167	Apigenin	0.16
7	18.657	Chrysin	0.82
Total			9.61

Les résultats obtenus de (Abu-Gharbieh *et al.*,2017) dans le tableaux 11- 12 montrent que :Les analyses RP-HPLC de l'extrait méthanoïque de feuilles de *C. azerole* sont révélés que 11 composants ont été identifiés à $\lambda = 280$ nm (correspondant à 37,73% de la composition totale, tableau 2) dont 8 étaient des acides phénoliques (30,77%) avec une prévalence de salicylique acide (11,91%) et acide ellagique (9,78%) et un flavonoïde (catéchine) outre le diphénol, le catéchol; pendant ce temps, à $\lambda = 330$ nm, 7 composants étaient connus (tableau 3); dont six étaient des composés flavonoïdes avec le rutine majeure (6,50%).

3 L'activité anti-oxydante

Les résultats obtenus pour l'activité anti oxydante **Al Mustafa et al(2008)** en pakistan et **Bouaziz et al (2014)** en Algérie, contre le radical 2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) de les extraits (aqueuse, méthanol) du *Crataegus Azarolus* sont présentés dans **le tableau (12)** et **(13)**.

Tableau 12 : les résultats de l'activité de piégeage des radicaux libres des différents extraits de *C.azarolus* en pakistan.

Ext	aqueuse	méthanol
(Al Mustafa et al., 2008)	9.4 ± 0.6 mg/g	45.6 ± 1.5 mg/g

Tableau 13 : les résultats de l'activité de piégeage des radicaux libres des différents extraits de *C.azarolus* en Algérie

Ext	aqueuse	méthanol
(Bouaziz et al., 2014)	0.066±0.0004 mg /ml	0.016±0.0004 mg /ml

D'après ces études cités dans les tableaux , l'extrait aqueux de *C.azarolus* a provoqué d'inhibition activité de piégeage des radicaux libres de 9.4 ± 0.6 mg/g en pakistan et dans Algérie 0.066±0.0004 mg /ml.

D'ailleurs, l'extraits méthanolique de *C.azarolus* a provoqué d'inhibition activité de piégeage des radicaux libres de 45.6 ± 1.5 mg/g en pakistan et en Algérie 0.016±0.0004 mg /ml.

Les résultats **Al Mustafa et al (2008)** de L'activité antioxydante a été déterminée par DPPH et ABTS pour des extraits de méthanol de 45,6 ± 1,5 mg / g de poids sec de plante supérieur à 9,4 ± 0,6 mg / g dans des extraits aqueux.

Les résultats **Bouaziz et al., (2014)** ont montré que toutes les fractions pouvaient réduire l'intensité du signal DPPH et que leurs activités de piégeage des radicaux augmentaient avec l'augmentation de la concentration (Cette activité a été comparée au BHT comme antioxydant synthétique.). IC50 pour l'activité de piégeage des radicaux DPPH: de méthanol ($0,016 \pm 0,0004$ mg / mL) sont inférieure à ceux de l'extrait aqueux ($0,066 \pm 0,0004$ mg / mL).

4 L'activité Antidiabétique

Les résultats de l'activité antidiabétique obtenus par l'étude de **Zidi (2010)** sur *Crataegus azarolus* dans la région d'El Tarf (Algérien) sont présentés dans le tableau (14):

Tableau 14 : Effet de l'extrait aqueux de *Crataegus azarolus* sur les rats diabétiques

Les lots	Lot diabétique traité		lot témoins		
Les doses	150 mg /kg (dl) (DTd1)	300 mg/kg (dll) (DTd2)	225mg/kg (dIII) (TDt3)	diabétique non traité (TD)	Normal (TN)
Détermination de la glycémie	une chute importante de la glycémie après un temps court	baisse est inférieur a celle du (DTd1)	baisse est inférieur a celle du (DTd1)	une augmentation important et constante par rapport (TN)	aucun effet hypoglycémiant (glycémie constante)
Détermination des poids corporels	Une baisse régulière des poids corporels par rapport (TD)	une augmentation des poids corporels plus important par rapport(TDt3)	Un gain des poids corporels est inférieur lot (TN)	diminution des poids corporels par rapport (TN)	Un gain des poids corporels
L'étude histologique	disparition quasi totale de nécroses des cellules Langerhans		Nécroses au niveau de îlots de Langerhans		aucun effet

4.1 Discussion

4.1.1 *glycémie*

Les deux doses dI (150 mg /kg) et dII (300 mg/kg) de plante entraînent une réduction très hautement significative de la glycémie. néanmoins en effet la dose dI (**150 mg /kg**) de la plante semble être la plus efficace, en raison de sa rapidité d'action, par l'ampleur de la baisse de taux de glucose et par la durabilité de son effet (glycémie à une valeur plus ou moins constante autour de 1g/l. par ailleurs la glycémie du lot normal traité par dIII de L'extrait ne présente aucune différence avec celle du lot normal non traité observe ainsi aucun effet hypoglycémiant.

4.1.2 *Poids corporel*

Les rats des lots normaux ont présenté un gain de poids corporel lié à une croissance normale des animaux, cependant les rats normaux traité par une dose 225mg/kg ont un gain de poids inférieur à celui des rats sains ce que pourrait signifier que la plante à la dose 225mg/kg réduisant légèrement la croissance des rats et les rats diabétique présentent une diminution continue des poids corporel ,cette perte de poids des diabétique est due au catabolisme les plus particulièrement des lipides, suite à l'insulinodéficience.l'amélioration des poids corporelles deux lots traités par deux doses de la plantes pourrait être expliquer par le pouvoir de la plante à restaurer le stock en triglycérides , grâce à l'amélioration de l'insulinosécrétion et de la glycémie.

4.1.3 *L'étude histologique*

L'étude histologique réalisée révèle que l'examen des coupes de pancréas montre les îlots de langerhans du lot diabétique la destruction de certaines cellules de langerhans expliquerait le taux réduit de l'insuline observé, en par ailleurs les lésions tissulaires limitées des lots dI et dII expliqueraient l'insulinémie proche de la normale. Les 2 doses de la plante ont restauré la sécrétion de l'insuline en régénérant les cellules β de langerhans (partiellement) détruites par l'alloxane. Cet effet observé pourrait être dû à la présence des composés antidiabétiques.

Conclusion générale

Les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et composés naturels bioactifs. Leur utilisation en phytothérapie connaît de nos jours un intérêt sans précédent.

Les extractions par des solvants sont les procédures les plus couramment utilisées pour préparer les extraits de matières végétales en raison de leur facilité d'utilisation, leur efficacité et leur large applicabilité.

L'étude des propriétés antioxydantes et antidiabétiques des extraits des feuilles saisonnières de *Crataegus azarolus* L., espèce appartenant à la famille des *Rosacées*, a permis d'obtenir des résultats intéressants. Les flavonoïdes, semblent les principes actifs les plus intéressants. Ce sont des antioxydants. Ils pourraient contenir l'épicatéchine, molécule, très abondante dans les aubépines.

Une étude phytochimique de l'extrait aqueux et méthanolique a été réalisée et a révélé la présence de substances actives telles que les flavonoïdes, les tanins et les saponosides, qui pourraient être à l'origine de l'effet régénératif de la plante et donc l'origine de l'effet antidiabétique observé.

L'analyse des différents extraits de *Crataegus azarolus* L. par HPLC a révélé la présence de quelques composés phénoliques dans les extraits tels que dans l'extrait méthanolique : la rutine et l'acide caféique sont présents, dans l'extrait aqueux la présence de l'acide caféique.

Le criblage préliminaire des extraits le pouvoir piégeur du DPPH dans les extraits (Aque et Met) les extraits de teneur considérable et élevée en composés phénoliques. Effectivement, le test au DPPH révèle que ces deux extraits sont les plus actifs

Le extrait aqueux des feuillets de *C.azarolus* entraînent ont un effet une chute importante de la glycémie après un temps court et Une baisse régulière et rétablissement du poids corporel à la dose 150 mg /kg .

L'étude histologique au niveau des pancréas des rats diabétiques a montré que la plante aux de dose 150 mg /kg a exercé une restauration des îlots de Langerhans lésés par l'effet de l'alloxane.cette dose a un effet correcteur du diabète.

Une étude phytochimique parallèle de l'extrait a été réalisée et a révélé la présence de substances actives telles que les flavonoïdes, les tanins et les saponosides, qui pourrait être à l'origine de l'effet antidiabétique observé.

L'activité antioxydante de ces extraits végétaux et leur règle potentielle dans l'élimination des radicaux concordaient avec leur utilisation potentielle en tant qu'agents antidiabétiques.

A partir de notre recherche en peut concluant que les feuilles du *Crataegus azarolus L* étudiées représentent une source importante de substance et de composés naturels bioactifs antioxydantes et antidiabétiques.

Références Bibliographiques

1. Abdeddaim, M. (2016). Etude de la composition biochimique des fruits de cinq espèces végétales présentes dans la région des Aurès en vue de leur utilisation alimentaires ou pharmacologiques. *Thèse de doctorat* . Université Ferhat Abbas Sétif 1.
2. AFc. (2020). *L'aubépine*.
3. Al Mustafa, A. h., Ahmed, H., & Osama, Y. (2008). Antioxydant Activity Of Some Jordamian Medicinal Plant Used Traditionally For Treatment Of Diabetes. *Biological Sciences* , 11 (3), 351-358.
4. Ali haimoud, S. (2017). Etude phytochimique et rôles biologiques des variétés de Phoenix dactylifera (datte) de l'Algérie. *Thèse de doctorat* . Université Hassiba Benbouali de Chlef.
5. Apema, R., Mozouloua, D., Abeye, J., & Salamate, F. (2012). Les Plantes Médicinales Utilisées Dans Le Traitement Du Diabète Par Les Tradipraticiens À Bangui. *Université De Bangui* , 16.
6. Awa, D., Konan, Y., Youssouf, S., Honora, T., Adama, B., & Witabouna, K. (2018). Pouvoir Antioxydant Et Teneurs En Composés Phénoliques De Deuxespèces Du Genre Albertisia: Albertisiacordifolia (Mangenot & J. Miège) Forman Et Albertisiascandens (Mangenot & J. Miège) Forman(menispermaceae). *European Scientific* , 14, 128-144.
7. Azzegag, S. (2018). *Diabète: hausse inquiétante du taux de prévalence en Algérie*. Consulté le novembre 14, 2018, sur Sud horizons.
8. Baraka, A. (2014). Stress Oxydant Et Pathologie Diabétiqueà L'île Dela Réunionidentification Et Caractérisation Des Propriétés Structurales Et Fonctionnelles De L'albumine Glyquée. *Thèse de doctorat* . Universite De La Reunion, Paris.
9. Belkheiri, N. (2010). Derives Phenoliques A Activites Antiatherogenes. *Thèse de doctorat* . L'université De Toulouse.

10. Ben Jemaa, H., Aouni, Y., Chihi, S., Khlifi, S., Ben Hmed, H., Karmous, L., et al. (2016). Effets antihypercholestérolémiants et antioxydant de l'extrait de *Crataegus azarolus* chez des rats ayant reçu un régime gras. *30*, 263.
11. Benhammou, N. (2011). Activité Antioxydante Des Extraits Des Composés Phénoliques De Dix Plantes Médicinales De l'Ouest Et Du Sud-Ouest Algérien. *Thèse de doctorat* . Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen, Algérie.
12. Betu, K. P. (2018). Recherche Des Molécules Bioactives Antidiabétiques Dans Les Extraits D'écorces De Racines De *Myrianthus Arboreus*. *Thèse de doctorat* . Université Laval.
13. Bonnefont, R. (2007). Stress Oxydant Et Vieillessement. *Spectra Biologie* , *157*, 23-27.
14. Bouaziz, A., Khenouf, S., Abdalla, S., Djidel, S., Abu Zarga, M., Bentahar, A., et al. (2014). Phytochemical Analysis, Antioxidant Activity And Hypotensive Effect Of Algerian Azarole(*Crataegus Azarolus L.*) Leaves Extracts. *5* (2), 286-305.
15. Boudraa, S. (2008). Etude de la fraction minéral et vitaminique des fruits de : *Celtis australis L* ; *Crataegus azaroulis L* ; *Crataegus monogyna Jacq* ; *Elaeagnus angustifolia L* et *Zizyphus Lotus L*. *Magister* . Université Elhadj Lakhedr, batna.
16. Boudraa, S. (2019). Influence des techniques de séchage et d'extraction sur les propriétés antioxydantes et fonctionnelles les des fruits de : *Crataegus azaroulis L* et *Elaeagnus angustifolia L*. *Thèse de doctorat* . Université Hadj lakheder.
17. Boudraa, S., Hambaba, L., Zidani , S., & Boudraa , H. (s.d.). Composition minérale et vitaminique des fruits de cinq espèces sous exploitées en Algérie : *Celtis australis L.*, *Crataegus azarolus L.*, *Crataegus monogyna Jacq.*, *Elaeagnus angustifolia L.* et *Zizyphus lotus L*. *Fruits*. *2010* , 75–84.
18. Bourkhiss, M., Hnach, M., Bourkhiss, B., Ouhssine, M., Chaouch, A., & Satrani, B. (2009). . Effet De Séchage Sur La Teneur Et La Composition Chimique Des Huiles Essentielles De *Tetraclinis Articulata (Vahl) Masters*. *20* (1), 4548.
19. Braz, C. S. (2019). Soc.Determination of the Antioxidant Capacity of Red Fruits by Miniaturized Spectrophotometry Assays. *5*, 1108-1114.

20. Burg, T. (2016). *Les Maladies Neurodégénératives* . Consulté le 04 25, 2017, sur Planet-Vie .
21. Chakass, M., Françoise, B. K., Reduron, J. P., & Verhille, A. M. (2008). Contribution à une étude palynologique de trois espèces de Rosacées (tribu des Pyrées) indigènes au Liban : *Pyrus syriaca* Boiss., *Crataegus azarolus* L., *C. monogyna* Jacq. *Gallica*. 521-529.
22. Cheurfa, M. (2015). Intérêt Des Biomolécules D'origine Végétale Sur La Santé. *Thèse de doctorat* . Chlef, Université hassiba Ben Bouali.
23. Christensen, K. (2012). Revision of *crataegus* sect. *crataegus* and nothosect. *crataeguinae* (rosaceae-maloideae) the old world. 35, 1-199.
24. communiqués. (2019). *à l'occasion de le journée mondiale de diabète, sanofi algérie lence sa campagne « diabetes. your type*. » pour une prise en charge plus personnalisée de diabète.* algérie.
25. Daira, N., Maazi, M. C., & Chefrour, A. (2016). Contribution à l'étude phytochimique d'une plante médicinale (*Ammoides verticillata* Desf-Briq-) de l'Est Algérien, *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*. 85, 276 – 290.
26. Delpéch, R. (2015). Etat Des Lieux Passé Et Actuel De L'insuline (Thérapies Et Procédés) Et Perspectives D'évolution. *Thèse de doctorat* . Université Toulouse Iii Paul Sabatie.
27. Desmier, T. (2016). Les Antioxydants De Nos Jours Definition Et Applications. *Thèse de doctorat* . Université De Limoges.
28. Diop, M. (2015). Formulation, Développement Et Validation De Systèmes Particulaires D'insuline En Vue De Leur Administration Par Voie Orale. *Thèse de doctorat* . Université De Strasbourg.
29. Drouet, F. (2004). F;variabilité du fruit de l'azérolier (*crataegus azarolus* L) .
30. EL-Haoud, H., Boufellous, M., Berrani, A., Tazougart, H., & Bengueddour, R. (2018). Screening phytochimique d'une plante medicinal (*Mentha Spicata* L). *American Journal of InnovativeResearch et sciences appliquées* .

31. Erika, F. (2019). *Diabète sucré*. Consulté le 2019, sur Le manuel MSD versino pour professionnels de la santé.
32. Farhat, R., Laroui, S., & Abdeddaim , M. (2014). Huiles profil en acides gras des amandes du *Crataegus azarolus* L. *Libanese Science*. 15.
33. Favie, A. (2003). Le Stress Oxydant Intérêt Conceptuel Et Expérimental Dans La Compréhension Des Mécanismes Des Maladies Et Potentiel Thérapeutique. *Mécanismes Biochimiques* , 108-115.
34. Garait, B. (2006). Le Stress Oxydant Induit Par Voie Metabolique (Regimes Alimentaires) Ou Par Voie Gazeuse (Hyperoxie) Et Effet De La Glisodin. *Thèse de doctorat* . Université Joseph-Fourier.
35. Guerin, D. A. (2014). Et Ude Des Modifications St Ruct Urales Et Fonctionnelles De L'albumine Dans Le Diabète De Type 2 : Identification De Biomarqueurs De Glycoxydation Et De Fact Eurs De Risque De Complications Vasculai. *Thèse de doctorat* . L'universit E De La Réunion.
36. Guillouty, A. (2016). Plantes Médicinales Et Antioxydants. *Thèse de doctorat* . Universite Toulouse Iii Paul Sabatier .
37. Gutteridge, J. M., & Halliwell, B. (1993). Invited Review Free Radicals In Disease Processes: A Compilation Of Cause And Consequence. *Free Radical Research Communications*. 3, 141-158.
38. Hadjadj, S. (2017). Analyses phytochimiques et activités biologiques des extraits de deux plantes médicinales du Sahara septentrional Est Algérien. *Thèse de doctorat* . Universite Kasdi Merbah, Ouargla.
39. Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). Le Stress Oxydant. *Rev Med Liege* , 62, 628-638.
40. Halliwell, B. (1999). How To Characterize A Biological Antioxidant. *Free Radic Res Commun* , 9, 1-32.
41. Jarald, E., Balakrishnan, S., & Chandra, J. (2008). Diabetes And Herbal Medicines. *IJPT January* , 7 (1), 97-106.

42. Kebieche, M. (2009). Activité Biochimique Des Extraits Flavonoïdiques De La Plante *Ranunculus Repens L* : Effet Sur Le Diabète Expérimental Et L'hépatotoxicité Induite Par L'epirubicine. *Thèse de doctorat* . Université Mentouri , Constantine.
43. Kebir, N. E. (2018). Propriétés du Lait de chamelle cru sur les profils glucidique et lipidique des rats Wistar rendus diabétiques par l'alloxane. *Thèse de doctorat* . Université Djillali Liabes.
44. Kehili, N. (2018). L'effet Protecteur D'un Antioxydant Naturel Contre Le Stress Oxydatif Induit Par Le Chlorure De Cadmium. *Thèse de doctorat* . Université Badji-Mokhtar-Annaba, Algérie.
45. Keser, S., Celik, S., Turkoglu, S., Yilmaz, Ö., & Turkoglu, I. (2014). The investigation of some bioactive compounds and antioxidant properties of hawthorn (*Crataegus monogyna subsp. monogyna Jacq*). *Intercult Ethnopharmacol* , 3, 53-55.
46. Khither, H. (2019). Etude Des Effets De La Thymoquinone Sur Le Stress Oxydant : Application L'hépatotoxicité Et L'arthrite Rhumatoïde Induites Chez Le Rat. *Thèse de doctorat* . Université Ferhat Abbas Sétif 1, Algérie.
47. Koechlin, R. C. (2006). Oxygène, Stress Oxydant Et Supplémentations Antioxydantes Ou Un Aspect Différent De La Nutrition Dans Les Maladies Respiratoires. 20, 165-177.
48. Kone, J. P. (2017). Etude De 5 Plantes Utilises Par Les Tradipraticiens De Sante BWA De La Commune I De Districti De Bamako Pour Le Traitement Traditionnel Du Diabète. *Thèse de doctorat* . Université Des Sciences de Bamako.
49. Koyuncu, T., Piner, Y., & Lule, F. (2007). Convective drying characteristics of azerole red (*Crataegus monogyna Jac*) and yellow (*Crataegusa ronia Bosc*) fruits. *Journal of Food Engineering* , 1471-1475.
50. Lakache, Z., Tigrine-Kordjani, N., Tigrine, C., Aliboudhar, H., & Kameli, A. (2016). Phytochemical screening and antioxidant properties of methanolic extract and different fractions of *Crataegus azarolus* leaves and flowers from Algeria. *International Food Research* , 23 (4), 1576-1583.

51. Lartey, N. L., Asare-Anane, H., Ofori, E. K., Antwi, S., Asiedu-Larbi, J., Ayertey, F., et al. (2020, février). Antidiabetic activity of aqueous stem bark extract of *Annickia polycarpum* alloxan-induced diabetic mice. *Journal of Traditional and Complementary Medicine* , 1-8.
52. Leandro, G. A. (2013). A.Eco-procédés Pour La Récupération Sélective D'antioxydants À Partir D'*Aronia melanocarpa* Ses Co-produits. *Thèse de doctorat* . Université Lille 1.
53. Mahmoudi, S., khali, M., & Mahmoudi, N. (2013). Etude De L'extraction Des Composés Phénoliques De Différentes Parties De La Fleur D'artichaut (*Cynara Scolymus* L.). *Nature & Technologie* , 9, 3540.
54. Makan, D. K. (2006). Les Diabetes Secondaires Dans Le Service De Medecine Interne De L'hôpital Du Point «G». *Thèse de doctorat* . Université De Bamako.
55. Margaret, C. (2016). *Rapport Mondial Sur Le Diabète*. Genève, Suisse: Bibliothèque de L'organisation Mondiale De La Santé (L'OMS).
56. Massart, A. (2011). Supplémentation En Oméga 3 Et Antioxydant Et Stress Oxydant Au Cours D'un Entraînement De Judo. *Thèse de doctorat* . Université D'orléans.
57. Medini, F., Ben Hamida, M., Atwi, A., & Ksouri, R. (2018). Effet De L'eco-extraction Sur Les Teneurs En Polyphénols Et L'activité Antioxydante Des Grains De *Lepidium Sativum*. *Journal Of New Sciences* , 54 (4), 3594-3602.
58. Medjdoub, H. (2013). Contribution à la recherche d'éventuelles activités biologiques de *Zygophyllum geslini* Coss. *Thèse de doctorat* . Université Abou Bekr Belkaid.
59. Migdal, c., & Serres, m. (2011). espèces réaction de l'oxygène et stress oxydant. *médecine sciences* , 27, 405-412.
60. N'guessan, Kadja, B., Zirihi, G. N., Traoré, D., & Aké-Assi, L. (2009). Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Kroubo (Agboville, Côte-d'Ivoire), *Sciences & Nature*. 6, 1 – 15.
61. Naceiri mrabti, H. (2018). Étude Pharmacologique Toxicologique de l'*Arbutus unedo* L. au Maroc. *Thèse de doctorat* . Université Mohammed V de Rabat, Maroc.

62. Oueslati, S., Gharsalli, W., Abdelkarim, M., Ben Aissa-Fennira, F., & Ksouri, R. (2018). Evaluation biochimique et exploration des potentialités antioxydantes, antibactérienne et anticancéreuse de *Zingiber officinale*. *Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology* , 54 (1), 3561-3568.
63. Pastre, J. O. (2005). Interêt De La Supplémentation En Antioxydants Dans L'alimentation Des Carnivores Domestiques. . *Thèse de doctorat* . L'université Paul-sabatier De Toulouse.
64. Perrotte, M. (2019). Dentification D'un Profil De Marqueurs Périphériques Lié Aux Scores Cognitifs Dans Le Plasma Et Les Vésicules Extracellulaires Durant Développement De La Maladie D'alzheimer : Évolution De Marqueurs Liés Au Stress Oxydatif Et Aux Mécanismes Physiopatho. *Thèse de doctorat* . Université Du Québec.
65. Poisson, C. (2013). Rôle Du Stress Oxydant Au Niveau Hépatique Et Rénal Dans La Toxicité De L'uranium Après Exposition Chronique. *Thèse de doctorat* . Université Paris-sud 11, paris.
66. Potel, A. M. (2002). *Les Plantes Médicinales Au Sénégal*. Rapport du stage, Nguekokh Sénégal.
67. Prior, R., & Schaich, K. (2005). Standardized Methods For The Determination Of Antioxidant Capacity And Phenolics I N Foods And Dietary Supplements. *Agricultural And Food Chemistry* , 53, 4290-4302.
68. Rajeb, C., Messaoud, C., Chograni, H., Bejaou, A., Boulila , A., Rejeb, M., et al. (2010). Genetic diversity in Tunisian *Crataegus azarolus* L. var. *aronia* L. populations assessed using RAPD markers. *67* , 512.
69. Ribot, J. (2016). . Impact Du Diabète De Type 2 Sur La Fonctionnalité Et Le Potentiel Angiogénique Des Cellules Souches Mésenchymateuses. *Thèse de doctorat* . Université Paris-Est.
70. Saadoudi, M. (2008). Etude De La Fraction Glucidique Des Fruits De : *Celtis Australis* L., *Crataegus Azarolus* L., *Crataegus Monogyna* Jacq., *Elaeagnus Angustifolia* L. Et *Zizyphus Lotus* L.

71. Saadoudi, M., Hamebaba, L., & Abdeddaim , M. (2012). Study of the Glucidic Fraction of *Celtis Australis* L, *Crataegus Azarolus* L, *Crataegu Monogyna* Jacq., *Elaeagnus Angustifolia* L. and *Zizyphus Lotus* L. Fruits. *06*.
72. Tahri, N., El Basti, A., Zidane, L., Rochdi, A., & Douira, A. (2012). Etude Ethnobotanique Des Plantes Medicinales Dans La Province De Settat. *Forestry Faculty* , *12* (2), 192-208.
73. Talbi, H., Boumaza, A., El-mostafa, K., Talbi, J., & Hilali, A. (2015). Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L. *Environ. Sci* , *6*, 1111-1117.
74. www.namassté.fr. (s.d.). Récupéré sur L'hydrogène moléculaire, le plus puissant antioxydant et anti-âge au monde.
75. Yosri, N. (2016). Stress Oxydant Et Infarctus Du Myocarde. *Thèse de doctorat* . L'université Paris Sud, Paris.
76. Zerargui, F. (2015). Activité Antioxydante Des Extraits De Racines *Tamus Communis* L. Et Caractérisation Des Substances Bioactives. *Thèse de doctorat* . Université Ferhat Abbas Sétif 1, Algérie.
77. Zidi, S. (2010). Contribution A L'Etude De L'Effet Antidiabétique Potentiel D'Un Extrait Aqueux De *Crataegus Azarolus* Chez Des Rats Wistar Avec Un Diabète Induit A L'Alloxane. [Ressource Textuelle, Sauf Manuscrits. *Thèse de doctorat* . Université Badji Mokhtar, Algérie.