

N° d'ordre... الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITÉ DJILLALI LIABES DE SIDI BEL ABBES
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
Département des Sciences de l'Environnement

THESE DE DOCTORAT EN SCIENCES

Présentée par :

Mme HAMDAOUI MOKHTARIA

Spécialité : Sciences de l'environnement

Option : Biodiversité végétale et valorisation

**Valorisation biochimique et comportement germinatif
de *Crataegus monogyna* Jacq. du mont de Tessala
(Algérie occidentale)**

Soutenue le

Devant l'honorable jury composé de :

Président de jury : Mr LATRECHE ALI (Professeur, UDL SBA).

Examineur : Mr CHADLI RABAH (Professeur, Univ. Ibn Badis, Mostaganem).

Examineur : Mr MEKHALDI ABDELKADER (Professeur, Univ. Ibn Badis,
Mostaganem).

Examineur : Mr BEKADA AHMED MOHAMED ALI (Professeur, centre universitaire de
Tissemsilt).

Directeur de thèse : Mr MEHDADI ZOHEIR (Professeur, UDL SBA).

Année universitaire 2017 – 2018.

Résumé

Valorisation biochimique et comportement germinatif de *Crataegus monogyna* Jacq. du mont de Tessala (Algérie occidentale)

Notre thèse a pour objectifs la valorisation biochimique de *Crataegus monogyna* Jacq. et l'étude du comportement germinatif de ses graines.

Concernant la valorisation biochimique, il s'agit de : - tester le pouvoir antimicrobien des extraits aqueux, éthanoliques et méthanoliques des feuilles, fleurs et fruits de *C. monogyna* sur la croissance de trois souches bactériennes : *Bacillus cereus* (ATTC 10876), *Escherichia coli* (ATTC 25922) et *Proteus mirabilis* (ATTC 35659) et deux souches fongiques : *Candida albicans* (ATTC 10231) et *Aspergillus brasiliensis* (ATTC 16404) en utilisant la méthode de diffusion en milieu solide ; - évaluer l'activité antioxydante des extraits suscités en utilisant le test de DPPH et de caractériser quantitativement et qualitativement par chromatographie sur couche mince (CCM) les polysaccharides pariétaux (cellulose, hémicelluloses, pectines hautement méthylées et pectines faiblement méthylées) des feuilles et des fruits de *C. monogyna*. Par ailleurs, l'effet de quelques prétraitements physico-chimiques (stratification combinée chaude-froide et scarification par l'acide sulfurique (H_2SO_4 à 98%)) pour améliorer le pouvoir germinatif des graines de *C. monogyna* a été également élucidé.

Les résultats obtenus montrent que l'eau présente une capacité d'extraction des substances bioactives contenues dans les organes analysés supérieure par rapport aux solvants organiques (éthanol et méthanol).

Candida albicans est sensible à tous les extraits préparés surtout l'extrait méthanolique où les molécules bioactives ayant un pouvoir inhibiteur sont mieux représentées dans les fruits et les fleurs, et moyennement dans les feuilles. Les extraits méthanolique, éthanolique et aqueux des fleurs ont engendré des zones d'inhibition importantes sur *Proteus mirabilis*. *Escherichia coli* est très sensible à l'extrait éthanolique des fruits et moyennement sensible à l'extrait méthanolique des trois organes. *Aspergillus brasiliensis* et *Bacillus cereus* résistent à tous les extraits, à l'exception de la concentration mère de l'extrait méthanolique des feuilles qui a inhibé la croissance de *Bacillus cereus*.

Les extraits méthanoliques des feuilles, fruits et fleurs présentent une activité antioxydante importante vu leur efficacité à capter les radicaux libres, suivis par les extraits éthanoliques. Les extraits aqueux, par contre, manifestent une faible activité antioxydante. Les fleurs ont une activité antioxydante plus importante que celle des feuilles et des fruits.

Les feuilles et les fruits de *C. monogyna* renferment des quantités très importantes en polysaccharides pariétaux (cellulose, hémicelluloses, pectines hautement et faiblement méthyles) avec une diversité monosaccharidique (glucose, galactose, arabinose et xylose).

Les tests de germination ont fait ressortir que les graines de *C. monogyna* sont affectées d'une dormance complexe (inhibition tégumentaire associée à une dormance embryonnaire). Cette inaptitude à la germination a pu être levée par une scarification chimique par l'acide sulfurique à 98% suivie d'une stratification chaude-froide en enregistrant les meilleurs capacités de germination et coefficients de vélocité ainsi que les temps de latence les plus courts aux températures continues 20°C et 25°C.

Mots clés : *Crataegus monogyna* Jacq., valorisation biochimique, polysaccharides pariétaux, activité antimicrobienne, activité antioxydante, graines, germination.

ملخص

التقييم البيوكيميائي والسلوك الإنتاشي لـ *Crataegus monogyna* Jacq. لجبل تسالة (الجزائر الغربية)

رسالتنا تهدف إلى التقييم البيوكيميائي ودراسة السلوك الإنتاشي لنبتة طبية (*Crataegus monogyna* Jacq.) تنمو بجبل تسالة.

التقييم البيوكيميائي يتضمن ما يلي :- اختبار القدرة المضادة للميكروبات للمستخلصات المائية , الايثانولية و الميثانولية للأوراق والثمار والزهور على تثبيط نمو ثلاث سلالات بكتيرية: *Escherichia coli* (ATTC25922), *Bacillus cereus* (ATTC 10876), *Proteus mirabilis* (ATTC 35659) وسلالتين من الفطريات *Candida albicans* (ATTC 10231) و *Aspergillus brasiliensis* (ATTC 16404) باستخدام طريقة الانتشار في الوسط الصلب (تقنية الأقراص الورقية)- تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات المحضرة سابقا مستعملين اختبار DPPH.

دراسة الخصائص الكمية والنوعية لمتعدد السكريات للجدار الخلوي -الجدار السيليلوزي- (السليولوز ، الايميسيليلوز، البكتينات قوية الجذور الميثيلية والبكتينات ضعيفة الجذور الميثيلية) للأوراق والثمار. *Crataegus monogyna* Jacq. بواسطة تقنية الكروماتوغرافيا على الطبقة الرقيقة (CCM), وكذلك تأثير بعض المعالجات الفيزيوكيميائية (الحرارة- البرودة و حمض الكبريت (H_2SO_4 بنسبة 98%)) لتحسين القدرة الانتاشية للبذور.

النتائج المتحصل عليها تبين ان الماء له قدرة مرتفعة لاستخلاص المواد النشطة بيولوجيا الموجودة في الأعضاء الثلاثة للنبتة مقارنة بالمذيبات العضوية (الايثانول والميثانول).

Candida albicans حساسة لجميع المستخلصات خاصة المستخلصات الميثيلية, بحيث المواد النشطة بيولوجيا توجد بكمية مرتفعة في الأزهار و الثمار مقارنة بالأوراق. المستخلصات المائية, الايثيلية و الميثيلية حققت مناطق تثبيط هامة على *Proteus mirabilis*.

Escherichia coli حساسة للمستخلصات الايثيلية للثمار ومتوسطة الحساسية للمستخلصات الميثيلية للأعضاء الثلاثة. *Aspergillus brasiliensis* و *Bacillus cereus* قاومت جميع المستخلصات باستثناء التركيز الأم للمستخلص الميثيلي للأوراق الذي ثبت نمو *Bacillus cereus*.

المستخلصات الميثيلية للأوراق , الأزهار و الثمار أظهرت نشاطا مضادا للأكسدة جد هام، نظرا لفعاليتها في الاتحاد مع الجذور الحرة، تليها المستخلصات الايثيلية. في ما يخص المستخلصات المائية أبدت نشاطا مضاد للأكسدة منخفض. الأزهار لديها نشاط مضاد للأكسدة أكثر أهميه مقارنة بالأوراق والثمار.

تحتوي الأوراق والثمار على كميات هامة من الألياف (السليولوز ، الايميسيليلوز، البكتينات قوية الجذور الميثيلية والبكتينات ضعيفة الجذور الميثيلية ،) مع تنوع في السكريات الأحادية (الجلوكوز ، الجالاكتوز ، الأرابينوزو الكزيلوز).

أظهرت اختبارات السلوك الإنتاشي أن بذور *Crataegus monogyna* Jacq. تعاني من حياة بطيئة معقدة (حياة بطيئة للرشيم (الجنين), والغشاء الخارجي للبذرة سميك و صلب) ويمكن رفع هذا العجز في الإنبات بواسطة المعالجة الكيميائية بواسطة حمض الكبريت (H_2SO_4 بنسبة 98%) تتبع بواسطة المعالجة بالحرارة والبرودة, حيث تم تسجيل أفضل قدرات الإنتاش ومعامل اللزوجة و أقصر وقت للإنتاش في درجات الحرارة المستمرة 20 °C و 25 °C.

الكلمات. *Crataegus monogyna* Jacq. التقييم البيوكيميائي ، متعدد السكريات للجدار الخلوي، النشاط المضاد

المفتاحية: للميكروبات، النشاط المضاد للأكسدة ،البذور، الانتاش.

Abstract

Biochemical valorization and germinative comportment of *Crataegus monogyna* Jacq. of the mont of Tessala (western Algeria)

Our thesis aims to the biochemical valorization of *Crataegus monogyna* Jacq., and the study of the germ behavior of its seeds.

Concerning the biochemical valorization, these are : - test the antimicrobial power of the aqueous, ethanolic and methanolic extracts of the leaves, flowers and fruits of *C. monogyna* on the growth of three bacterial strains: *Bacillus cereus* (ATTC 10876), *Escherichia coli* (ATTC 25922) and *Proteus mirabilis* (ATTC 35659) and two fungal strains: *Candida albicans* (ATTC 10231) and *Aspergillus brasiliensis* (ATTC 16404) using the solid medium diffusion method ; -to evaluate the antioxidant activity of extracts prepared previously using the DPPH test, and to characterize quantitatively and qualitatively by thin-layer chromatography (CCM) the wall polysaccharides (cellulose, hemicelluloses, pectins (highly methylated and low methylated pectins) of the leaves and fruits of *C. monogyna*. In addition, the effect of some physico-chemical pretreatments (warm-cold stratification and scarification with sulfuric acid (H_2SO_4 at 98%) for improving the germinative power of seeds of *C. monogyna* was also elucidated.

The results show that the water has the very high ability to extract bioactive substances from the analyzed organs than the organic solvents (ethanol and methanol).

Candida albicans is sensitive to all extracts prepared especially the methanolic extract, where bioactive molecules with inhibitory power are better represented in fruits and flowers, than the leaves which contain a medium quantity of this molecules. The methanolic, ethanolic and aqueous extracts of the flowers induced an important inhibition zones on *Proteus mirabilis*. *Escherichia coli* is highly sensitive to the ethanolic extract of the fruits and moderately sensitive to the methanolic extract of the three organs. *Aspergillus brasiliensis* and *Bacillus cereus* resisted to all extracts, with the exception of the mother concentration of the methanolic extract of the leaves, which inhibited the growth of *Bacillus cereus*.

Methanolic extracts of the leaves, fruits and flowers exhibit an important antioxidant activity, seen their influence in capturing free radicals, followed by ethanolic extracts. While the aqueous extracts exhibit low antioxidant activity, the flowers have an antioxidant activity more important than that of leaves and fruits.

The leaves and fruits of *C. monogyna* contain an important quantities of wall polysaccharides (cellulose, hemicelluloses, highly and low-methyl pectins) with a monosaccharide diversity (glucose, galactose, arabinose, and xylose).

Germination tests showed that the seeds of *C. monogyna* were affected by complex dormancy (integumentary inhibition associated with embryonic dormancy). This germination incapacity could be lifted by a chemical scarification using sulfuric acid at 98% followed by warm-cold stratification, by registering the best germination capacities, velocity coefficients and the very short latency time at continuous temperatures 20 °C and 25 °C.

Key words: *Crataegus monogyna* Jacq., Biochemical valorization, wall polysaccharide, antimicrobial activity, antioxidant activity, seeds, germination.

Remerciements

Je remercie tout d'abord ALLAH tout puissant de m'avoir donné la patience, la santé et la volonté pour réaliser cette étude.

Je tiens particulièrement à remercier monsieur MEHDADI ZOHEIR, Professeur à l'université Djillali Liabès, Sidi Bel Abbès, qui a accepté de m'accueillir au laboratoire de recherche de Biodiversité Végétale et Valorisation (Conservation & Valorisation), grâce à lui cette étude n'aurait jamais été entreprise ni achevée sans son assistance, ses conseils et ses orientations, qui m'ont permis d'améliorer la qualité de ce travail. Je lui témoigne ici de ma gratitude et ma reconnaissance.

J'exprime mes remerciements aux membres de jury d'avoir accepté d'examiner notre travail et de faire partie du jury de cette thèse. Je les remercie également pour leur disponibilité et leur collaboration. Il s'agit de :

Monsieur le président de jury, LATRECHE ALI, Professeur à l'Université Djillali Liabès de Sidi Bel Abbès,

Monsieur CHADLI RABAH, professeur à l'Université Ibn Badis de Mostaganem (membre examinateur),

Monsieur MEKHALDI ABDELKADER, professeur à l'Université Ibn Badis de Mostaganem (membre examinateur),

Monsieur BEKADA AHMED MOHAMED ALI professeur au Centre Universitaire de Tissemsilt (membre examinateur).

Je remercie également M^{elle} LINDA AOUED, Ingénieur de Laboratoire de Microbiologie à la faculté de médecine, Université Djillali Liabès de Sidi bel Abbès, pour son aide et sa disponibilité. Aussi, je ne saurai oublier de remercier monsieur SAHNNOUNE, Professeur à l'Université Djillali Liabès de Sidi Bel Abbès pour ses conseils et sa disponibilité.

Mes remerciements s'adressent également à l'ensemble du personnel du laboratoire de recherche Biodiversité Végétale et Valorisation et le laboratoire pédagogique de Biochimie (faculté des sciences de la nature et de la vie) et le laboratoire de Chimie Organique (faculté des sciences exactes) de l'université Djillali Liabès de Sidi Bel Abbès pour leur soutien permanent, pour leur disponibilité et leurs encouragements.

Je remercie aussi ceux et celles qui m'ont aidé ou encouragé, à quelque titre ou degré que ce soit, à entreprendre et à achever cette étude, qui est ma modeste contribution au domaine de la Recherche Scientifique.

Et enfin, je remercie mes collègues et mes amies pour les sympathiques moments qu'ont a passé ensemble.

Dédicaces

*Je dédie ce modeste travail à mes parents, qu'ils trouvent ici
toute ma gratitude pour leur soutien tout au long de mes
études.*

A mon mari ABD ALLAH et mon fils ABD El SAMED.

A mes sœurs et mes frères.

A mes neveux sans exception.

A toute ma famille et à tous qui m'ont connu.

*A mes proches amies sans exception qui m'ont toujours
soutenu et encouragé même dans les périodes les plus
difficiles surtout Hakima.*

*A mes collègues de travail sans exception surtout les
professeurs des sciences naturelles.*

Tables des matières

Résumés

Introduction	01
---------------------------	----

Partie I : Etude bibliographique

Chapitre I : Présentation de l'espèce <i>Crataegus monogyna</i> Jacq	04
I. Présentation de l'espèce <i>Crataegus monogyna</i> Jacq.....	04
1.1. Description botanique.....	04
I.2. Classification.....	05
I.2.1 Classification classique.....	05
I.2.2. Selon la classification des plantes à fleurs de Cronquist (1981).....	05
I.2.3. Place du taxon dans la classification APG II.....	05
I.2.4. Place du taxon dans la classification APG III (2009).....	06
I.3. Aire de répartition.....	06
II. Composées polyphénoliques de <i>Crataegus monogyna</i> Jacq.....	07
II.1. Dans les feuilles.....	07
II.2. Dans les fleurs.....	07
II.3. Dans les fruits.....	07
III. Principales propriétés pharmacologiques de <i>Crataegus monogyna</i> Jacq.....	08
III.1. Cardiotonique.....	08
III.2. Action sédatrice sur le système nerveux central.....	08
III.3. Autre actions.....	08
IV. Toxicité.....	08
V. Exigences édapho-climatiques et multiplication.....	09
VI. Rôle écologique.....	09
VII. Ravageurs et maladies.....	09
Chapitre II : Histoire et usages traditionnels du genre <i>Crataegus</i>	11
I. Introduction.....	11
I.1. Histoire et usages traditionnels.....	11
I.1.1. Usage traditionnels décrits dans les pays occidentaux.....	11
I.1.2. Usage traditionnels décrits dans le monde Maghrébin.....	12
II. Activités pharmacologiques.....	13
II.1. Activité cardiotonique.....	13

II.2. Activité antiarythmique.....	13
II.3. Activité hypolipidémique.....	13
II.4. Activité antioxydante.....	13
II.5. Activité hypotensive.....	14
II.6. Etudes cliniques.....	14
III. Composition en métabolites secondaires des espèces du genre <i>Crataegus</i>	14
III.1. Composés phénoliques dans les aubépines.....	14
III.1.1. Les procyanidines.....	15
III.1.2. Les flavonols et les glycosides de flavonols.....	16
III.1.3. Glycosyl de flavones.....	17
III.1.4. Les acides triterpéniques.....	18
III.2. Autres composés phénoliques.....	19
III.3. Autres composés.....	20
Chapitre III: Données générales sur les composés phénoliques	21
I. Généralités.....	21
I.2. Rôle physiologique des composés phénoliques.....	22
II. Les différentes classes des composés phénoliques.....	23
II.1. Les flavonoïdes.....	23
II.1.1. Localisation des flavonoïdes.....	24
II.1.2. Structure et origine des flavonoïdes.....	24
II.1.3. Principales classes de flavonoïdes.....	27
II.1.3.1. Flavones et flavonols.....	27
II.1.3.2. Flavanones et dihydroflavonols	27
II.1.3.3. Les anthocyanes.....	28
II.1.4. Activités biologiques et intérêts pharmacologiques des flavonoïdes.....	29
II.2. Les acides phénoliques et les coumarines.....	30
II.2.1. Les acides phénoliques.....	30
II.2.1.1 Les acides hydroxybenzoïques.....	30
II.2.1.2. Les acides hydroxycinnamiques.....	31
II.2.2. Les coumarines.....	31
II.2.2.1. Activités biologiques et intérêts pharmacologiques des coumarines.....	32
II.2.2.2. Toxicité des coumarines.....	33
II.3. Les tannins.....	34

II.3.1. Structure chimique et classification.....	34
II.3.1.1.Tannins hydrolysables.....	34
II.3.1.2.Tannins condensés.....	35
II.3.2. Biosynthèse des tannins.....	36
II.3.3.Toxicité des tannins.....	37
II.3.4. Activité biologique et intérêt pharmacologique des tanins.....	37
Chapitre IV : Données générales sur les polysaccharides.....	39
I. Polysaccharides de structures (La paroi végétale).....	39
I.1. Structure de la paroi végétale.....	39
I.2. Rôle de la paroi végétale.....	40
I.3. Composition polysaccharidique de la paroi végétale.....	40
I.3.1. La Cellulose.....	40
I.3.1.1. Structure de la cellulose.....	41
I.3.2. Les hémicelluloses.....	42
I.3.2.1. Les différents types d'hémicelluloses.....	43
I.3.2.1.1. Les xyloglucanes.....	43
I.3.2.1.2. Les xylanes.....	43
III.3.2.1.3. Les mannanes	44
III.3.2.1.4. Les β -1,3 ; 1,4-glucanes.....	45
I.3.2.2. Biosynthèse des hemicelluloses.....	45
I.3.2.3. Propriétés et applications.....	45
I.3.3. Les lignines.....	46
I.3.3.1. Structure des lignines.....	46
I.3.3.2. Les différents types de lignine.....	48
I.3.3.2.1. La protolignine.....	48
I.3.3.2.2. Les lignines analytiques.....	48
I.3.3.2.3. Les lignines techniques.....	48
I.3.3.3. Propriétés chimiques des lignines.....	48
I.3.3.4. Rôle des lignines.....	48
I.3.4. Les pectines.....	49
I.3.4.1.Structure des pectines.....	49
I.3.4.2. Les différentes classes des pectines.....	51
I.3.4.2.1. Les homogalacturonanes (HG).....	51

I.3.4.2.2. Les rhamnogalacturonanes I (RGI).....	51
I.3.4.2.3. Les rhamnogalacturonanes II (RGII).....	51
I.3.4.3. Rôle des pectines.....	51
I.3.5. Autres constituants.....	51
II. Les polysaccharides de réserve.....	52
II.1. L'amidon.....	52
II.2. Les fructanes.....	52
II.3. La caroube.....	53
II.4. Le Guar.....	53
III. Les exsudats et les mucilages.....	53
III.1. Exsudats (les gommes).....	53
III.2. Les mucilages.....	54
IV. Intérêts des polysaccharides.....	55
IV.1. Dans le domaine industriel.....	55
IV.2. Dans le domaine thérapeutique.....	56

Partie II : Etude expérimentale

Chapitre V : Matériel et méthodes.....	57
I. Matériel biologique	57
II. Méthodes d'étude	58
II.1. Détermination de la teneur en eau	58
II.2. Détermination de la teneur en cendres totales	58
II.3. Etude de l'activité antibactérienne et antifongique	59
II.3.1. Préparation des extraits.....	59
II.3.2. Méthodes d'étude de l'activité antibactérienne antifongique.....	60
II.3.2.1. Pré-culture et préparation de l'inoculum.....	61
II.3.2.2. Ensemencement.....	61
II.3.2.3. Dépôt des disques et incubation.....	61
II.3.2.4. Sensibilité des souches vis-à-vis des antibiotiques et des antifongiques.....	62
II.3.2.5. Expression des résultats.....	62
II.4. Evaluation de l'activité antioxydante (test au DPPH).....	62
II.4.1. Expression des résultats.....	63
II.5. Extraction et quantification des polysaccharides pariétaux : cellulose, hémicelluloses et pectines.....	63

II.5.1. Préparation du résidu pariétal.....	63
II.5.2. Délignification du résidu parietal.....	63
II.5.3. Extraction de la cellulose et des hémicelluloses.....	64
II.5.4. Extraction des pectines.....	64
II.6. Caractérisation des sucres des polysaccharides pariétaux par chromatographie sur couche mince (CCM).....	65
II.6.1. Hydrolyse acide partielle.....	65
II.6.2. Hydrolyse acide totale.....	65
II.6.3. Expression des résultats.....	66
II.7. Effet de quelques prétraitements physico-chimiques sur la physiologie de germination des graines.....	66
II.7.1. Sélection des graines.....	66
II.7.2. Prétraitement des graines et mise en germination.....	66
II.7.3. Expression des résultats.....	67
II.8. Traitement statistique des données.....	67
Chapitre VI : Résultats et discussion.....	69
I. Teneurs en eau, matière sèche, cendres totales et matière organique.....	69
II. Rendement des extraits	70
III. Tests biologiques.....	72
III.1. Evaluation de l'activité antibactérienne et antifongique	72
III.2. Evaluation du pouvoir antioxydant.....	83
IV. Evaluation des polysaccharides pariétaux	88
IV.1. Teneurs moyennes en résidu pariétal, extractibles, résidu pariétal délignifié et lignines des feuilles et des fruits de <i>C. monogyna</i> Jacq.....	88
IV.2. Teneurs moyennes en cellulose, hémicelluloses, pectines hautement méthylées et pectines faiblement méthylées des feuilles et des fruits de <i>C. monogyna</i> Jacq.....	89
IV.3. Caractérisation qualitative des polysaccharides pariétaux par chromatographie sur couche mince (CCM).....	91
V. Effet des traitements physiques et chimiques sur la germination des graines de <i>C. monogyna</i>	98
V.1. Capacité de germination	98
V.2. Coefficient de vélocité.....	100
V.3. Temps de latence.....	101

Conclusion générale.....	105
Références bibliographiques.....	109

Liste des figures

Figure 01 : Présentation de l'espèce <i>C. monogyna</i> Jacq., (a, b) : au moment de floraison, (c): au moment de fructification.....	04
Figure 02 : Les majeurs procyanidines du <i>Crataegus ssp</i>	15
Figure 03 : Flavonols et <i>O</i> -glycosides de flavonols et flavones de <i>crataegus ssp</i>	16
Figure 04 : <i>C</i> -glycosides de flavones reporté dans les aubépines.	18
Figure 05 : Les acides triterpéniques dans les aubépines.....	19
Figure 06 : Structure générale d'un flavonoïde.....	24
Figure 07 : Biosynthèse des flavonoïdes.....	26
Figure 08 : Quelques exemples de flavones et flavonols.....	27
Figure 09 : Quelques exemples des flavanones et dihydroflavonols.....	28
Figure 10 : Structure du noyau flavylum ou 2- phénylbenzopyrilium.....	29
Figure 11 : Quelques exemples d'acides phénols dérivés de l'acide benzoïque.....	30
Figure 12 : Quelques exemples d'acides phénols dérivés de l'acide cinnamique (C6-C3).....	31
Figure 13 : Squelette de base des coumarines.....	31
Figure 14 : Structure des tannins hydrolysables et des acides associés.....	35
Figure 15 : Structure de tannins condensés.....	36
Figure 16 : Voie de synthèse des tannins.....	36
Figure 17 : Synthèse des gallotannins et ellagitannins à partir du pentagalloylglucose.....	37
Figure 18 : Vue perspective d'une paroi ligneuse.....	40
Figure 19 : Représentation de la chaîne de cellulose.....	41
Figure 20 : Vue perspective d'une fibre de cellulose.....	42
Figure 21 : Quelques sucres importants entrant dans la composition des hémicelluloses.....	43
Figure 22 : Structure des monolignols et des acides hydroxycinnamiques précurseurs.....	47
Figure 23 : Schéma structural de la lignine.....	47

Figure 24 : Représentation schématique de la structure d'une macromolécule pectique a) selon la représentation conventionnelle et b) selon le nouveau modèle proposé par Vinckenet <i>al.</i> (2003).....	50
Figure 25 : Dérivés des sucres dans les pectines.....	50
Figure 26 : Feuilles (a), fruits (b) et fleurs (c) de <i>Crataegus monogyna</i> Jacq.....	57
Figure 27 : Représentation du fruit de <i>Crataegus monogyna</i> Jacq. Fruits secs (a), graines (b), amandes (c), téguments(d).....	58
Figure 28 : Schéma d'extractions à l'eau (infusion).....	59
Figure 29 : Schéma d'extraction à l'éthanol ou méthanol.....	60
Figure 30 : Rendement en extraits bruts (en g/15g) des extraits éthanolique, méthanolique et aqueux des feuilles, fleurs et fruits de <i>C. monogyna</i>	71
Figure 31 : Capacité inhibitrice des extraits méthanoliques, éthanoliques et aqueux des feuilles, fruits et fleurs de <i>C. monogyna</i> sur <i>Candida albicans</i> (ATTC 10231).....	75
Figure 32 : Capacité inhibitrice des extraits méthanoliques, éthanoliques et aqueux des feuilles, fruits et fleurs de <i>C. monogyna</i> sur <i>Proteus mirabilis</i> (ATTC 35659).....	76
Figure 33 : Capacité inhibitrice des extraits méthanoliques des feuilles, fruits et fleurs et d'extrait éthanolique des fruits de <i>C. monogyna</i> sur <i>Escherichia coli</i> (ATTC 25922).....	77
Figure 34 : Capacité inhibitrice de l'extrait méthanolique des feuilles sur <i>Bacillus cereus</i> ATTC (10876).....	78
Figure 35 : Capacité inhibitrice des antibiotiques et antimycotique standards Imipénème : IPM (10); Ceftazidime : CAZ (30) et Fengezone sur les différents souches étudiées.....	80
Figure 36 : Profils de l'activité antiradicalaire des extraits méthanoliques des feuilles, fruits et fleurs de <i>Crataegus monogyna</i>	84
Figure 37 : Profils de l'activité antiradicalaire des extraits éthanoliques des feuilles, fruits et	

fleurs de <i>Crataegus monogyna</i>	84
Figure 38: Profils de l'activité antiradicalaire des extraits aqueux des feuilles, fruits et fleurs de <i>Crataegus monogyna</i>	85
Figure 39 : Profils de l'activité antiradicalaire du Hydroxy Toluène Butylé (BHT).....	85
Figure 40 : Pourcentages moyens en résidu pariétal et extractibles dans les feuilles et fruits de <i>C. monogyna</i>	88
Figure 41 : Pourcentages moyens en résidu pariétal délignifié et en lignines dans les feuilles et fruits de <i>C. monogyna</i>	88
Figure 42 : Teneurs moyennes en cellulose, hémicelluloses, pectines hautement méthylées et pectines faiblement méthylées dans les feuilles et fruits de <i>C. monogyna</i> dans 5g de RPD.....	90
Figure 43 : Les différentes fractions polysaccharidiques extraites à partir des feuilles et fruits de <i>C. monogyna</i>	90
Figure 44 : Chromatographie sur couche mince de la gamme étalon utilisée Glu: glucose, Gal: galactose, Man: mannose, Ara: arabinose, Rha: rhamnose, Fru: fructose, Xyl: xylose.....	92
Figures 45 : Caractérisation qualitative des monosaccharides des hydrolysats des polysaccharides pariétaux des feuilles de <i>C. monogyna</i> . par chromatographie sur couche mince.....	93
Figure 46 : Caractérisation qualitative des monosaccharides des hydrolysats des polysaccharides pariétaux des fruits de <i>C. monogyna</i> par chromatographie sur couche mince.....	93
Figure 47 : Temps de latence moyens à 20 °C.....	101
Figure 48 : Temps de latence moyens à 25°C.....	102

Liste des tableaux

Tableau 01 : Les trois grandes classes de métabolites secondaires.....	21
Tableau 02 : Les différents types des coumarines.....	32
Tableau 03 : Applications des hémicelluloses.....	46
Tableau 04 : Teneurs moyennes en eau, matière sèche, cendres totales et matière organique dans les feuilles, fleurs et fruits de <i>C. monogyna</i>	69
Tableau 05 : Rendement en g / 15 g des différents extraits des feuilles, fruits et fleurs de <i>C. monogyna</i>	70
Tableau 06 : Diamètres de la zone d'inhibition (en mm) induits par les différentes concentrations en extraits testés sur les souches bactériennes et fongiques.....	73
Tableau 07 : Résultats de l'antibiogramme et de l'antifongigramme sur la croissance des souches bactériennes et fongiques.....	79
Tableau 08 : IC ₅₀ moyen en µg/ml des différents extraits des feuilles, fruits et fleurs de <i>C. monogyna</i>	83
Tableau 09 : Teneurs moyennes en cellulose, hémicelluloses, pectines hautement méthylées et pectines faiblement méthylées dans les feuilles et fruits de <i>C. monogyna</i> , dans 5g de résidu pariétal délignifié (RPD).....	89
Tableau 10 : Caractérisation qualitative en monosaccharides des polysaccharides pariétaux (cellulose, hémicellulose, pectines hautement méthylées et pectines faiblement méthylées) des feuilles et fruits de <i>C.monogyna</i> Jacq., par chromatographie sur couche mince.....	94
Tableau 11 : Capacités de germination moyennes à 20 °C.....	98
Tableau 12 : Capacités de germination moyennes à 25 °C.....	99
Tableau 13 : Pourcentages des coefficients de vitesse moyens à 20 °C.....	100
Tableau 14 : Coefficients de vitesse moyens à 25°C.....	101

Liste des abréviations

m : mètre.	mg /100 ml : milligramme par 100 millilitre.
mm : millimètre.	mn : minute.
fig : figure.	µg / ml : microgramme par millilitre.
% : pourcent.	IC ₅₀ : la concentration d'antioxydant requise
ECG : électro-cardio-gramme.	pour diminuer la concentration du DPPH initiale
ssp : sous espèces.	de 50 %.
LDL : Law density lipoproteines.	DPPH : Diphényle picryl-hydrazyle.
g : gramme.	V : volume.
mg/jour : milligramme par jour.	tr / min: tour par minute.
g/jour : gramme par jour.	pH : le potentiel hydrogen.
UV : ultraviolet.	N: normalité.
µm : micro-mètre.	g/ml : gramme par millilitre.
°C: degré Celsius.	g/15g : gramme par 15 gramme.
ml: millilitre.	mg EAG/g : milligramme équivalent acide
n° : numéro.	gallique par gramme.
h : heure.	mg EC/g : milligramme équivalent catéchine
nm : nanomètre.	par gramme.
cm : centimètre.	g/5g : gramme par 5 gramme.
µl : microlitre.	M : mole.
µg: microgramme	mg/g : milligramme par gramme.
µg/µl : microgramme par microlitre.	g/100g : gramme par 100 gramme.

Introduction

Introduction

Mille milliards de tonnes de matière vivante se créent chaque année à la surface de la terre, les propriétés biologiques des plantes et des substances naturelles qu'elles renferment, font actuellement l'objet de nombreux travaux. Il semble en effet que les pharmacopées traditionnelles soient revisitées de façon plus systématique ouvrant par là même la voie au développement de champs disciplinaires nouveaux, c'est le cas pour l'éthnopharmacologie et la phytocosmétologie (Pérez, 1997).

Les substances isolées à partir des végétaux ont montré des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et en dermopharmacie. La pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale et la recherche trouve chez les plantes des molécules actives nouvelles (Smara, 2014).

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

Au contraire, le métabolisme primaire a un rôle essentiel pour le développement végétal. Mais actuellement les chercheurs réévaluent l'importance des glucides et envisagent pour eux de nombreuses applications notamment dans le secteur biomédical. C'est le cas des polysaccharides déjà très largement utilisés comme matière première dans les industries papetière et agroalimentaire. Extraits majoritairement des végétaux, ces polymères hydrosolubles établissent des interactions spécifiques avec l'eau et peuvent épaissir, stabiliser ou gélifier une solution, même à faible concentration. L'intérêt des polysaccharides ne se limite pas à leurs propriétés rhéologiques : le rôle biologique de certains d'entre eux les désigne comme des molécules à activités pharmaceutique ou dermocosmétologique.

Le continent africain est un des continents dotés d'une biodiversité la plus riche dans le monde. Aujourd'hui, on estime que les principes actifs provenant des végétaux représentent environ 25% des médicaments prescrits, soit un total de 120 composés d'origine naturelle provenant de 90 plantes différentes. Sur les milliers d'espèces de plantes à usage thérapeutique répertoriées en Algérie, très peu sont celles qui ont été valorisées sur le plan phytochimique (Djahra, 2014)

L'Algérie possède une richesse floristique considérable, ce potentiel de plantes médicinales comporte des milliers d'espèces présentant divers intérêts et constituent un axe de recherche

scientifique et plus particulièrement dans le domaine des substances naturelles (Aberkane, 2006).

Parmi la flore Algérienne, nous nous sommes intéressés à une espèce peuplant spontanément le mont de Tessala (Ouest-Algérienne), connu pour sa richesse floristique diversifiée. Il s'agit de l'aubépine monogyne (*Crataegus monogyna* Jacq.), plante médicinale appartenant à la famille des *Rosacées*, utilisée en phytothérapie pour ses propriétés sédatives, vasculoprotectrices et antioxydantes (Bahorun, 1997). Elle est aussi utilisée comme plante ornementale (Mohand, 2006). Les graines de cette espèce présente une dormance complexe (inhibition tégumentaire et dormance embryonnaire), et dans les conditions normales la germination des graines peuvent étendre à deux ans (Éthel *et al.*, 1997).

Notre travail consiste en une valorisation biochimique de *Crataegus monogyna* et une étude du comportement germinatif de ses graines en vue de sa conservation. A cet effet, quatre aspects ont été abordés :

- Evaluation de l'aptitude antibactérienne et antifongique des extraits aqueux, éthanoliques et méthanoliques des feuilles, fleurs et fruits de *Crataegus monogyna* en utilisant la méthode de diffusion en milieu solide ou antibiogrammes standards (disques). Dans cette étude, nous avons utilisé des souches pathogènes référencées (ATCC : Culture de Collection de Type American) : trois souches bactériennes : *Bacillus cereus* (ATTC 10876), *Echerichia coli* (ATTC 25922) et *Proteus mirabilis* (ATTC 35659) et deux souches fongiques : *Candida albicans* (ATTC 10231) et *Aspergillus brasiliensis* (ATTC 16404).
- Evaluation du pouvoir antioxydant des extraits aqueux, éthanoliques et méthanoliques des feuilles, fleurs et fruits de *Crataegus monogyna* en utilisant le test de DPPH.
- Extraction et quantification de la cellulose, des hémicelluloses, des pectines hautement méthylées et des pectines faiblement méthylées des feuilles et des fruits de *Crataegus monogyna* avec une caractérisation qualitative des monosaccharides par chromatographie sur couche mince (CCM) en utilisant des plaques en gel de silice 60G polygram (Merk) de 0.25 mm d'épaisseur.
- Etude de l'effet de quelques prétraitement physico-chimique (stratification chaud-froid et scarification par l'acide sulfurique (H_2SO_4 à 98%)) sur la physiologie de germination des graines de *Crataegus monogyna* pour améliorer leur pouvoir germinatif.

Notre travail est divisé en deux parties : la première partie est consacrée à une synthèse bibliographique sur le genre *Crataegus* en général et l'espèce étudiée en particulier, à des généralités sur les polysaccharides pariétaux ainsi que sur les principales classes des composés phénoliques (polyphénols, flavonoïdes, tannins (condensés et hydrolysables), les coumarines etc). La deuxième partie expose les méthodes analytiques utilisées et les résultats obtenus ainsi que leur discussion.

Partie I

Etude bibliographique

Chapitre I

Présentation de l'espèce

Crataegus monogyna

Jacq.

I. Présentation de l'espèce *Crataegus monogyna* Jacq.

1.1. Description botanique

Arbrisseau épineux très commun, de 1 à 4m de haut, souvent utilisé comme plante ornementale. C'est une espèce pionnière dont les baies rouges sont dispersées par les oiseaux.

Les rameaux, brun foncé, ligneux, ont un diamètre de 1 à 2,5 mm et portent des feuilles alternes, pétiolées, à petites stipules souvent caduques, ainsi que de nombreuses petites fleurs, blanches, disposées en corymbes. Les feuilles, plus ou moins profondément lobées, ont un bord légèrement denté ou presque entier, pennatiséquées et divisées en 3 ou 5 lobes acuminés. Leur face adaxiale est vert foncé ou vert brun, leur face abaxiale est d'un vert-gris plus clair et présente une nervation réticulée dense et saillante. Les feuilles de *C. monogyna* sont glabres ou portent seulement des poils isolés. Les fleurs comportent un calice tubulaire vert-brun composé de 5 sépales libres, réfléchis, une corolle formée de 5 pétales libres de couleur blanc jaune ou brunâtre, arrondis ou approximativement ovales, brièvement onguiculés et de nombreuses étamines. L'ovaire, soudé au calice, comporte 1 seul carpelle, surmonté d'un long style expliquant le nom de l'espèce, *monogyna* et contient 1 seul ovule.

Le fruit est couronné par les lobes du calice, c'est une drupe de petite taille (de 8 à 10 mm de long), charnue, de forme ovoïde, à la surface glabre, rouge ou jaunâtre (presque toujours rouge vif à maturité), une pulpe farineuse à 1 noyau (graine). Ce fruit est parfois appelé cenelle en français (Tutin, 1976 ; Yves, 1988 ; Mohand, 2006 ; Nemecz, 2001) (fig. 01).



Figure 01 : Présentation de l'espèce *C. monogyna* Jacq.,

(a, b) : au moment de floraison, (c): au moment de fructification (cliché Hamdaoui, 2016).

I.2. Classification

La classification de l'espèce *Crataegus monogyna* Jacq., est la suivante.

I.2.1 Classification classique

Règne : Plantes.

Sous règne : Plantes vasculaires.

Embranchement : Spermaphytes.

Sous-embranchement : Angiospermes.

Classe : Dicotylédones.

Sous classe : Rosidae.

Ordre : Rosales.

Famille : Rosaceae.

Genre : *Crataegus* L.

Espèce : *Crataegus oxyacantha* L. ssp. *monogyna* Jacq. (Quézel & Santa, 1963).

I.2.2. Selon la classification des plantes à fleurs de Cronquist (1981)

Embranchement : Spermaphytes.

Classe : Magnoliopsida.

Sous/classe : Rosidae.

Ordre : Rosales.

Famille : Rosaceae.

Genre : *Crataegus*.

Espèce : *Crataegus monogyna* Jacq.

I.2.3. Place du taxon dans la classification APG II

Embranchement : Spermatophyta.

Sous embranchement : Anthophytina.

Classe : Tricolpées évoluées.

Sous classe : Rosidae.

Super ordre : Eurosidées I.

Ordre : Rosales.

Famille : Rosaceae.

Genre : *Crataegus*.

Espèce : *Crataegus monogyna* Jacq.

I.2.4. Place du taxon dans la classification APG III (2009)

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

Cladus : Angiospermes.

Cladus : Dicotylédones Vraies.

Cladus : Dicotylédones Vraies Supérieures.

Cladus : Rosidées.

Cladus : Fabidées.

Ordre : Rosales.

Famille : Rosaceae.

Genre : *Crataegus*.

Espèce : *Crataegus monogyna* Jacq.

1- Variété : *laciniata*.

2- Variété : *maritima*.

3- Variété : *monogyna*.

I.3. Aire de répartition

Elle est commune dans toutes les zones tempérées de l'hémisphère nord (Bruneton, 1993) y compris les régions de l'Amérique du sud, l'Est de l'Asie (Pizarro, 1966 ; Bruneton, 1995). C'est une espèce euro-méditerranéenne, elle est présente et spontanée dans les pays du Maghreb, en Algérie et au Maroc où elle est commune, en Tunisie ainsi que dans tous les pays d'Europe notamment en France et en Asie occidentale; elle est naturalisée en Amérique du nord. Elle pousse sur tous les terrains, de préférence dans les haies et les bois, jusqu'à 1600 mètres d'altitude. Elle est originaire de toute l'Europe jusqu'en Afghanistan et l'Inde (Mitchetti, 1992 ; Edin & Nimmo, 1999), en Asie septentrionale, elle est commune dans les bois clairs et les forêts de chênes (Paul, 2006).

En Algérie, *Crataegus monogyna* Jacq., est commune dans tout le pays, sauf sur les hauts plateaux ; elle est commune dans les forêts et les maquis de l'Atlas Tellien, elle peut être confondue avec d'autres espèces (Temani, 1993 cité par Farhat, 2007).

II. Composées polyphénoliques de *Crataegus monogyna* Jacq.

II.1. Dans les feuilles

On trouve des substances polyphénoliques de plusieurs types : parmi les flavonoïdes on cite: les hétérosides du quercétol (quercétol-3-galactoside ou hypéroside, quercétol-3-rhamnoglucoside ou rutoside, quercétol-3-rhamnogalactoside) et les C-hétérosides divers, souvent sous forme de rhamnosides (principalement de la vitexine-C-glucoside, de l'apigénine ou trihydroxy-5-7-4'' flavone et son rhamnoside en 4').

Des leucoanthocyanidines qui sont des polymères flavanniques, des dimères de flavannes 3-4 diols (Mohand, 2006), des oligomères procyanidines, (-)-épi catéchine et /ou (+)- catéchine, des acides phénols (acide chlorogénique et l'acide caféique) (Bruneton, 1993 ; Fong & bouman, 2002).

II.2. Dans les fleurs

Les sommités fleuries séchées contiennent 10 % d'eau, 7 à 8 % de matières minérales, des dérivés aminés et des purines en petite quantité. Une huile essentielle en petite quantité (trace). Cette huile a pour constituant principal l'aldéhyde anisique (cet aldéhyde est une substance active volatile donnant à la fleur son odeur agréable caractéristique).

Des substances polyphénoliques de plusieurs types : les flavonoïdes (environ 1 à 2 %), les acides phénols en petite quantité, mais on trouve en plus autres constituants: l'orientine et autres dérivés de l'orientol, des dérivés de saponaire, des di-C-hétérosides de l'apigénol (vicénines, shaftosides). Des pro-anthocyanodols et de l'épicatéchol (environ 2 à 3 %, pour l'ensemble). Des dérivés triterpéniques : parmi ceux-ci, un mélange d'acides triterpéniques pentacycliques (l'acide crataégoïque, l'acide ursolique, et l'acide oléanolique), ces dérivés sont accompagnés de stérols (qui sont des bêta- sitostérols) (Mohand, 2006).

Elles sont plus riches en lactone (Paul, 2006). Elles ne doivent pas contenir plus de 8 % de parties ligneuses (Mohand, 2006).

II.3. Dans les fruits

Dans les fruits, existent des leuco-anthocyanidines, des procyanidines qui donnent après leurs hydrolyse l'épicatéchol et l'anthocyanidol (Mohand, 2006).

III. Principales propriétés pharmacologiques de *Crataegus monogyna* Jacq.

III.1. Cardiotonique

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

Elle exerce un effet inotrope positif et chronotrope négatif par diminution notamment de l'AMPc phosphodiesterase (Wichtl et Anton, 1999), elle augmente l'amplitude des contractions de cardiomyocytes isolés avec une dépense d'énergie modérée en bloquant la repolarisation des courants K^+ (Popping *et al.*, 1995; Muller *et al.*, 1999).

L'aubépine réduit la formation de lactate lors de l'ischémie chez le rat (Nasa *et al.*, 1993). Il a été mis en évidence, *in vivo* que l'aubépine lors d'une ischémie prolongée atténue considérablement l'élévation du segment-ST (mesurée par un ECG) et supprime la diminution du rythme cardiaque. Elle diminue également de façon dose-dépendante l'incidence de la tachycardie et de la fibrillation ventriculaire (Veveris *et al.*, 2004).

III.2. Action sédative sur le système nerveux central

Elle exerce une action sédative, anxiolytique et diminue l'agressivité (Paris, 1983). En effet, l'administration d'aubépine chez des patients hypertendus diminue l'anxiété (Walker *et al.*, 2002). L'aubépine diminue également la température corporelle et de ce fait prépare le sommeil (Paris, 1983)

III.3. Autres actions

En outre, les extraits à base de procyanidines de l'aubépine aident à réduire le niveau du cholestérol et à diminuer le taux des triglycérides (Chang *et al.*, 2002; Svedstroma *et al.*, 2006; Zhang *et al.*, 2006). La teinture de *Crataegus* empêche également l'accumulation du cholestérol dans le foie en augmentant la dégradation de cholestérol en acides biliaires et simultanément par suppression de la biosynthèse du cholestérol (Rajendran *et al.*, 1996). Les proanthocyanidines sont aussi très antioxydants (Chevallier, 1996). Les fruits et les feuilles de l'aubépine ont été considérés comme de bons remèdes pour les douleurs de l'appareil digestif et urinaire (Rose & treadway, 1999).

IV. Toxicité

Chez l'homme, de trop fortes doses provoquent des troubles cardiaques, respiratoires (dépression), des troubles digestifs bénins et de légères allergies cutanées. Une consommation

excessive de fruits par de jeunes enfants pourrait produire une hypotension sévère. D'autre part, il s'agit d'une plante allergisante par son pollen (Girre, 2000). Des recherches semblent prouver que l'aubépine à des doses élevées, exerce une action néfaste sur le dynamisme du cœur, entraîne l'hypotension et un ralentissement du pouls (Pierre, 2004). Graham (1940) signale aussi une atténuation du tonus intestinal et même en cas d'intoxication chronique, la nécrose du foie. Les doses médicinales habituelles ne présentent pas ces dangers, mais il est bon dans les cures prolongées de prévoir des intervalles réguliers de repos (in Pierre, 2004).

V. Exigences édapho-climatiques et multiplication

L'aubépine est très rustique, supporte toutes les rigueurs du climat : vents, froid, sécheresse, pluies torrentielles (Pierre, 2006). L'aubépine monogyne s'accommode à tous les terrains, mais elle préfère les sols calcaires et se satisfait des plus secs. Cette espèce préfère les emplacements ensoleillés, à terre légère qui ne contient pas beaucoup d'argile, elle peut se développer dans les sols acides, neutres et même alcalins (Aymonin, 1993).

L'aubépine a des fruits dont les méthodes de propagation ne sont guère enviables. Les fruits sont grassement abandonnés aux grives, merles, pigeons, dindons et autres amateurs ailés (Pierre, 2006). L'aubépine se multiplie surtout par semis, c'est la méthode la plus sûre pour obtenir des plants d'une taille homogène et de reprise assurée. Les fruits cueillis à parfaite maturité seront semés sur le champ, tout entiers, ou stratifiés dans une fosse pour être mis en terre au printemps de la seconde année, d'attendre la levée fort long des graines au moins un an après le semis (Pierre, 2004).

VI. Rôle écologique

Elle est cultivée pour la création de haies vives, par exemple pour l'aménagement de parcs et d'espaces verts. La haie vive exerce sur le sol cultivé des influences bénéfiques : elle protège, sur une grande distance, contre l'érosion éolienne et pluviale, contre les dégâts causés au végétaux par les grands vents, elle réduit l'évaporation du sol et la transpiration des plantes, effets très importants par temps de sécheresse. L'aubépine par la densité de ses branches et de son feuillage, exerce une protection très efficace contre le vent, mais aussi contre l'intrusion des animaux, l'abondance de ses fruits retient les oiseaux (Pierre, 2004).

VII. Ravageurs et maladies

Divers sortes de chenilles, les pucerons et les araignées rouges peuvent attaquer les aubépines. L'oïdium attaque les tiges et les feuilles sur lesquelles il forme un feutrage blanc, le pourridié fait mourir rapidement les sujets qu'il envahit (Yves, 1988).

Anthonomus quadrigibbus est associé à un grand nombre de Rosaceae, ainsi apparemment qu'à *Cornus stolonifera* (Cornaceae), cette espèce peut se développer sur les fruits de *Crataegus* ssp. (Burke, 1976). Le feu bactérien dû à *Erwinia amylovora* peut attaquer *Crataegus monogyna* Jacq. [Webmaster 1].

Chapitre II

Histoire et usages traditionnels du genre

Crataegus

I. Introduction

Les rosacées constituent une importante famille tant par le nombre des espèces (plus de 3000) que par la diversité végétative et florale de ses représentants.

Les rosacées nous fournissent un nouvel exemple de famille par enchaînement. Elles habitent sensiblement toutes les contrées du monde, mais sont surtout abondantes dans les régions tempérées de l'hémisphère nord. On peut considérer les rosacées comme un excellent type de dicotylédones. Cette famille est remarquable par la grande diversité du fruit (Guignard, 1996). Le nom botanique *Crataegus* a ses origines du grec : Kratos qui signifie la « dureté » ou la « force » du bois. Le genre *Crataegus* comprend plusieurs centaines d'espèces à travers le monde. Les différentes espèces s'hybrident facilement, ce qui rend difficile le dénombrement exact du nombre d'espèces (Grieve, 1931; Davies, 2000).

L'aubépine est le nom commun pour les espèces du genre *Crataegus* dans la famille des *Rosaceae*. Il ya plus de 1000 espèces et hybrides différents dans le monde entier ; approximativement 280 espèces sont identifiées dans les zones tempérées du nord souvent entre les latitudes 30° et 50°, en Europe, l'Est de l'Asie, l'est de l'Amérique du Nord. Médicalement, elles partageant beaucoup de caractéristiques semblables ((Phipps, 1983 ; Zhao & Tian, 1996 ; Davies, 2000)).

Le genre *Crataegus* est un groupe complexe d'arbres et d'arbustes épineux ou petits arbres à feuilles vertes brillantes, fleurs blanches et des baies rouge vif chacune contenant une à trois ou cinq graines, selon l'espèce (Hobbs & Foster, 1990 ; Leung & Foster, 1996.). Actuellement, plus de 20 espèces d'aubépines sont utilisées comme médicaments à base de plantes ou drogue végétale dans le monde. Certains d'entre elles sont officiellement inscrites dans les pharmacopées de nombreux pays comme la Chine, l'Allemagne, La France et l'Angleterre (Chang & But, 1986).

I.1. Histoire et usages traditionnels

I.1.1. Usage traditionnels décrits dans les pays occidentaux

Les aubépines ont une large liste d'utilisation en médecine traditionnelle chinoise et la médecine à base des plantes européenne (Zhongguo, 1984).

En Europe, l'utilisation de l'aubépine remonte à l'époque De Dioscoride au premier siècle (Tyler, 1993). Son utilisation pour le traitement des maladies cardiaques a été commencée à la fin de 1800 (Mc Caleb, 2000).

Dans la médecine traditionnelle chinoise, les fruits de l'aubépine sont utilisés pour stimuler la digestion et la fonction de l'estomac, l'amélioration de la circulation sanguine et l'élimination

de la stase des sangs. Ainsi, ils sont utilisés dans les prescriptions pour traiter l'indigestion avec distension épigastrique, diarrhée; aménorrhée; hypertension; et l'hyperlipidémie (The Pharmacopoeia Commission of PRC, 1997).

En Europe, les fruits, les feuilles, les fleurs d'aubépine ou leurs combinaisons ont été traditionnellement utilisés comme astringent, antispasmodique, cardiotonique, diurétique, hypotensif et comme agent anti-athérosclérotique (Leung & Foster, 1996). L'herbe est utilisée pour traiter divers problèmes cardiaques y compris l'insuffisance cardiaque, l'angine de poitrine, l'hypertension, légère altération du rythme cardiaque et l'athérosclérose (The Pharmacopoeia Commission of PRC, 1997).

En Chine et en Europe, le fruit aubépine est consommé non seulement en médecine, mais également dans l'industrie alimentaire (confiture, gelée, boisson et vin) (Leung & Foster, 1996).

L'aubépine a été considérée comme la plante protectrice des humains. Ainsi dans la Grèce antique, lors des noces, chaque époux devait avoir entre ses mains quelques fleurs d'aubépine en gage de bonheur et de prospérité. Chez les romains, on attachait un rameau d'aubépine au berceau des nourrissons pour les protéger des maladies. Il semblerait que la couronne du christ ait été tressée avec des branches de cet arbuste (Roger, 2005).

I.1.2. Usage traditionnels décrits dans le monde Maghrébin

La fleur de *Crataegus oxyacantha* L. est utilisée en Algérie en usage interne, comme antispasmodique et comme cardiotonique. Au Maroc et dans le Moyen Atlas, la fleur de *Crataegus monogyna* Jacq., ou *Crataegus laciniata* Ucr. est employée en usage interne sous forme d'infusé comme remède contre les palpitations et les diarrhées. En Tunisie, la fleur de *Crataegus azarolus* L. est employée sous forme de décocté dans le traitement de l'angine ; elle est réputée utile pour supprimer les douleurs post-partum, tandis que la feuille est employée en usage interne sous forme de décocté comme remède recommandé aux diabétiques (Mohand, 2006).

En Algérie, le fruit de *Crataegus oxyacantha* L. est employé en usage interne, en médecine populaire comme anti-diarrhéique et dans le traitement des affections calculeuses. Par contre, le fruit de *Crataegus monogyna* Jacq. est employé dans le massif des Aurès comme aliment de misère. Au Maroc et dans le Moyen Atlas, les fruits mûrs de *Crataegus monogyna* Jacq., ou *Crataegus laciniata* Ucr. sont consommés par les bergers. En Tunisie, les fruits de *Crataegus oxyacantha* L. et *Crataegus azarolus* L. étaient employés dans l'alimentation

humaine malgré sa faible saveur et le manque de suc. Leurs fruits étaient récoltés et consommés crus, surtout en année de disette (Mohand, 2006).

II. Activités pharmacologiques

Les principales activités pharmaceutiques des aubépines sont les suivantes :

II.1. Activité cardiotonique

Nombreuses études *in vitro* ont testé les activités cardiotonique de l'extrait hydrosoluble, la fraction flavonoïdique, la fraction triterpénique et la fraction d'oligoprocyanidique (OPC), qui sont préparées à partir des fruits, des feuilles ou des fleurs comme composants individuels de l'aubépine (hyperoside, luteolin-7-glucoside, l'épicatéchine, la vitexine et la rutine). Des actions cardiotoniques marquées ont été observées, telles que l'augmentation du débit sanguin coronarien, la réduction de la consommation d'oxygène, l'effet inotropique positif et l'effet chronotrope négatif ; ces actions peuvent être liées à l'effet inhibiteur du phosphodiesterase (Petkov *et al.*, 1981; Occhiuto *et al.*, 1986)

II.2. Activité antiarythmique

L'extrait de fruits ou des feuilles avec les fleurs d'aubépine ont été également trouvés pour protéger contre l'arythmie du cœur induites par l'aconitine, le chlorure de calcium et le chloroforme-adréraline dans divers expériences *in vitro* et *in vivo* chez les rat (Occhiuto *et al.*, 1986; Antsyshkina *et al.*, 1990)

II.3. Activité hypolipidémique

L'aubépine est utilisée pour diminuer les niveaux sériques du cholestérol, du LDL-cholestérol et de triglycérides chez les hypercholestérolémiques et les athérosclérotiques. Il inhibe également significativement le dépôt lipidique dans le foie et l'aorte (Li *et al.*, 1988 ; Shanthi *et al.*, 1996). Lorsqu'il est administré à des rats nourris avec un athérogénique, l'extrait de fruit d'aubépine augmente l'excrétion d'acide biliaire, diminue la synthèse du cholestérol hépatique et augmente significativement la liaison 125I-LDL aux membranes plasmatiques hépatiques, indiquant l'amélioration de l'activité des récepteurs LDL (Rajendran *et al.*, 1996).

II.4. Activité antioxydante

Dans certaines études *in vitro*, différents extraits d'aubépine des fruits, des feuilles ou des fleurs possèdent une activité antioxydante (Bahorun *et al.*, 1994 ; bahorun *et al.*, 1996). Ces activités sont susceptibles d'être liées aux oligomères procyanidines (OPC) et les flavonoïdes,

tels que l'épicatéchine, la rutine, l'hyperoside et l'isoquercitrine qui ont montré un fort effet inhibiteur contre l'oxydation des LDL humaines (Zhang *et al.*, 2001).

Diverses études *in vivo* montrent qu'un extrait alcoolique produit un effet protecteur sur le stress oxydatif chez les rats athérosclérotiques. L'extrait alcoolique empêche aussi l'augmentation de la peroxydation lipidique et la diminution de la teneur en glutathion et α -tocophérol dans le foie, l'aorte et les tissus cardiaques. Il normalise également les niveaux des enzymes antioxydants dans le foie, l'aorte et le tissu cardiaque (Shanthi *et al.*, 1996) et augmente l'activité superoxyde dismutase (SOD) chez les rats hyperlipidémiques ou des souris (Dai *et al.*, 1987 ; Lin & Chen, 2000).

II.5. Activité hypotensive

Les flavonoïdes, les oligomères procyanidine (OPC) et les extraits des acides triterpéniques ont été administrés par voie intraveineuse à diverses espèces animales. L'action hypotensive a été principalement attribuée à la vasodilatation périphérique (Twaij *et al.*, 1987). Les procyanidines ont été identifiées comme composantes majeures de cet effet (Kim, 2000).

II.6. Etudes cliniques

Les préparations d'aubépine sont potentiellement utiles pour les stades précoces de l'insuffisance cardiaque congestive, l'hypertension, l'angine de poitrine et l'arythmie mineure. Cela a été démontré dans nombreuses études cliniques (Iwamoto *et al.*, 1981; Chen *et al.*, 1995; Weikl *et al.*, 1996). En effet, l'aubépine est efficace pour diminuer la fréquence cardiaque, l'amélioration de la tolérance, la pression et la diminution des lipides chez les patients souffrant d'insuffisance cardiaque au stade II ou hyperlipidémie. Mais dans certaines études, aucun effet n'a été observé sur la tension artérielle diastolique (Schmidt *et al.*, 1994 ; Tauchert *et al.*, 1994).

III. Composition en métabolites secondaires des espèces du genre *Crataegus*

III.1. Composés phénoliques dans les aubépines

Plusieurs groupes de composés phénoliques y compris les procyanidines, les flavanols, les flavonols, C-glycosyl flavones, acides phénoliques, anthocyanines et lignanes ont été reportées dans différentes parties des aubépines. Dans les fruits, les oligomères procyanidines et leurs glycosides sont les principaux composés phénoliques majeurs ; alors que les flavonoles, les glycosides de flavonol et C-glycosyl flavones dominant dans les feuilles (Liu *et al.*, 2011a).

III.1.1. Les procyanidines

Les procyanidines dans les aubépines sont constituées essentiellement de (-) épicatechine comme l'unité de flavan-3-ol. En outre quelques rapports ont mentionné l'existence de la catéchine dans *Crataegus ssp.*, soit sous forme de monomère ou comme une unité constitutive dans les oligomères et les polymères procyanidines. Les procyanidines identifiés à ce jour sont exclusivement de type β (flavan-3-ol lié par des liens d'interflavanol unique C-4/C-8 ou C-4/C-6) (fig. 02) (Svedström *et al.*, 2002b).

Plus d'une trentaine d'oligomères procyanidines ont été reportés dans les fruits et les feuilles du genre *Crataegus*. Les différentes parties d'une même plante et les différents espèces contiennent les mêmes composés comme les procyanidines majeurs, alors que les proportions et le contenu des composés individuels varie considérablement (Svedström *et al.*, 2002a ; Liu *et al.*, 2010b). La composition et le profil des glycosides procyanidines sont utilisés comme un marqueur chimio-taxonomique pour distinguer entre les différentes espèces du genre *Crataegus* (Liu *et al.*, 2011b).

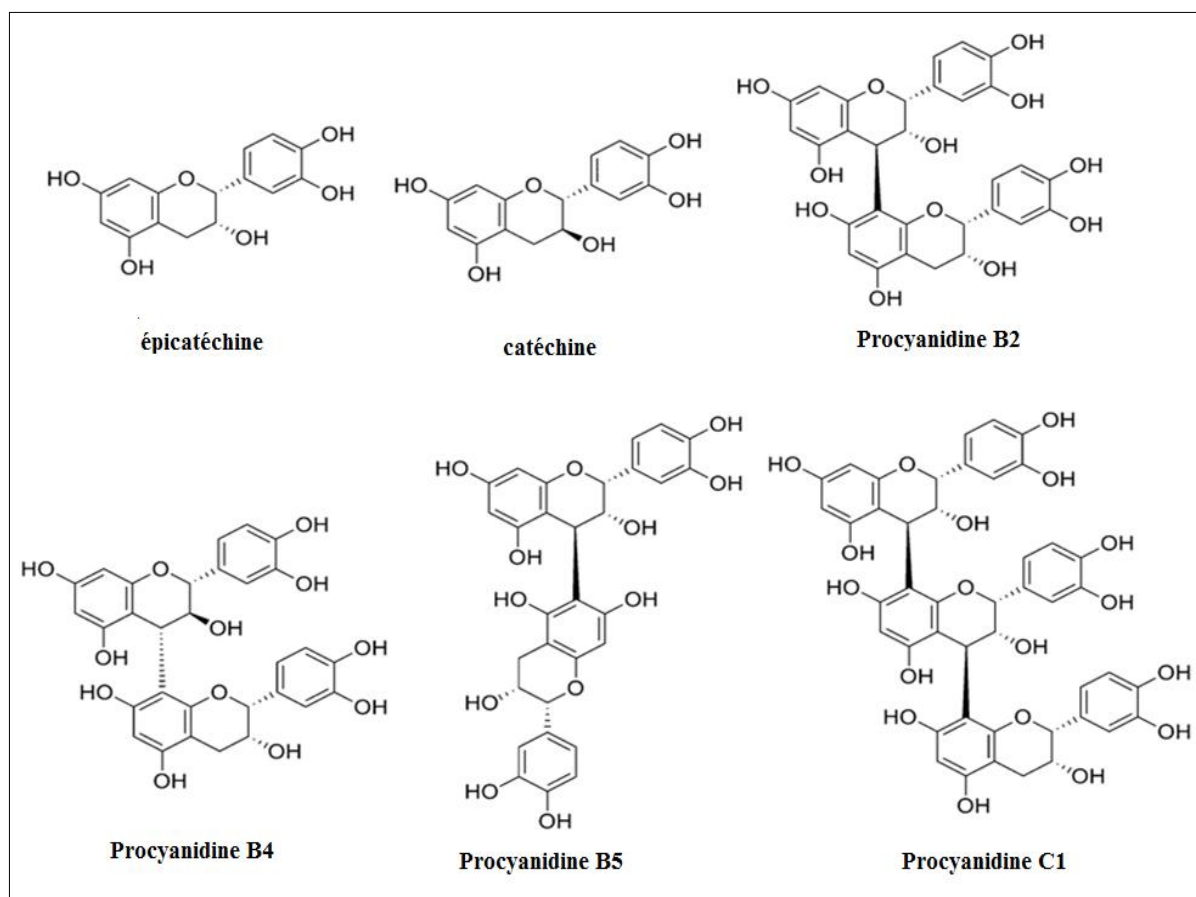
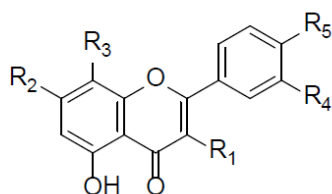


Figure 02 : Les majeurs procyanidines de *Crataegus sp.* (Svedström *et al.*, 2002a ; Cui *et al.*, 2006a; Cui *et al.*, 2006b; Liu *et al.*, 2010b; Liu *et al.*, 2011b)..

III.1.2. Les flavonols et les glycosides de flavonols

Les majeurs aglycones de flavonols reportés dans les aubépines sont : la quercétine, kaempferol et sexangularetin (8-methoxykaempferol), l'hyperoside, l'isoquercitrine et la rutine sont souvent reportés comme les majeurs glycosides de flavonols. La rutine n'est pas retrouvée dans les fruits de *C. pinnatifida* var. *major*, l'isoquercitrine et la rutine n'existent pas dans les fruits et les feuilles de *C. grayana* (Liu *et al.*, 2010b; 2011a; 2011b).

En plus des aglycones sucités, Petereit & Nahstedt (2005) ont identifié des glycosides de flavonols dans *C. monogyna*, *C. laevigata*, *C. pentagyna*, *C. nigra* et *C. azarolus*. Il s'agit de kaempferol-3-O-neohesperidoside, hypéroside (quercetine-3-O-galactoside), crataegide (quercetine-3'-O-arabinoside), spiraeoside (quercetine-4'-O-glucoside), rutine (quercetine-3-O-rutinoside), quercetine-3-O-rhamnosylgalactoside, sexangularetine-3-O-glucoside, sexangularetine-3-O-neohesperidoside et sexangularetine-3-O-(6"-O-malonyl)- β -D-glucoside (fig. 03). Les glycosides de kaempférol et sexangularetine sont souvent présents comme constituants mineurs dans l'aubépine. Sexangularetine, sexangularetine-3-glucoside, sexangularetine-3 - néohespéridoside et kaempférol-3-néohespéridoside ont été trouvées dans le pollen de *C. monogyna* (Dauguet & coll., 1993).



	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
Kaempferol	OH	OH	H	H	OH
Kaempferol-3-O-neohesperidoside	O- β -D-Glu-(2 $\rightarrow$ 1)- α -L-Rha	OH	H	H	OH
Quercetin	OH	OH	H	OH	OH
Hyperoside	O- β -D-Gal	OH	H	OH	OH
Isoquercitrin	O- β -D-Glu	OH	H	OH	OH
Crataegide	OH	OH	H	O- β -L-Ara	OH
Spiraeoside	OH	OH	H	OH	O- β -D-Glu
Rutin	O- β -D-Glu-(6 $\rightarrow$ 1)- α -L-Rha	OH	H	OH	OH
Quercetin-3-O-rhamnosylgalactoside	O- β -D-Gal-(6 $\rightarrow$ 1)- α -L-Rha	OH	H	OH	OH
Sexangularetin	OH	OH	OCH ₃	H	OH
Sexangularetin-3-O-glucoside	O- β -D-Glu	OH	OCH ₃	H	OH
Sexangularetin-3-O-neohesperidoside	O- β -D-Glu-(2 $\rightarrow$ 1)- α -L-Rha	OH	OCH ₃	H	OH
Sexangularetin-3-O-(6"-O-malonyl)- β -D-glucoside	O-(6"-O-malonyl)- β -D-Glu	OH	OCH ₃	H	OH
Luteolin-7-O-glucoside	H	O- β -D-Glu	H	OH	OH
Luteolin-7-O- β -D-glucuronide	H	O- β -D-glucuronide	H	OH	OH

Figure 03 : Flavonols et O-glycosides de flavonols et flavones de *Crataegus* sp. (Dauguet & coll., 1993 ; Liu *et al.*, 2010b; 2011a; 2011b).

Glu, glucose; **Rha**, rhamnose; **Gal**, galactose; **Ara**, arabinose.

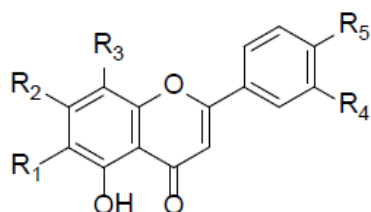
III.1.3. Glycosyl de flavones

Le profil de C-glycosyl de flavones dans les aubépines est l'un des marqueurs chimio-taxonomique le plus important de différenciation des espèces des aubépines. La vitexine-2''-O-rhamnoside, vitexine et isovitexine sont trouvés dans les sommités fleuries de *C. monogyna*, *C. pentagyna* et *C. laevigata* (Prinz *et al.*, 2007, Ringl *et al.*, 2007).

La vitexine et vitexine-2''-O-rhamnoside sont identifiés dans les sommités fleuries de *C. laevigata*, *Crataegus rhipidopylla* et leur hybride *Crataegus x macrocarpa* (Ringl *et al.*, 2007). Oh *et al.* (1994) ont noté la présence de vitexine-2''-rhamnoside dans les feuilles de *C. pinnatifida* var. *psilosa*.

Six C-glycosyl de flavones sont isolés à partir des feuilles de *C. pinnatifida* var. *major*. Ces composés sont identifiés comme la vitexine, 6''-O-acetylvitexine, 2''-O-acetylvitexine, 2''-O-rhamnosylvitexine, 8-C- β -D-(2''-O-acetyl)-glucofuranosyl-apigenine et 3''-O-acetylvitexine (Zhang & Xu, 2001a; Zhang & Xu, 2003a).

L'isoorientine et orientine sont les majeures C-glycosyl de flavones ; l'isoorientine-2''-O-rhamnoside, l'orientine-2''-O-rhamnoside et l'isovitexine-2''-O-rhamnoside sont moins représentés dans les sommités fleuries de *C. pentagyna*. Ces composés ne sont pas trouvés chez *C. monogyna* et *C. laevigata*. La vitexine-2''-O-(4'''-O-acetyl)-rhamnoside est le composé dominant dans *C. monogyna* mais n'est pas détecté dans *C. laevigata* et *C. pentagyna* (Prinz *et al.*, 2007, Ringl *et al.*, 2007) (fig. 04).



	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
Vitexin	H	OH	β-D-Glu	H	OH
Isovitexin	β-D-Glu	OH	H	H	OH
8-C-β-D-(2"-O-acetyl)-glucofuranosyl-apigenin	H	OH	2-O-Ac-β-D-Glufuranose	H	OH
2"-O-acetylveitexin	H	OH	2-O-Ac-β-D-Glu	H	OH
3"-O-acetylveitexin	H	OH	3-O-Ac-β-D-Glu	H	OH
6"-O-acetylveitexin	H	OH	6-O-Ac-β-D-Glu	H	OH
Vitexin-2"-O-rhamnoside	H	OH	β-D-Glu-(2→1)-α-L-Rha	H	OH
Vitexin-2"-O-(4"-O-acetyl)-rhamnoside	H	OH	β-D-Glu-(2→1)-4-O-Ac-α-L-Rha	H	OH
Isovitexin-2"-O-rhamnoside	β-D-Glu-(2→1)-α-L-Rha	OH	H	H	OH
Vincenin 1	Xyl	OH	Glu	H	OH
Vincenin 2	Glu	OH	Glu	H	OH
Vincenin 3	Glu	OH	Xyl	H	OH
Schaftoside	β-D-Glu	OH	α-L-Ara	H	OH
Isoschaftoside	α-L-Ara	OH	β-D-Glu	H	OH
Neoschaftoside	β-D-Glu	OH	β-L-Ara	H	OH
Neoisoschaftoside	β-L-Ara	OH	β-D-Glu	H	OH
Vitexin-4'-O-rhamnosylglucoside	H	OH	β-D-Glu	H	O-β-D-Glu-(2→1)-α-L-Rha
Vitexin-4',7-di-O-glucoside	H	O-β-D-Glu	β-D-Glu	O-β-D-Glu	OH
Orientin	H	OH	β-D-Glu	OH	OH
Isoorientin	β-D-Glu	OH	H	OH	OH
Acetylorientin	H	OH	2-O-Ac-β-D-Glu	OH	OH
Acetylisoorientin	2-O-Ac-β-D-Glu	OH	H	OH	OH
Orientin-2"-O-rhamnoside	H	OH	β-D-Glu-(2→1)-α-L-Rha	OH	OH
Isoorientin-2"-O-rhamnoside	β-D-Glu-(2→1)-α-L-Rha	OH	H	OH	OH

Figure 04 : C-glycosides de flavones reportés dans les aubépines (Prinz *et al.*, 2007, Ringl *et al.*, 2007; Zhang & Xu, 2001a; Zhang & Xu, 2003a).

Glu, glucose; **Rha**, rhamnose; **Gal**, galactose; **Ara**, arabinose; **Ac**, acetyl; **Xyl**, xylose.

III.1.4. Les acides triterpéniques

Les acides triterpéniques ont été identifiés comme un autre groupe de composés bioactifs dans les espèces du genre *Crataegus*. Liu (1995) et Hsu *et al.* (1997) ont montré que les acides triterpéniques ont des effets bénéfiques très importants telle que l'activité anticancérogène.

L'acide oléanolique et l'acide ursolique sont les majeurs acides triterpéniques déterminés dans les fruits des aubépines (fig. 05) (Zou & Chen, 2006; Cui *et al.*, 2006a). Alors que,

l'acide oléanolique existe seulement dans les feuilles des aubépines (Zou & Chen, 2006 ; Gu *et al.*, 2006; Cui *et al.*, 2006a).

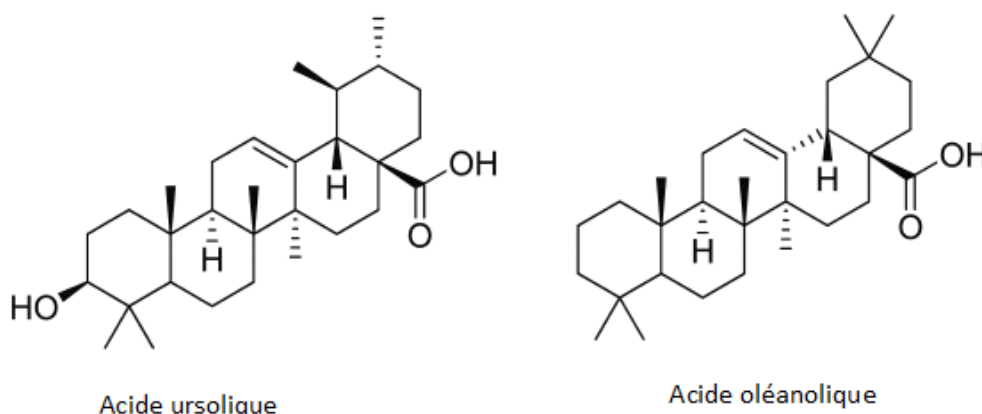


Figure 05 : Les acides triterpéniques dans les aubépines (Cui *et al.*, 2006a ; Zou & Chen, 2006).

III.2. Autres composés phénoliques

L'acide chlorogénique est trouvé dans les fruits et les feuilles de toutes les espèces d'aubépines. Alors que leur isomère, l'acide 5-O-cafféoylquinique (acide néochlorogénique) est identifié seulement dans les fruits de *C. grayana* (Liu *et al.*, 2011a).

L'acide caféique est détecté dans les feuilles de *C. laevigata* (Svedström *et al.*, 2006), l'acide gallique et l'acide hydroxybenzoïque dans les feuilles de *Crataegus cuneata* (Ma & Gu, 2003; Ma *et al.*, 2007), et l'acide protocatéchique dans les fruits de *C. pinnatifida* (Zhang *et al.*, 2001d). Six glycosides de lignane sont mentionnés dans les feuilles de *C. pinnatifida* (Gao *et al.*, 2010). Luteoline-7-O-glucoside est noté par Petereit and Nahstedt (2005). Luteoline-7-O-β-D-glucuronide et eriodictyol-7-O-glucuronide sont mis en évidence chez *C. rhipidopylla* x *C. macrocarpa* (Prinz *et al.*, 2007).

L'activité biologique et l'effet physiologique des composés phénoliques des espèces du genre *Crataegus* a été évaluée sur les extraits préparés à partir des feuilles, des fruits et des sommités fleuries par extraction avec les solvants organiques tels que le méthanol, l'éthanol, le dichlorométhane et par l'eau également, à différentes concentrations. Les fractions d'extraits et les composés phénoliques purifiés à partir d'aubépine ont été testés pour étudier l'activité biologique des différents groupes ou composés individuels (Liu *et al.*, 2011a).

III.3. Autres composés

Meng and Wang (2005) notent la présence des composés nutritionnels dans quelques espèces du genre *Crataegus*, comme les sucres solubles (glucose, fructose, etc.), les acides totaux (acide malique, acide quinique, etc.), les protéines, la vitamine C, les sucres alcooliques (sorbitol, myo-inositol, etc.). Selon les espèces du genre *Crataegus*, il y a des espèces qui sont riches en sucres, alors que d'autres le sont en acides (Pengzhan, 2012).

Chapitre III

Données générales sur les composés phénoliques

I. Généralités

Les plantes possèdent des métabolites dits « secondaires » par opposition aux métabolites primaires qui sont les protéines, les glucides et les lipides. Les métabolites secondaires sont classés en plusieurs grands groupes. Parmi ceux-ci, les composés phénoliques, les terpènes, les stéroïdes et les composés azotés dont les alcaloïdes (tab. 01). Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activité biologique (Huang & Ferraw, 1991; Ali *et al.*, 2001 ; Li *et al.*, 2007).

Tableau 01: Les trois grandes classes de métabolites secondaires.

Type	Ils dérivent de	Nombre des molécules caractérisées
Terpénoïdes	L'IPP (isopentenyl diphosphate), une molécule à 5 C.	25000
Alcaloïdes	Acide aminés	12000
Composés phénoliques	Voie de l'acide shikimique et acétate/malonate	8000

Les polyphénols est l'un des groupes les plus nombreux et largement distribués dans le royaume des végétaux, avec plus de 8000 structures phénoliques connues, présents dans tous les organes de la plante (Lugasi *et al.*, 2003), ils peuvent être divisés au moins en 10 classes différentes selon leur structure chimique de base (Harborne, 1989). Dans cette catégorie, on trouve de nombreuses substances : les formes les plus simples, par opposition aux formes condensées (tannins) sont divisées en deux catégories :

- les noyaux simples en C6-C1 (les acides hydroxybenzoïques) et C6-C3 (acides hydroxycinnamiques).
- les noyaux dérivant de l'extension du phénylpropane, en C6-C3-C6, comme les chalcones, les flavones, les flavonols ou les dérivés du flavane ou du flavane-3-ol (catéchines et proanthocyanidines). Toutes ces substances ont une voie de biosynthèse commune et sont appelées flavonoïdes, au sens large du terme (Bahorun, 1997).

L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'un cycle aromatique portant au moins un groupement hydroxyle (Chopra *et al.*, 1986). La biosynthèse du noyau aromatique est apparue très tôt au cours de l'évolution puisque la protéogénèse fait appel à trois amino-acides aromatiques : la phénylalanine, la tyrosine, le tryptophane et que des

transporteurs d'électrons comme les quinones interviennent dans la respiration et la photosynthèse. Cette biosynthèse est appelée voie des shikimates (Pierre, 2000).

Les composés phénoliques (acides phénoliques, flavonoïdes simples et proanthocyanidines) forment le groupe des composés phytochimiques le plus important des plantes (Beta *et al.*, 2005). Les acides phénoliques sont contenus dans un certain nombre de plantes agricoles et médicinales (Postová *et al.*, 2003). Comme exemple d'acide phénolique, on cite : acide chlorogénique, acide caffeique, acide protocatéchique, acide vanillique, acide ferulique, acide sinapique et acide gallique (Hale, 2003).

1.2. Rôle physiologique des composés phénoliques

L'intégration du métabolisme phénolique dans le programme général de développement d'un organe végétal pose en elle-même la question d'un rôle éventuel de ces substances. Des travaux plus anciens (Nitsch & Nitsch, 1961; Alibert *et al.*, 1977) ont montré que les phénols seraient associés à de nombreux processus physiologiques : croissance cellulaire, différenciation organogène, dormance des bourgeons, floraison, tubérisation. Les polyphénols interviennent dans la qualité alimentaire des fruits. Les anthocyanes et certains flavonoïdes participent à la coloration des fruits mûrs. Les composés phénoliques déterminent également la saveur des fruits : les tanins sont à l'origine de la sensation d'astringence des fruits non mûrs, les flavanones sont responsables de l'amertume des citrus et peuvent donner naissance, par transformation chimique, à des dihydrochalcones à saveur sucrée (Dubois *et al.*, 1977).

Les pigments responsables de la coloration des fleurs représentent des signaux visuels qui attirent des animaux pollinisateurs. La plupart de ces pigments sont des anthocyanes, des aurones et des chalcones. D'autres polyphénols incolores tels que les flavonols et flavanones interagissent avec des anthocyanes pour altérer, par co-pigmentation, la couleur des fleurs et fruits (Brouillard *et al.*, 1997).

Des composés phénoliques sont impliqués lorsque la plante est soumise à des blessures mécaniques. Des phénols simples sont synthétisés et l'activité peroxydasique caractéristique des tissus en voie de lignification est stimulée. Ces réactions aboutissent à la formation au niveau de la blessure d'un tissu cicatriciel résistant aux infections (Fleuriet & Macheix, 1977). La capacité d'une espèce végétale à résister à l'attaque des insectes et des micro-organismes est souvent corrélée avec la teneur en composés phénoliques (Rees & Harborne, 1985).

Les polyphénols sont probablement les composés naturels les plus répandus dans la nature et de ce fait sont des éléments faisant partie de l'alimentation animale. A titre d'exemple, l'homme consomme jusqu'à 10 g de ces composés par jour (Bahorun, 1997).

Les effets bénéfiques des polyphénols sont attribués à leurs propriétés antioxydantes et à leur capacité de capter les radicaux libres. Ces substances présentent des propriétés anticancéreuses, antimutagènes et antibactérienne non négligeables (Meyer & Yi, 1997; Weissburger, 1997 ; Redoyal *et al.*, 2005 ; Hatano *et al.*, 2005).

De récentes études ont montré l'effet bénéfique d'un apport de 200 mg d'extrait de thé vert, soit 100 mg de polyphénol, retarde efficacement le stress oxydant ainsi que l'insulinorésistance et augmente la lipolyse (Kao *et al.*, 2002). Ils sont considérés comme substances phytochimiques avec des effets prébiotique, antioxydant, de chélation et anti-inflammatoire. Leur toxicité est faible. Pharmacologiquement, le mieux caractérisé est l'acide caféique (Postová *et al.*, 2003). Cet acide et l'acide férulique empêchent la formation du cancer des poumons chez les souris, l'acide gallique inhibe la formation du cancer oesophagien chez les rats (Hale, 2003).

Parmi les composés phénoliques, dont plus de 8000 sont connus ; les coumarines, les flavonoïdes, les tanins et d'autres classes existent en nombres considérables (Hu, 2005 ; Beta *et al.*, 2005 ; Luthria & Mukahapadhyay, 2006).

II. Les différentes classes des composés phénoliques

Il existe différentes classes de polyphénols, notamment : les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les stilbènes, les lignanes, les saponines, les phytostérols ou bien phytostanols. Les plus importants sont: les acides phénols, les flavonoïdes et les tanins.

II.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 constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux (Knežević *et al.*, 2012).

Les flavonoïdes sont des pigments quasi universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs et des fruits. Ils existent le plus souvent à l'état naturel sous forme d'hétérosides (Fiorucci, 2006). La plus part des flavonoïdes diététiques dans les aliments sont les 3-O-glycosides et des polymères, mais peuvent également exister sous formes aglycones (Medić-Šarić *et al.*, 2003 ; cité par Mohammadi, 2006). On a estimé que la prise moyenne des flavonoïdes par l'homme s'étend de 25 mg/jour à 1 g/jour (Wang & Mazza, 2002).

Les flavonoïdes sont souvent rencontrés dans les légumes-feuilles (salade, Chou, épinard, etc.) ainsi que dans les téguments externes des fruits (Chebil., 2006). Ils sont présents également dans plusieurs plantes médicinales. Les travaux relatifs, aux flavonoïdes se sont

multipliés depuis la découverte du « French paradox », correspondant à un bas taux de mortalité cardiovasculaire observé chez des populations méditerranéennes associant une consommation de vin rouge à une prise importante de graisses saturées (Prochazkova *et al.*, 2011).

II.1.1. Localisation des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des membres d'une classe des composés naturels répandue dans le règne des végétaux. Largement distribués dans les feuilles, les graines, l'écorce et les fleurs des plantes (Medić-Šarić *et al.*, 2003 in Mohammadi, 2006), abondants dans les légumes, les feuilles (Marfak, 2003) et les racines des plantes (Fiorucci, 2006). Ils sont présents dans les aliments de nature végétale (légumes, céréales, légumineuses, fruits, etc.) et boissons (vin, cidre, bière, thé, cacao, etc.). Cette présence est en grande partie influencée par des facteurs génétiques et des conditions environnementales.

Ils sont universellement présents dans la cuticule foliaire et dans les cellules épidermiques des feuilles et sont susceptibles d'assurer la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement ultra-violet (UV) (Hadi, 2004). Les familles les plus riches en flavonoïdes sont : *Fabacées*, *Myrtacées* et *Polygonacées* (Ghestem *et al.*, 2001).

II.1.2. Structure et origine des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés de faible poids moléculaire, ils ont une origine biosynthétique commune et de ce fait, présentent le même élément structural de base à savoir l'enchaînement 2-phénylchromane ; ils sont constitués de quinze atomes de carbone (C6-C3-C6), essentiellement, la structure se compose de deux cycles aromatiques A et B, reliés par un pont de trois carbones, le plus souvent sous forme d'un hétérocycle C (Ignat, 2011) (fig. 06).

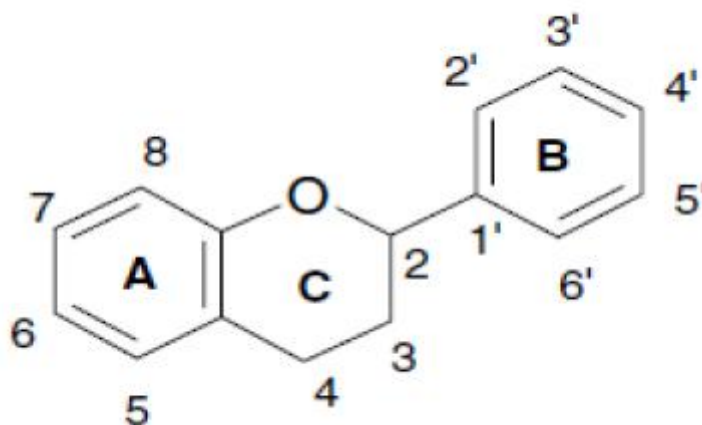


Figure 06: Structure générale d'un flavonoïde (Balasundram *et al.*, 2006).

Ils peuvent être regroupés en une douzaine de classes selon le degré d'oxydation du noyau pyranique central (Bruneton, 2009) : flavone, flavonol, flavanol, anthocyane, aurone.....

Le cycle aromatique A est dérivé de la voie acétate/malonate, tandis que le cycle B est dérivé de la phénylalanine par la voie de shikimate sous l'intervention de la chalcone synthase (CHS) (Merghem, 2000). Dans les conditions physiologiques normales, chalcone tend à s'isomériser spontanément en flavanone. En fait, la cyclisation de la chalcone est catalysée par une enzyme, la chalcone isomérase (CHI), qui induit une fermeture de cycle conduisant à une flavanone constituant le squelette de base des flavonoïdes.

Plusieurs enzymes (synthase, réductase, hydroxylase) contribuent à l'apparition des différentes classes de flavonoïdes, et dans chaque classe, les molécules sont ensuite diversifiées par hydroxylation (flavonoïdes 3'-hydroxylase, flavonoïde 3', 5'-hydroxylase), méthylation (*O*-méthyltransférase), glycosylation (rhamnosyl transférase, flavonoïde glycosyl transférase), acylation (acyl-CoA transférase) ou polymérisation (Merghem, 2000). La Figure 07 présente les voies de biosynthèse des flavonoïdes adaptées selon Bruneton (1999).

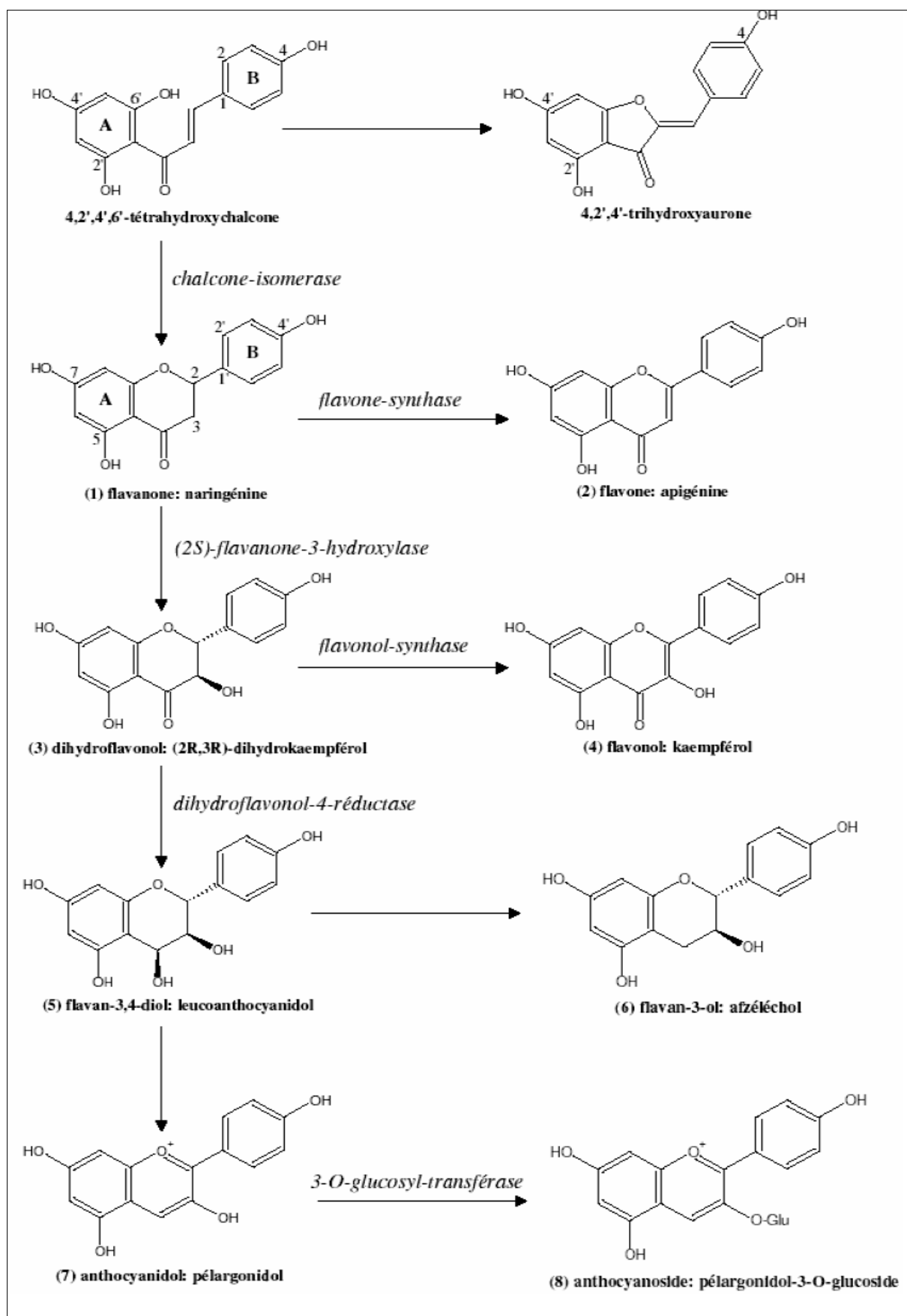
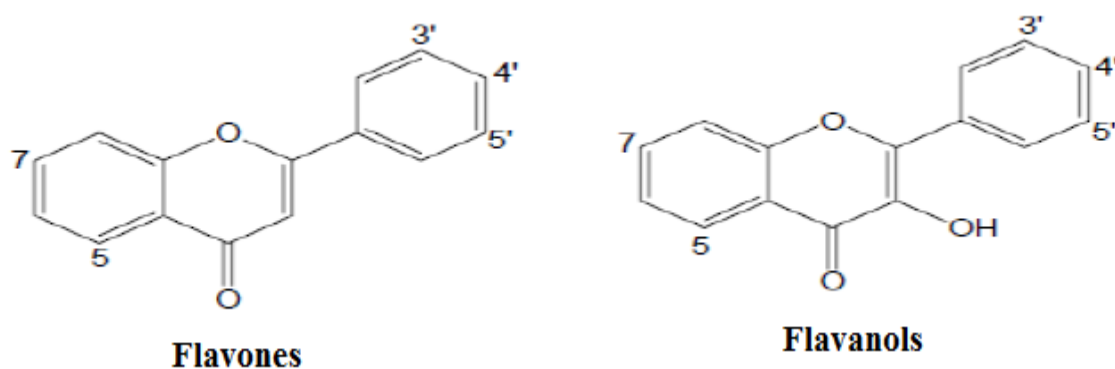


Figure 07: Biosynthèse des flavonoïdes (Bruneton, 1999).

II.1.3. Principales classes de flavonoïdes

II.1.3.1. Flavones et flavonols

Les flavones et flavonols sont les composés flavonoïdiques les plus répandus (fig. 08) ; en 2004, on dénombrait plus de 1100 génines de structure connue (530 flavones et 600 flavonols), et environ 1400 hétérosides de flavonols et 700 hétérosides de flavones (Bruneton, 2009). Les flavonols diffèrent des flavones par la présence d'un groupement hydroxyle en C3. Chez les flavonols, la position 3 de l'hétérocycle est toujours glycosylée, ainsi que fréquemment la position 7 du cycle A mais jamais la position 5 (Macheix *et al.*, 2006). La teneur des flavonols est plus élevée dans la peau des fruits puisque la lumière en stimule la biosynthèse.



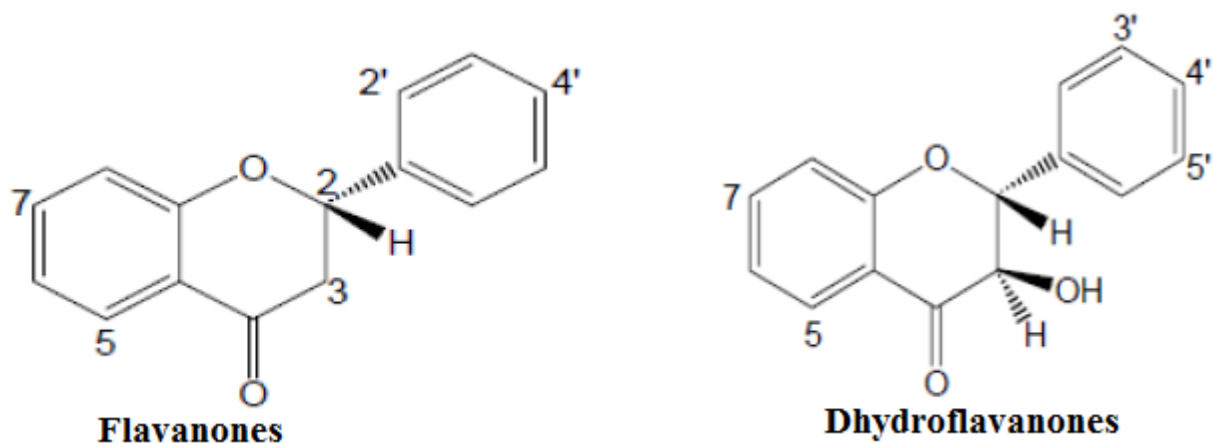
Flavonoïdes	Substitution					
	5	6	7	3'	4'	5'
Apéginine	OH		OH		OH	
Chrysine			OH			
Lutéoline	OH		OH	OH	OH	

Flavonoïdes	Substitution					
	5	7	3'	4'	5'	
Kaempférole	OH	OH		OH		
Méricétine	OH	OH	OH	OH	OH	
Quercitine	OH	OH	OH	OH		

Figure 08: Quelques exemples des flavones et flavonols (Bruneton, 2009).

II.1.3.2. Flavanones et dihydroflavonols

Les flavanones et dihydroflavonols sont caractérisés par l'absence de la double liaison entre le C2 et C3. Les dihydroflavonols se différencient des flavanones par la présence d'un groupement hydroxyle en position 3 (Bruneton, 2009) (fig. 09). Les flavanones se retrouvent surtout dans les agrumes et les tomates. La menthe constitue également une source abondante (Benbrook, 2005 ; Ignat, 2011).



Flavonoïdes	Substitution					
	5	6	7	3'	4'	5'
Eriodictyol	OH		OH	OH	OH	
Hesperidine	OH		OH	OH	OMe	
Naringénine	OH		OH		OH	

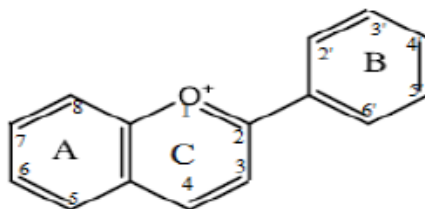
Flavonoïdes	Substitution				
	5	7	3'	4'	5'
Taxifoline	OH	OH	OH	OH	
Fusetine		OH	OH	OH	

Figure 09: Quelques exemples des flavanones et dihydroflavonols (Bruneton, 2009).

II.1.3.3. Les anthocyanes

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

Les anthocyanines sont des flavonoïdes porteurs d'une charge positive sur l'oxygène de l'hétérocycle C (fig. 10). Les anthocyanes se différencient par leur degré d'hydroxylation et de méthylation, par la nature et la position des oses liés à la molécule. L'aglycone ou anthocyanidine constitue le groupement chromophore du pigment.



Anthocyane et leur couleur	Substitution					
	3	5	7	3'	4'	5'
Delphinidine (bleue-violette)	OH	OH	OH	OH	OH	OH
Cyanidine (rouge)	OH	OH	OH	OH	OH	
Pelargonidine (orange, rouge)	OH	OH	OH		OH	
Malvidin (mouve)	OH	OH	OH	OME	OH	OMe

Figure 10: Structure du noyau flavylum ou 2- phénylbenzopyriliun (Knežević *et al.*, 2012)

II.1.4. Activités biologiques et intérêts pharmacologiques des flavonoïdes

Particulièrement les aglycones sont pharmacologiquement efficaces. Plusieurs d'entre elles exercent des effets hépatoprotecteurs, diurétiques, antibactériens et chemoprotectifs : effets antiinflammatoires, antidiabétiques, antiallergique et autres (Bartošíková *et al.*, 2003).

Des effets antiulcéreux et antihépatotoxique, beaucoup ont des actions antivirales et certains fournissent une protection contre les maladies cardiovasculaires, ils ont une inhibition de la croissance de diverses variétés de lignées de cellules cancéreuses (Narayana *et al.*, 2001). Certains flavonoïdes (notamment du soja) ont un effet préventif sur le cancer du sein, de la prostate et l'ostéoporose (Besle *et al.*, 2004).

Des études suggèrent un rôle protecteur des flavonoïdes contre les maladies coronariennes, en empêchant le dépôt de graisses sur les parois des artères (Zabri *et al.*, 2008).

Les flavonoïdes peuvent empêcher le diabète ou du moins le réduire en inhibant l'enzyme aldose réductase (Marfak, 2003).

Les flavonoïdes sont des puissants inhibiteurs de l'oxydation des LDL (Low Density Lipoprotein). Cependant, leur teneur dans les lipoprotéines est mal connue, à la différence d'autres antioxydants incorporés dans les lipoprotéines tels que α -tocophérol et le β -carotène. Ainsi, ils seraient capables de réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}) aboutissant à la formation de radicaux hydroxyles par réaction entre (Fe^{3+}) et H_2O_2 (Milane, 2004).

Les travaux de Harikrichna *et al.* (2004) ont démontré le pouvoir antimicrobien d'un flavonoïde glycoside (prunine-6''-O-p-coumarate) contre deux souches de bactéries Gram⁺ (*Bacillus subtilis* et *Staphylococcus albus*) et deux bactéries Gram⁻ (*Escherichia coli* et *Proteus vulgaris*).

D'après une enquête de Hertog *et al.* (1993), la présence des flavonoïdes en quantité importante dans l'alimentation diminue de 68 % les risques cardiovasculaires par rapport à une alimentation qui est faiblement pourvue (cité par bouzid, 2009).

II.2. Les acides phénoliques et les coumarines

II.2.1. Les acides phénoliques

Le terme acide- phénol peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et hydroxyl phénolique (Bruneton, 1999). La pratique courante en phytochimie consiste à réserver ce terme aux dérivés de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique (fig. 11 et 12). Les acides hydroxy benzoïques et hydroxycinnamiques existent rarement sous forme libres, mais sont généralement trouvés sous formes conjuguées d'esters et de glycosides (Hager & Howard, 2009).

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

II.2.1.1. Les acides hydroxybenzoïques

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

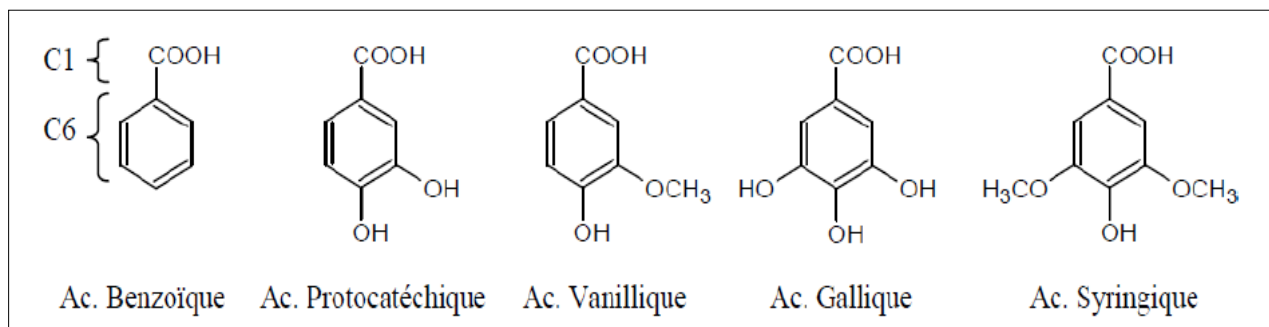


Figure 11: Quelques exemples d'acides phénols dérivés de l'acide benzoïque (C6-C1) (Bruneton, 1999).

II.2.1.2. Les acides hydroxycinnamiques

Les acides hydroxycinnamiques représentent une classe très importante dont la structure de base (C6-C3) dérive de celle de l'acide cinnamique (fig. 12). Le degré d'hydroxylation du cycle benzénique et son éventuelle modification par des réactions secondaires (par méthylation chez les acides féruliques ou sinapique) sont un des éléments important de la réactivité chimique de ces molécules (Macheix *et al.*, 2006).

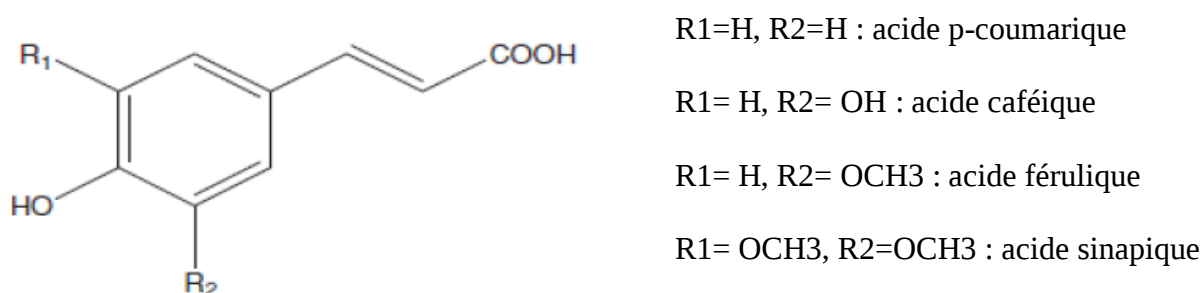


Figure 12: Quelques exemples d'acides phénols dérivés de l'acide cinnamique (C6-C3) (Macheix *et al.*, 2006).

II.2.2. Les coumarines

Les coumarines tirent leur nom de « coumarou », nom vernaculaire de fève tonka (*Dipterix odorata* Wild., Fabaceae) d'où fut isolée en 1982 (Bruneton, 1993).

Les coumarines sont des substances naturelles dérivant de la benzo- α -pyrone ; ils résultent de la lactonisation de l'acide ortho-hydroxycinnamique (fig. 13).

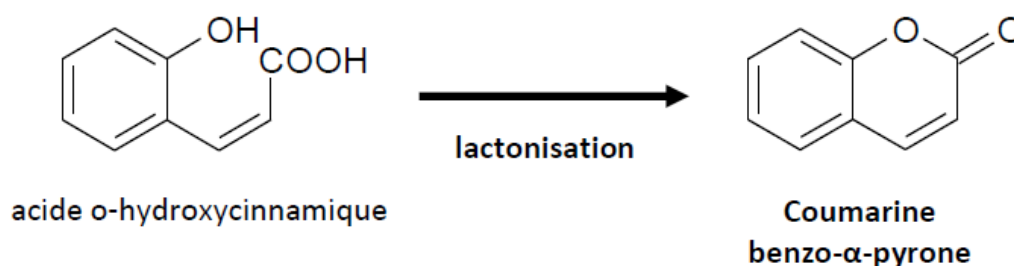


Figure 13: Squelette de base des coumarines (Ford *et al.*, 2001).

Le squelette de base des coumarines est constitué de deux cycles accolés avec neuf atomes de carbone (Ford *et al.*, 2001). Les coumarines constituent une classe importante de produits naturels, elles donnent une odeur caractéristique semblable à celle du foin fraîchement fauché. A l'exception des algues, ces composés sont les constituants caractéristiques du règne végétal

chlorophyllien. Les familles les plus riches en coumarines sont : *Légumineuse*, *Rutacées*, *Apiécées* et *Thymeleacées*. Elles se trouvent dans toutes les parties de la plante et notamment dans les fruits et les huiles essentielles des graines (Guignard ,1998 ; Deina *et al.*, 2003 ; Booth *et al.*, 2004).

Les coumarines ont des effets différents sur le développement des plantes suivant leur concentration et aussi selon l'espèce. Dans la cellule végétale, elles sont principalement présentes sous forme glycosylée (Hofmann, 2003). Cette glycosylation est une forme de stockage permettant d'éviter les effets toxiques de ces molécules. Elles sont considérées comme des phytoalexines, c'est-à-dire des métabolites que la plante synthétise en grande quantité pour lutter contre une infection causée par des champignons ou par des bactéries. Les coumarines peuvent également se trouver dans le règne animal (les glandes à sécrétion odoriférante du castor) et chez certains microorganismes (Hofmann, 2003).

On peut classer les coumarines en cinq catégories : (Guignard, 1998 ; Deina *et al.*, 2003 ; Booth *et al.*, 2004) (tab. 02).

Tableau 02 : Les différents types des coumarines

Type de coumarine	Exemple
Coumarines simples	Coumarine, Ombelliferone
Coumarines prenylées	Rutaculine ,Osthol.
Furanocoumarines	Furanocoumarines lineaires : Bergaptene, Imperatorine. Furanocoumarines angulaires : Angelicine, Pimpinéline.
Pyranocoumarines	La visnadine.
Les coumarines peuvent également exister à l'état dimérique ou trimérique	Tricoumarines : Triumbellattine. Dicoumarines (coumarines dimerique) : Dicoumarol.

II.2.2.1. Activités biologiques et intérêts pharmacologiques des coumarines

Les coumarines sont des molécules biologiquement actives, elles manifestent diverses activités : anti-agrégation plaquettaire, anti-inflammatoire, anticoagulante, antitumorale, diurétiques, antimicrobienne, antivirale et analgésique (Ochockda *et al.*, 1995; Taguchi, 2000).

Ces molécules sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxyde et peroxydes (Anderson *et al.*, 1996 ; Hu *et al.*, 2005).

Les coumarines se révèlent être des composés thérapeutiquement promoteurs dans l'amélioration du système immunitaire (action immunostimulante) : l'administration de la coumarine et de l'ombelliférone par des malades atteints de cancers ou de brucellose a raison de 100 mg par jour a provoqué une augmentation des lymphocytes T (Helper) dans la circulation sanguine (Bruneton, 1993 ; Stefanova *et al.*, 2007).

Une activité antifongique significative a également été reportée pour certaines coumarines. Pour l'activité antibactérienne, les coumarines sont efficaces contre les bactéries à Gram positif (Cottiglia *et al.*, 2001 ; Khan *et al.*, 2005; Laure, 2005).

Après stimulation par des rayonnements ultra-violet de grande longueur d'onde (365 nm), certaines furanocoumarines ont la propriété de stimuler fortement la synthèse de mélanine par les mélanocytes cutanées, à travers une augmentation de leur activité mitotique. Cette propriété a été exploitée par les égyptiens pour le traitement de la dépigmentation (Bruneton, 1993). Par ailleurs, des chercheurs espagnols ont évalué l'activité anti-VIH de onze composés dérivés de la 4-phényl coumarine isolés de l'espèce *Marila pluricostata* (Redoyal *et al.*, 2005).

Il convient d'ajouter que les furanocoumarines sont impliquées dans bien d'autres mécanismes biologiques que nous ne pouvons décrire ici, mais qui constituent des pistes de recherches pour le traitement de maladies comme la sclérose en plaque et la dépression (Veselovskaya *et al.*, 2006).

II.2.2.2. Toxicité des coumarines

La coumarine n'est pas toxique en soi, elle peut être convertie par les champignons, en une toxine le dicoumarol qui est typiquement présente dans le foin moisi ; chez le bétail, le dicoumarol provoque des hémorragies fatales en inhibant la vitamine K qui est un facteur de coagulation du sang (Schorderet, 1992 ; Repcak *et al.*, 2001; Khan *et al.*, 2005).

Chez l'homme en cas d'une exposition à la lumière solaire, la consommation des espèces végétales renferment des furanocoumarines linéaires ou angulaires provoque une dermatite phototoxique d'intensité variable allant du simple érythème jusqu'à l'apparition de bulles et de vésicules au niveau des zones exposées, quelques jours après le contact, les zones touchées présentent une hyperpigmentation (Bruneton, 1999).

Les furanocoumarines linéaires peuvent être le support de cycloaddition avec les bases pyrimidiques de l'ADN ou de l'ARN, la duplication des brins est alors bloquée ainsi que la traduction des ARN. Cette propriété est souvent invoquée pour expliquer les caractères mutagènes et carcinogènes de ces molécules (Bruneton, 1999).

II.3. Les tannins

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, galls de certaines fougères, gymnospermes et angiospermes (Swain, 1979). Ces substances ont la capacité de transformer des peaux d'animaux en cuir bien plus résistant face aux bactéries, à la chaleur et à l'abrasion que le matériau originel.

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 protéines (Bate-Smith & Swain, 1962 in Zucker, 1983). Ils représentent environ 2 à 5 % de la masse du bois (Gandini & Belgacem, 1996).

II.3.1. Structure chimique et classification

En 1920, Freudenberg établit la classification des tannins la plus largement acceptée. Il les divise en deux groupes basés sur des différences structurales : les tannins hydrolysables et les tannins non hydrolysables, ou tannins condensés (Salunkhe, 1990). En 1977, Swain établit une classification en quatre groupes, comprenant les deux groupes cités ci-dessus, et deux autres les oxytannins et β -tannins qui ne sont pas véritablement reconnus comme des vrais tannins (Bernays *et al.*, 1989).

II.3.1.1. Tannins hydrolysables

Ce sont des esters de glucose, c'est-à-dire un noyau central de glucose sur lequel se fixent, au moyen d'une liaison ester, des acides : l'acide gallique pour le groupe des gallotannins, l'acide hexahydroxydiphénique (ou ellagique) pour le groupe des ellagitannins (fig. 14). Leur hydrolyse, par des acides, des bases ou certaines enzymes, libère le glucose ainsi que les acides gallique ou phénolique liés (Brown, 1964 ; Swain, 1979 ; Salunkhe, 1990). Ils n'existent que chez les dicotylédones (Bernays *et al.*, 1989).

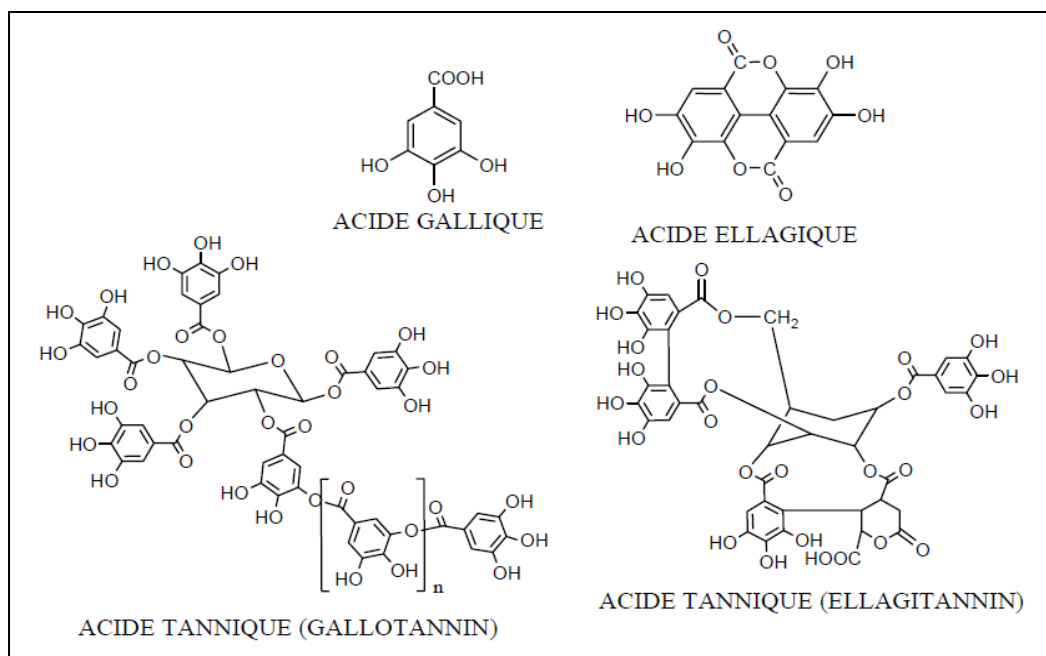


Figure 14: Structure des tannins hydrolysables et des acides associés.

II.3.1.2. Tannins condensés

De structure plus complexe (fig. 15), ils sont de loin les tannins les plus largement rencontrés dans les plantes vasculaires, des dicotylédones aux plantes les plus primitives, fougères et gymnospermes. On les appelle également proanthocyanidines car les tannins condensés produisent des anthocyanidines quand on les chauffe dans l'acide (Waghorn & McNabb, 2003). Ce sont des polymères de flavan-3-ols (appelés aussi catéchines) et de flavan-3,4-diols (appelés leucoanthocyanidines), ou un mélange des deux (Swain, 1979 ; Salunkhe, 1990). Les tannins condensés sont des polymères de fort poids moléculaire, les plus couramment décrits faisant 5000 Daltons, mais on en a découvert de plus de 30 000 Daltons (Würsch *et al.*, 1984 in Bravo, 1998). Les chaînes de polymères comptent de 2 à 20 unités environ, et il existe de nombreuses hydroxylations possibles en différents endroits de chaque monomère. Cette diversité structurale explique les variations d'activité biologique (Waghorn & McNabb, 2003).

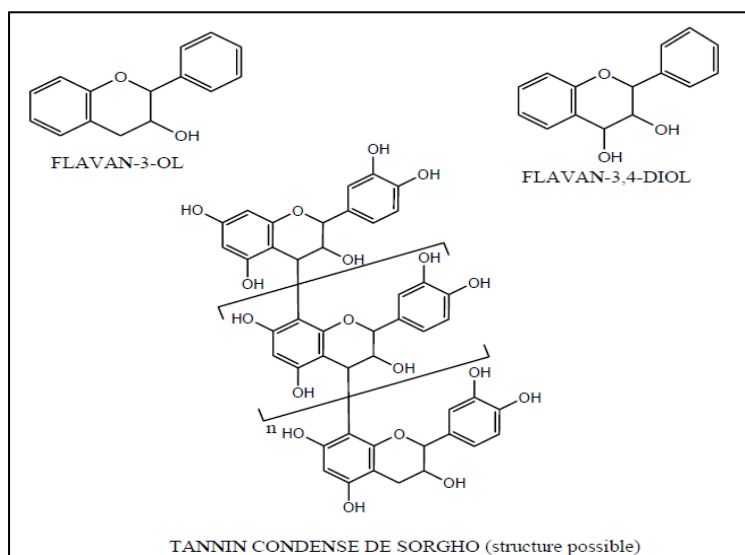


Figure 15: Structure des tannins condensés (Swain, 1979 ; Salunkhe, 1990).

II.3.2. Biosynthèse des tannins

Les tannins sont synthétisés à partir de la phénylalanine (fig. 16) par la voie dite de l'acide shikimique (Haslam, 1966 ; Swain, 1979).

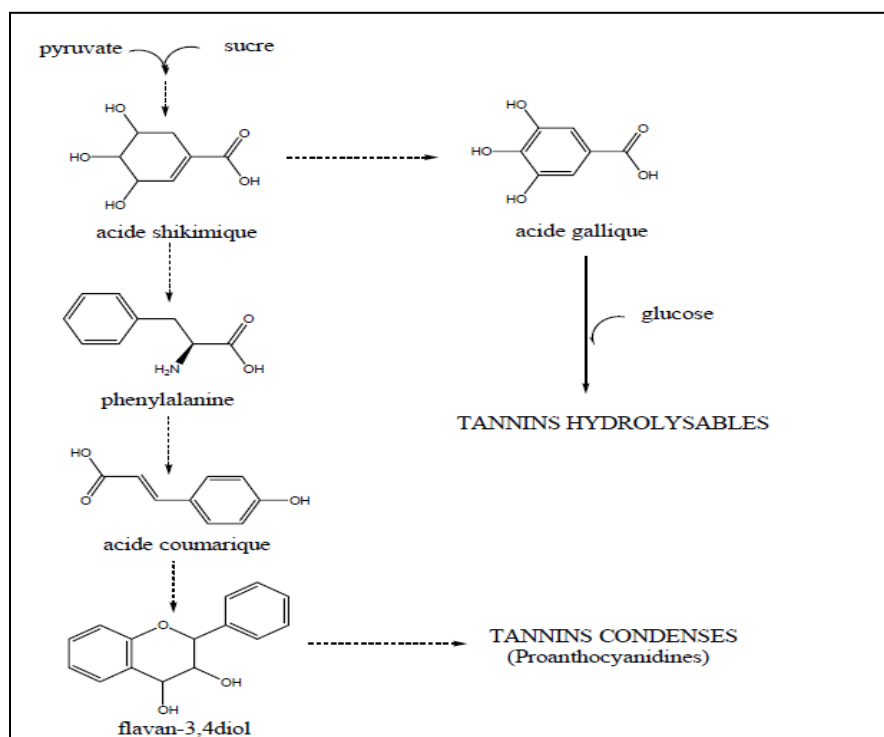


Figure 16 : Voie de synthèse des tannins (Haslam, 1966 ; Swain, 1979).

La synthèse des tannins hydrolysables à partir d'acide gallique passe tout d'abord par l'ajout de groupements galloyle au noyau d'acide gallique, ce qui mène au pentagalloylglucose. Puis les gallotannins seront formés par addition de nouveaux groupements galloyle sur ce noyau

pentagalloylglucose (fig. 17), alors que les ellagitannins verront des processus d'oxydation créer des liaisons carbone entre différents pentagalloylglucoses, ce qui mènera à des dimères et oligomères dérivés (Grundhöfer *et al.*, 2001).

Les parois cellulaires du mésophylle des feuilles, les chloroplastes et les espaces intercellulaires sont le site privilégié de la synthèse des tannins hydrolysables (Grundhöfer *et al.*, 2001 ; Grundhöfer & Gross, 2001).

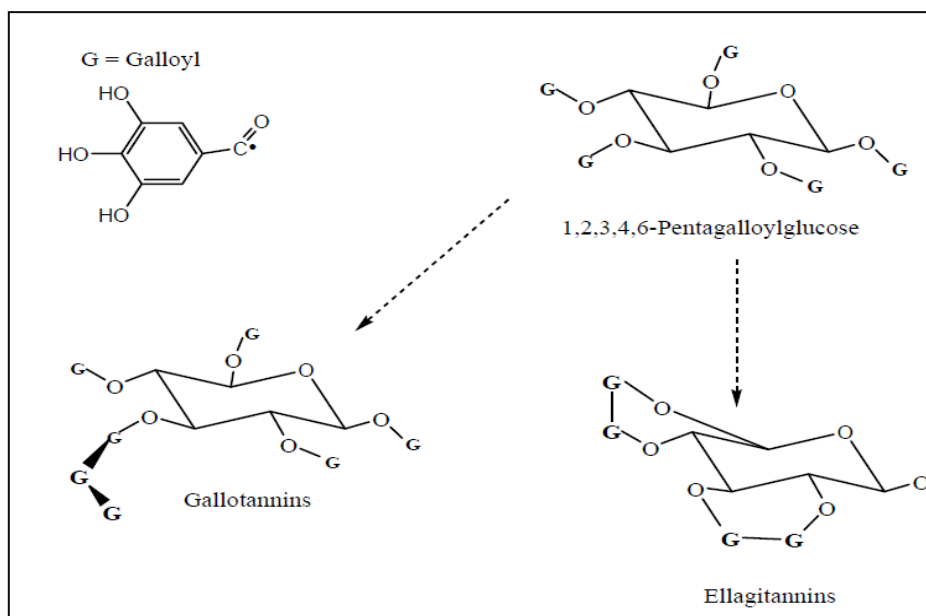


Figure 17: Synthèse des gallotannins et ellagitannins à partir du pentagalloylglucose (Grundhöfer *et al.*, 2001)

La polymérisation des flavan-3-ols (tannins condensés) se fait au moyen de liaisons entre les atomes de carbone positionnés en C4 et en C8.

II.3.3. Toxicité des tannins

Les composés secondaires peuvent agir de deux manières, comme inhibiteurs de la digestion ou comme toxines. Les toxines agissent de manière spécifique après avoir traversé les membranes, ce qui permet une toxicité importante pour des quantités ingérées très faibles. Les inhibiteurs de digestion agissent directement dans l'intestin et perturbent les processus digestifs de différentes manières (Waterman, 1984).

Les tannins ont des effets toxiques et/ou réduisent (souvent, mais pas toujours) la digestion, en réduisant la digestibilité de la matière sèche, de l'azote et des fibres (Foley *et al.*, 1999).

II.3.4. Activité biologique et intérêt pharmacologique des tanins

Les tannins sont d'efficaces moyens de défense contre les herbivores, mais on suppose que leur rôle majeur dans l'évolution a été de protéger les plantes des attaques fongiques et

bactériennes. Les tannins, tout comme les lignines, ont toujours été d'une grande importance pour le succès évolutif des plantes, plus particulièrement pour le développement des formes arborescentes, et ils réduisent à la fois la biodisponibilité des protéines et polysaccharides des plantes et l'activité des enzymes digestives et microorganismes de l'estomac de l'herbivore. Les tannins peuvent également former des complexes avec d'autres polymères naturels comme les acides nucléiques et les polysaccharides (Swain, 1979).

Les tannins ont d'autres utilisations commerciales que le tannage des peaux : ils forment des complexes noirs avec les sels ferreux, propriété utilisée pour la production d'encre, ils sont utilisés comme antidotes des alcaloïdes, des glycosides et des ions de métaux lourds grâce à leur affinité chimique. Ils apportent également une part importante du goût de nombreux aliments et boissons (Bernays *et al.*, 1989).

Les applications médicales des plantes à tanins découlent de leur affinité pour les protéines : ils ont un effet antidiarrhéique, et par voie externe, ils imperméabilisent les couches superficielles de la peau, sont vasoconstricteurs et limitent la perte en fluides. Ces propriétés, ajoutées par ailleurs à leur effet antiseptique, en font des molécules intéressantes pour la régénération des tissus en cas de blessures superficielles ou de brûlures, et les rendent utilisables dans le traitement des diarrhées infectieuses (Okuda *et al.*, 1983 ; Bruneton, 1999).

Les tannins ont des grandes capacités antioxydantes dues à leurs noyaux phénol. Les tannins hydrolysables et condensés sont 15 à 30 fois plus efficaces que les phénols simples (Peronny, 2005).

Quelques tanins ellagiques s'opposent à la mutagénicité de certains cancérigènes et à la transplantation de tumeurs expérimentales (action immunostimulante). Des études menées en Nouvelle-Zélande ont montré que la consommation de plantes à tannins pouvait affecter la biologie de certaines espèces de parasites intestinaux en diminuant la production des oeufs. De nombreuses études ont montré l'effet antimicrobien des tannins sur différents bactéries, virus et champignons (Bakous *et al.*, 1997; Peronny, 2005).

Les tannins ont aussi des propriétés proches de celles des flavonoïdes : augmentation de la résistance capillaire, diminution de la perméabilité capillaire et stabilisation du collagène (Bruneton, 1993).

L'absorption du fer est inhibée par les tannins qui agissent comme des chélateurs naturels dans le tube digestif. La consommation de ces molécules réduit très fortement l'absorption du fer chez les rats, ce qui permet grâce à cette propriété de protéger les animaux sujets à l'hémossidérose (Peronny, 2005).

Chapitre IV

Données générales sur les polysaccharides

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 (Warrand, 2004).

I. Polysaccharides de structures (la paroi végétale)

I.1. Structure de la paroi végétale

Parmi les cellules eucaryotes, la paroi cellulaire est l'une des caractéristiques anatomiques qui différencie la cellule végétale de la cellule animale. Compartiment original de la structure cellulaire végétale, la paroi est aussi considérée aujourd'hui comme un organite à part entière. Sa composition unique ainsi que l'ensemble des liens physiques et chimiques qui la structure lui permette d'assurer un véritable *continuum* à l'interface du symplasme et de l'apoplasme (Mollet, 2006).

Du point de vue anatomique (fig. 18), certaines caractéristiques permettent de définir un modèle général de la paroi cellulaire végétale, se décomposant en trois zones distinctes, de l'extérieur vers l'intérieur de la cellule :

- *la lamelle moyenne*, partie commune située entre deux cellules voisines dont le rôle est d'assurer la cohésion entre les cellules. Son épaisseur varie de 0,2 à 1 μm . Cette paroi, dépourvue de cellulose est riche en pectines.
- *la paroi primaire*, plus mince (0,1- 0,2 μm), constitue la seule enveloppe fibrillaire des cellules en croissance et montre donc une grande plasticité. Elle présente une structure biphasique où les microfibrilles de cellulose sont dispersées dans une matrice amorphe fortement hydratée composée de substances pectiques, d'hémicelluloses et de protéines.
- *la paroi secondaire*, très épaisse (1 à 5 μm) est ajoutée à la paroi primaire lorsque la cellule a cessé de croître. Elle est constituée d'un réseau fibrillaire de cellulose cristalline et d'hémicelluloses. En fonction de l'orientation des fibrilles de cellulose, trois régions distinctes sont définies (S1, S2 et S3). Ces fibrilles de cellulose ont une orientation déterminée qui change rythmiquement et varie d'une strate à l'autre (Charlotte, 2005).

Par endroits, la paroi secondaire est plus fine voire absente, forme ainsi des zones appelées ponctuations, qui permettent un transport rapide, de cellule à cellule, de l'eau et des sels minéraux.

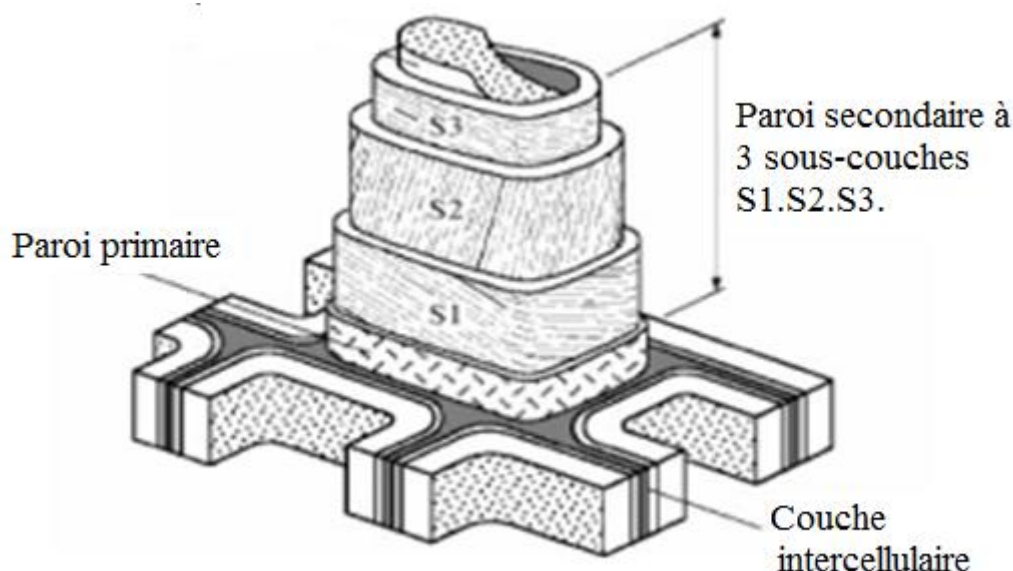


Figure 18: Vue perspective d'une paroi ligneuse (Roland, 1980).

I.2. Rôle de la paroi végétale

La paroi cellulaire donne à la cellule végétale une résistance mécanique importante et explique souvent sa forme caractéristique. Différents niveaux d'organisation vont lui conférer son aspect dynamique et rigide. En effet elle doit être modelable au rythme de la croissance chez les jeunes cellules, tout en restant ferme afin d'assurer son rôle de barrière protectrice et de permettre la cohésion des cellules. Elle doit s'opposer aux chocs osmotiques, à la dessiccation, aux rayons ultraviolets (UV), tout en permettant les échanges intercellulaires et le passage des substances nécessaires au métabolisme cellulaire. Elle assure l'extension du réseau intercellulaire, limite la porosité de la paroi cellulaire, contribue au maintien de l'équilibre physico-chimique du symplaste (eau et ions) et assure la transduction de signaux extracellulaires vers le milieu intra-cellulaire au travers de la libération d'oligosaccharides bioactifs (Perez *et al.*, 2003)..

I.3. Composition polysaccharidique de la paroi végétale

La paroi végétale est un empilement de plusieurs couches constituées de cellulose, d'hémicellulose, de pectines et de lignine dont les proportions dépendent de l'organisme producteur du tissu (McNeil *et al.*, 1984).

I.3.1. La Cellulose

Directement issue de la photosynthèse, la cellulose est la molécule organique la plus abondante sur terre ainsi que le matériau le plus important de la paroi des cellules végétales.

La quantité de cellulose bio-synthétisée par les plantes terrestres est estimée à 100 milliards de tonnes par an, constituant à elle seule 50 % de la masse végétale (Robert & Roland, 1998). Bien que certaines celluloses soient bio-synthétisées par des bactéries, des algues et même des animaux marins (Atalla *et al.*, 2008).

I.3.1.1. Structure de la cellulose

La cellulose est un homopolymère dont le motif monomérique est le glucose dans la configuration D. Les molécules de glucose sont liées de façon linéaire par des liaisons osidiques β -(1,4), le motif dimérique constitutif de la cellulose étant le cellobiose (fig. 19). Cette liaison osidique confère aux chaînes de glucose une conformation tridimensionnelle spécifique stabilisée par des liaisons hydrogène intra- et inter-moléculaires. Les chaînes de glucose s'associent entre elles pour former des microfibrilles (Atalla *et al.*, 2008).

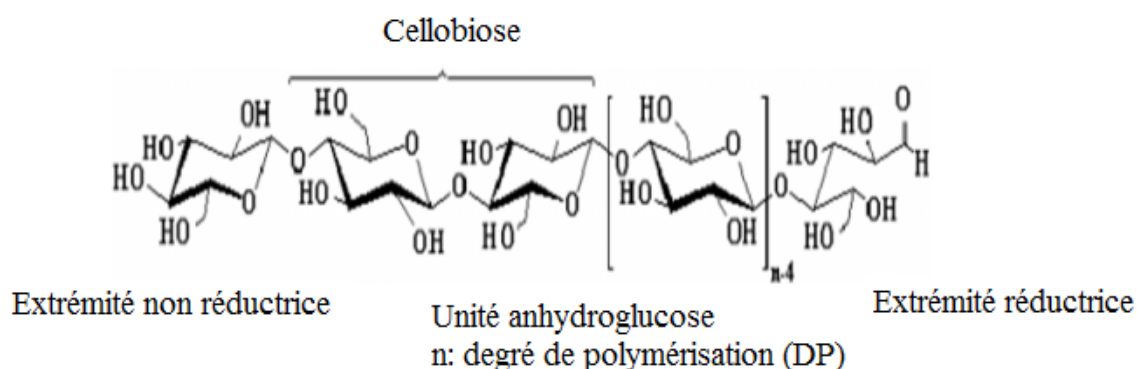


Figure 19 : Représentation de la chaîne de cellulose (Röder *et al.*, 2001 ; Kasaai, 2002).

Par l'intermédiaire de liaisons hydrogène intramoléculaires entre deux résidus glucose successifs, les chaînes de cellulose adoptent des structures en ruban très stables qui s'associent entre elles via des liaisons hydrogène intermoléculaires. Ces dernières favorisent l'organisation des chaînes en domaines cristallins de taille importante et confèrent ainsi aux structures cellulosiques une rigidité et une résistance chimique exceptionnelle (Mansfield & Mooney, 1999). L'unité de structure de la cellulose est la fibrille élémentaire constituée par l'association d'une quarantaine de chaînes individuelles. Le diamètre de ces fibrilles est d'environ 2 à 6 μm . Ces « paquets » de molécules de cellulose sont agrégés entre eux pour former des microfibrilles de diamètre compris entre 60 et 360 μm et de longueur infinie (fig. 20). Ces microfibrilles sont constituées de zones hautement ordonnées (zones cristallines) et d'autres moins ordonnées (zones amorphes) (Wilson & Hamilton, 1986 ; Fenger, 1994). Ces zones amorphes, sont plus susceptibles aux attaques enzymatiques et plus sensibles aux

agressions physiques et chimiques. Les régions cristallines sont constituées par différentes structures cristallines distinctes (Sugiyama *et al.*, 1991).

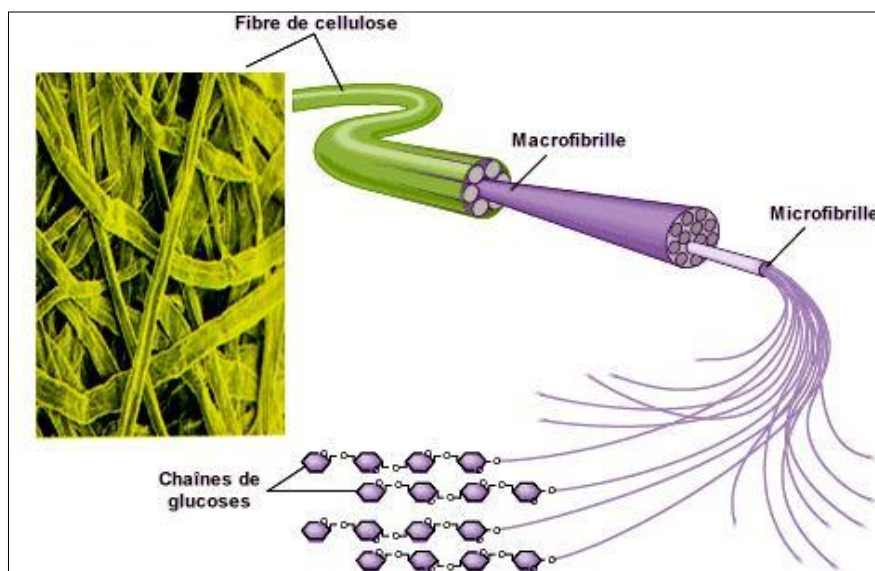


Figure 20: Vue perspective d'une fibre de cellulose.

I.3.2. Les hémicelluloses

Les hémicelluloses sont un des trois composants principaux de la biomasse lignocellulosique, représentant environ 20 à 40 % de la biomasse en poids. Elles constituent un groupe de polysaccharides complexes qui se caractérisent par leur solubilité dans des solutions alcalines et leur insolubilité dans l'eau (Complex Carbohydrate Research Center, 2007).

Les hémicelluloses sont définies structurellement comme des polysaccharides dont le squelette est composé de résidus β -(1,4)-D-pyranose, où l'O4 est en position équatoriale. De courtes chaînes latérales sont fixées sur le squelette (Chavez, 2008; Scheller & Ulvskov, 2010).

Au sein de la paroi cellulaire végétale, les hémicelluloses sont un groupe hétérogène de polymères branchés matriciels relativement de bas poids moléculaire qui sont associés à la cellulose et à d'autres polymères. Elles se lient étroitement à la surface des microfibrilles de cellulose et d'une microfibrille à l'autre, par liaison hydrogène, et dans ce sens sont des glycanes assurant une réticulation. Contrairement à la cellulose, les hémicelluloses contiennent plusieurs sucres à 5 atomes de carbone (sucres C5) tels que le xylose et l'arabinose (principalement dans la configuration furanose), des sucres C6 tels que le glucose, le mannose, le galactose, l'acide galacturonique et l'acide glucuronique et le sucre C7 l'acide 4-O-méthyl glucuronique (fig. 21). Le xylose est le deuxième sucre le plus abondant dans la biosphère après le glucose (Jean, 2011).

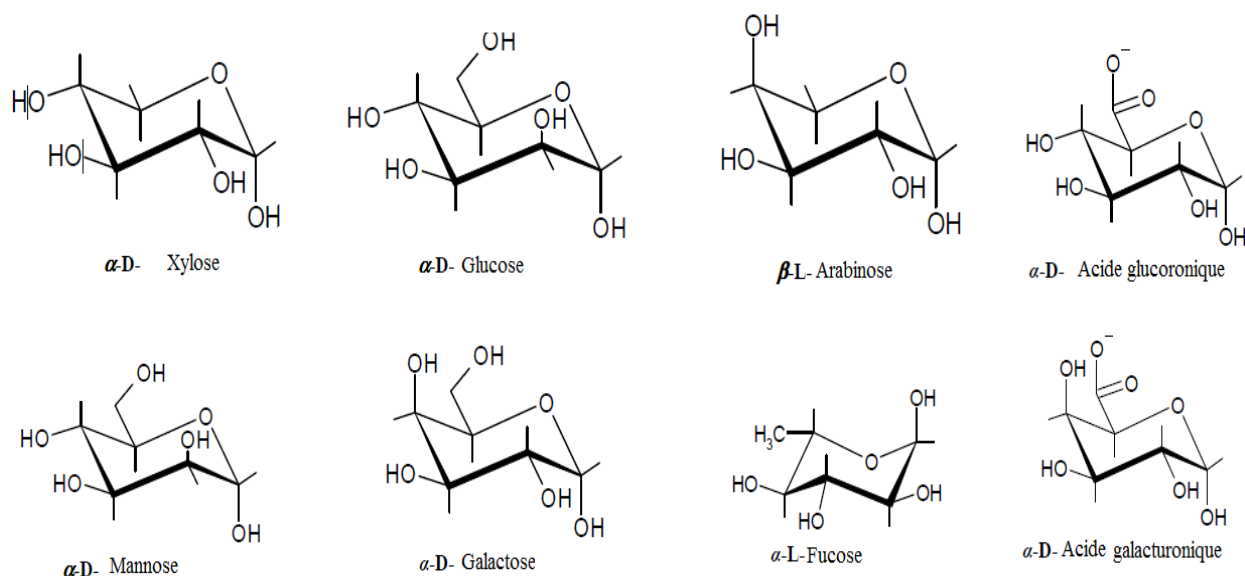


Figure 21 : Quelques sucres importants entrant dans la composition des hémicelluloses (Jean, 2011).

I.3.2.1. Les différents types d'hémicelluloses

Les hémicelluloses peuvent être classées en quatre grands groupes :

I.3.2.1.1. Les xyloglucanes

Ils ont un squelette de résidus glucose (Glc) sur lequel se greffent des résidus xylose (Xyl), galactose (Gal) et fucose (Fuc) ; on les trouve dans de nombreuses parois primaires.

Les xyloglucanes (XyGs) ont été trouvés dans toutes les espèces de plantes terrestres y compris les mousses, mais n'ont pas été trouvés dans les charophytes, qui sont des algues vertes étroitement liées aux plantes terrestres (Popper & Tuohy, 2010; Scheller & Ulvskov, 2010).

Les xyloglucanes sont les hémicelluloses prédominantes dans les parois primaires des dicotylédones et des monocotylédones non graminées où ils peuvent représenter environ 20-25 % du poids sec de la paroi primaire (Fry, 1989).

I.3.2.1.2. Les xylanes

Les xylanes sont un groupe complexe d'hémicelluloses qui présentent la caractéristique commune d'un squelette de résidus xylose reliés en β -1,4. Les xylanes forment des liaisons avec la lignine via les résidus arabinose qui peuvent être estérifiés avec des acides hydroxycinnamiques tels que les acides férulique ou *p*-coumarique. Ce lien entre la lignine et

les polysaccharides confère leur solidité aux parois végétales ainsi que leur récalcitrance à la saccharification enzymatique.

On inclue :

- les **glucuronoxylanes** (GX) qui ont un squelette de résidus xylose sur lequel se greffent des résidus acide glucuronique (GlcA) ou son dérivé *O*-méthylé ; on les retrouve dans les parois secondaires des dicotylédones.
- les **arabinoxylanes** (AX) qui ont un squelette de résidus xylose sur lequel se greffent des résidus arabinose.
- les **glucuronoarabinoxylanes** (GAX) qui ont un squelette de résidus xylose sur lequel se greffent des résidus arabinose et acide glucuronique ; on trouve les arabinoxylanes et les glucuronoarabinoxylanes dans les parois primaires des monocotylédones commelinoides.
- les **homoxylanes** non substitués (MetaCyc, 2008).

III.3.2.1.3. Les mannanes

Les mannanes ont un squelette de résidus D-mannose liés en β -1,4 tandis que les glucomannanes ont un squelette de résidus D-mannose et D-glucose liés également en β -1,4 (Montes, 2008). Les mannanes et les glucomannanes peuvent être substitués en α -1,6 par des résidus D. galactose; ils s'appellent alors galactomannanes et galactoglucomannanes. Les mannanes et les glucomannanes sont souvent acétylés, ils comprennent aussi :

- les **galactomannanes** qui ont un squelette de mannose sur lequel se greffent des résidus galactose ; on les trouve comme composés majeurs de stockage dans les graines de certaines dicotylédones telles que légumineuses (guar, caroube, tara...),
- les **galactoglucomannanes** qui ont un squelette de résidus mannose et glucose sur lequel se greffent des résidus galactose ; on les trouve dans les parois secondaires des gymnospermes (Atalla *et al.*, 1993; Handford, 2003).

Les mannanes et les glucomannanes, substitués ou non par du galactose, sont particulièrement abondants dans les graines et sont généralement considérés comme des polysaccharides de réserve. Cependant, on les trouve en proportions variables dans toutes les parois cellulaires (Scheller & Ulvskov, 2010).

Dans les gymnospermes, les galactoglucomannanes sont des composants majeurs des parois secondaires. Il apparaît que les mannanes ont été très abondants dans les premières plantes terrestres et sont toujours abondants dans les mousses. Dans les spermatophytes, les mannanes et les glucomannanes sont généralement beaucoup moins abondants et ils ont vraisemblablement été remplacés par d'autres hémicelluloses (Jean, 2011).

III.3.2.1.4. Les β -1,3 ; 1,4-glucanes,

Encore appelés glucanes à liaisons mixtes, qui sont très répandus dans les herbes. Le rôle biologique le plus important des hémicelluloses est leur contribution au renforcement de la paroi cellulaire par interaction avec la cellulose, et dans certaines parois avec la lignine (Ordaz-Ortiz *et al.*, 2009). Les β -1,3 ; 1,4-glucanes sont des chaînes non ramifiées de résidus D-glucose liés par des liaisons qui peuvent être β -1,3, ou β -1,4. Ils sont typiques des herbes et des membres de l'ordre des Poales. Ces glucanes à liaisons mixtes sont composés principalement d'unités cellotriosyl et cellotetrasyll liées par des liaisons β -1,3. Les glucanes à liaisons mixtes des parois primaires jouent un rôle significatif dans l'expansion de la cellule et leur teneur est très dépendante de l'état de croissance. Les β -1,3;1,4-glucanes n'ont pas été trouvés dans les dicotylédones (Jean, 2011).

I.3.2.2. Biosynthèse des hémicelluloses

Contrairement à la cellulose qui est synthétisée à la surface de la cellule au niveau de la membrane plasmique, les hémicelluloses sont synthétisées dans l'appareil de Golgi et transportées à la paroi par des vésicules sécrétoires. Les hémicelluloses sont synthétisées à partir de nucléotides-sucre par des glycosyltransférases (GTs) localisées dans les membranes de Golgi. La majorité des enzymes impliquées dans la synthèse de polysaccharides non-cellulosiques sont des protéines membranaires intrinsèques (Somerville *et al.*, 2004).

La similarité structurale entre la cellulose et les hémicelluloses favorise une forte association non-covalente entre les microfibrilles de cellulose et les hémicelluloses (Jean, 2011).

I.3.2.3. Propriétés et applications

Comme ressources renouvelables, les hémicelluloses sont promises à un bel avenir industriel avec des produits comme des additifs alimentaires, des plastiques, des cosmétiques et des produits pharmaceutiques (tab. 3) (Gatenholm & Tenkanen, 2003)

Les hémicelluloses dans la paroi cellulaire jouent le rôle essentiel d'interagir avec d'autres polymères pour assurer les propriétés adéquates de la paroi. Cependant, elles peuvent aussi fonctionner comme carbohydrates de réserve dans les graines (Scheller & Ulvskov, 2010).

Tableau 03 : Applications des hémicelluloses.

Type	Application
Hémicelluloses de réserve	Industrie alimentaire
Hémicelluloses en général	- Films et revêtements - Produits chimiques via hydrolyse et conversion des sucres - Biotechnologie et fermentation des sucres en C5
Galactomannanes	Industrie alimentaire, textiles, papier, explosifs, produits pharmaceutiques, cosmétiques, forage pétrolier et gazier, exploitation minière, hydro-ensemencement
Glucomannanes	Fibres diététiques solubles dans l'eau
Xyloglucanes	Papier, alimentaire, textiles, produits pharmaceutiques, cosmétiques

I.3.3. Les lignines

I.3.3.1. Structure des lignines

Les lignines sont des polyphénols, macromolécules tridimensionnelles hydrophobes de haut poids moléculaire (Charlotte, 2005). Les lignines sont des polymères qui représentent le deuxième constituant le plus abondant dans le bois. Ce sont des substances amorphes de nature partiellement aromatique dont les unités sont trois alcools phénylpropénoïques : l'alcool coumarique, l'alcool coniférylique et l'alcool sinapylique (fig. 22) (Chanliaud, 1995). Leurs précurseurs, les acides hydroxycinnamiques (ou alcools phénylpropénoïques), sont produits au niveau du réticulum endoplasmique des cellules en voie de lignification, à partir de la phénylalanine, désaminée en cinnamate, hydroxylée, méthylée et réduite en alcool au niveau de la fonction carboxyle (Charlotte, 2005). Ce polymère d'unités phénylpropane résulte d'une structure aléatoire tridimensionnelle entre celles-ci (Chanliaud, 1995).

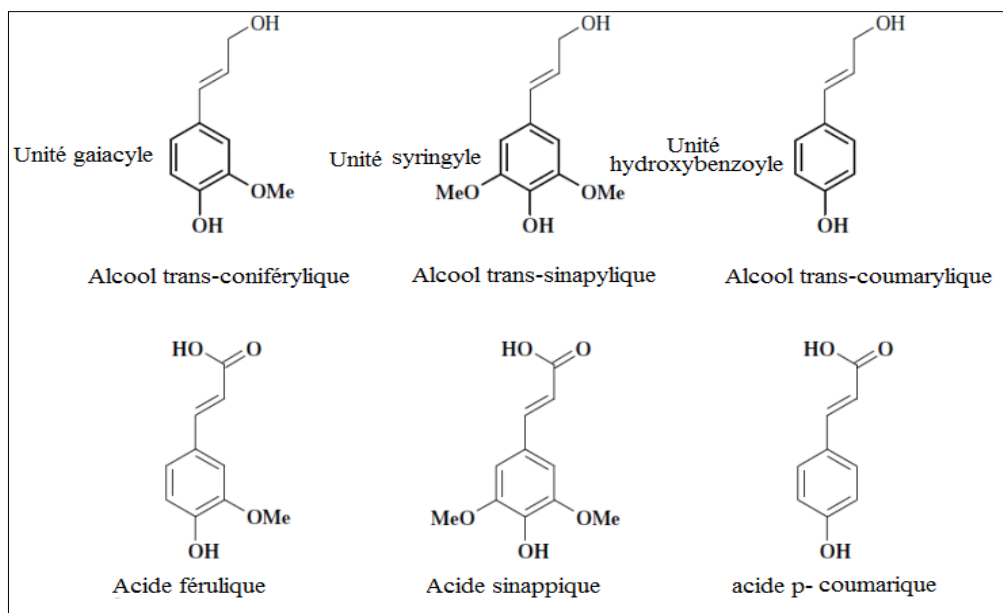


Figure 22: Structure des monolignols et des acides hydroxycinnamiques précurseurs (Chanliaud, 1995)

Ces alcools précurseurs polyfonctionnels sont copolymérisés et forme des structures hétérogènes vastes et amorphes (fig. 23), la teneur de ces composants est différents selon l'origine végétale des lignines (Monties, 1980).

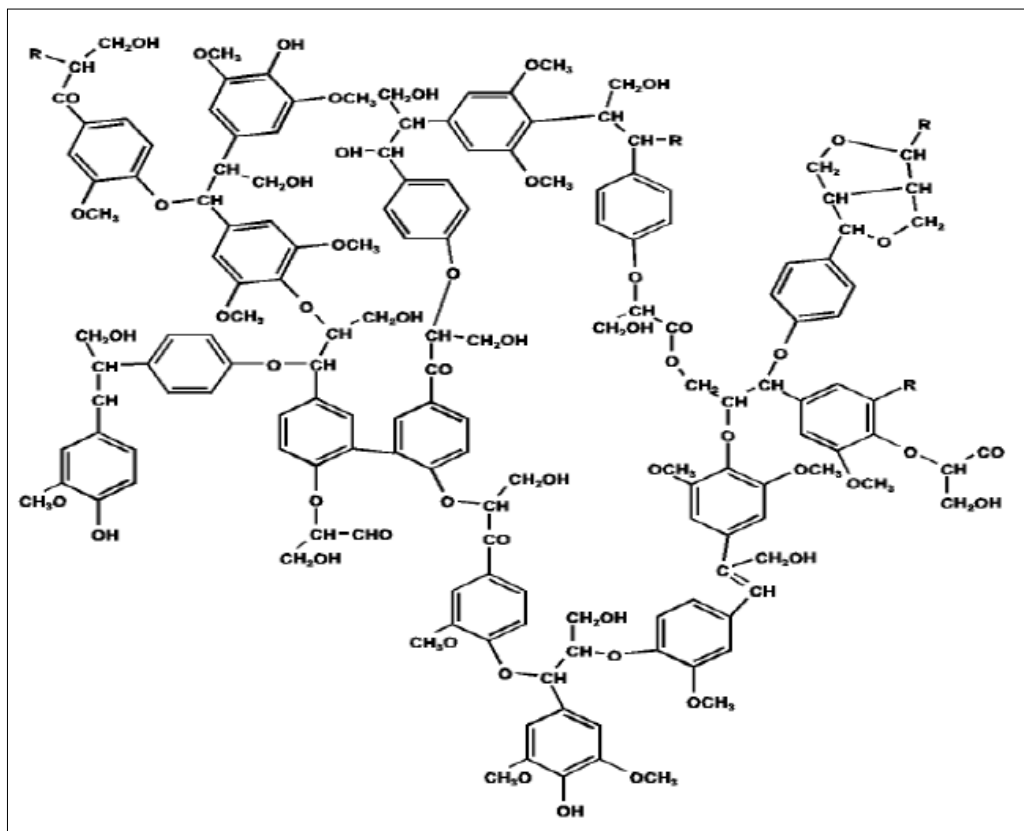


Figure 23 : Schéma structural de la lignine (Monties, 1980).**I.3.3.2. Les différents types de lignine****I.3.3.2.1. La protolignine**

La protolignine est le terme désignant la matrice macromoléculaire de lignine dans son environnement chimique natif de la biomasse lignocellulosique. Il s'agit d'un composé chimique encore mal défini dont les connaissances moléculaires sont toujours en évolution (Davin *et al.*, 2008 ; Zakzeski *et al.*, 2010).

I.3.3.2.2. Les lignines analytiques

L'avantage de ces lignines analytiques est l'abondance des données structurales publiées dans la littérature car elles servent de composés d'étude pour représenter la protolignine. Cependant, ces composés ne sont pas disponibles dans le commerce et leur obtention nécessite du matériel expérimental spécifique et s'accompagne de très faible productivité. Les lignines analytiques sont extraites par des procédés lents et peu dénaturant (Jérémie, 2010).

I.3.3.2.3. Les lignines techniques

Les lignines techniques sont des préparations industrielles provenant de l'industrie du bois. Elles sont donc disponibles commercialement en grandes quantités. Parmi les principales lignines techniques, se distinguent les lignines Kraft, les lignosulfonates, les lignines alcalines, les lignines organosolubles et les lignines explosées à la vapeur (Saake & Lehnen, 2007).

I.3.3.3. Propriétés chimiques des lignines

Les lignines sont difficilement dégradées, très résistantes à de nombreux agents chimiques et biochimiques ; seules certaines bactéries et champignons, comme les Polypores sont capables d'assurer la lignolyse. Elles sont très réactives parce qu'elles contiennent entre autres des fonctions phénoliques et hydroxyles (Charlotte, 2005), et sont insolubles dans l'eau, les acides et les solvants organiques communs du fait qu'elles constituent un réseau infini, mais partiellement solubles dans les solutions alcalines. On peut dégrader la lignine grâce à des agents d'oxydation (Chanliaud, 1995 ; Charlotte, 2005), elles possèdent la capacité de former des liaisons covalentes (de type éther) avec l'acide férulique. Cet acide férulique lié via des liaisons covalentes de type esters aux hémicelluloses (Brett & Waldron, 1996).

I.3.3.4. Rôle des lignines

Les lignines remplacent l'eau et créent un environnement hydrophobe à l'intérieur du réseau pariétal. De ce fait, la présence de lignines renforce les liaisons hydrogène qui relient le réseau cellulose-hémicellulose et entravent la pénétration d'enzymes ou d'autres molécules nécessitant la présence d'eau (Brett & Waldron, 1996).

Les lignines consistent à colmater les espaces entre les microfibrilles et agissent comme matière de cimentation en conférant au bois sa résistance et sa compacité. Lorsqu'elles sont extraites par le bisulfite en milieu acide, les lignines conduisent à des composés nommés lignosulfonates, utilisés à l'échelle industrielle comme plastifiants ou complexants par exemple. De manière générale, les lignines sont aussi utilisées comme additifs dans des matériaux adhésifs (Chanliaud, 1995). La lignine est induite par la plupart des stress biotiques et abiotiques et joue un rôle important dans la résistance aux maladies et autres adversités (Sederoff *et al.*, 1994).

I.3.4. Les pectines

En 1825, Bracanat isole la molécule qu'il décrit comme responsable de la gélification. Elle fut nommée pectine, du grec pectos : rigide. Il s'agit en fait d'un groupe de polysaccharides complexes présents dans la plupart des végétaux supérieurs. Les pectines sont situées dans la paroi primaire (Ridley *et al.*, 2001; Willats *et al.*, 2001).

I.3.4.1. Structure des pectines

Sur le plan structural, les pectines sont des polysaccharides dont le squelette linéaire est principalement constitué d'un enchaînement d'unités d'acide α -D-galacturonique liées entre elles par des liaisons α -(1-4), interrompu par la présence d'unités L-rhamnopyranose. Les fonctions acides sont souvent estérifiées par des groupements méthyles ou salifiées par des ions monovalents ou divalents tels que le potassium (K^+), sodium (Na^+) et le calcium (Ca^{2+}). Cette estérification joue un rôle important sur les propriétés physico-chimiques des pectines, notamment sur la formation de gels. D'autres glucides sont présents dans les pectines, comme le β -D-galactose, le β -D-glucose, le β -L-arabinose, le β -D xylose et le α -D- fucose. Chaque unité rhamnose introduit dans la chaîne un coude et confère donc à l'ensemble une configuration en zig-zag. Des chaînes latérales de natures diverses, arabinanes, galactanes et arabinogalactanes sont aussi greffées sur le squelette rhamnogalacturonique, d'où la grande diversité de ces polymères (fig. 24 et 25) (Ridley *et al.*, 2001 ; Charlotte, 2005).

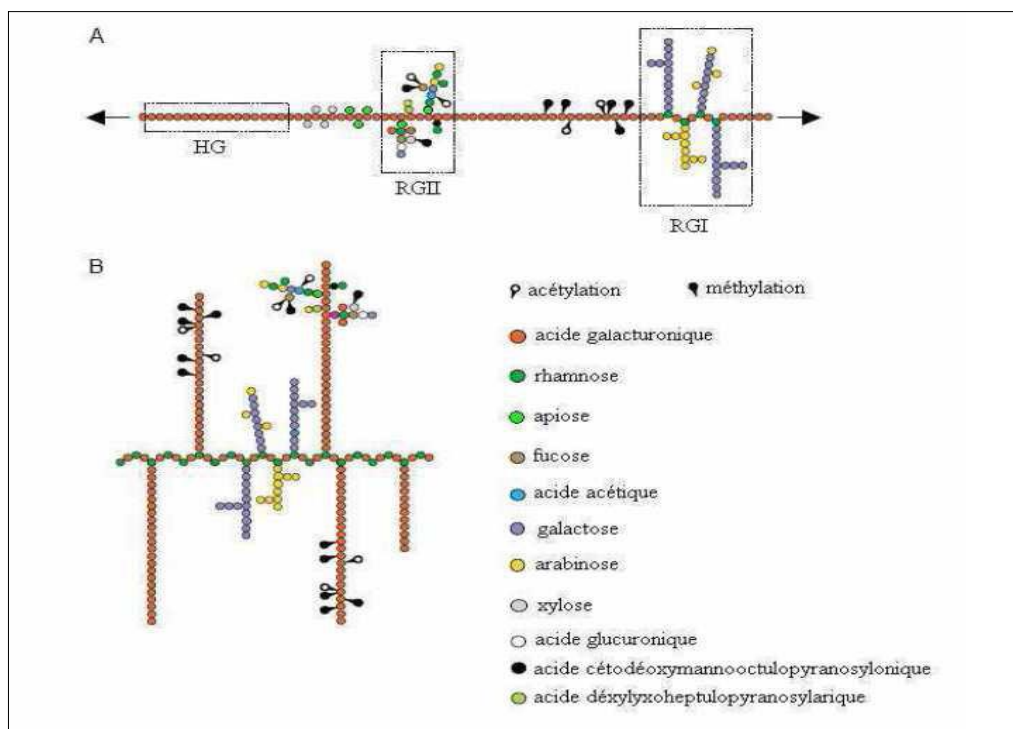


Figure 24 : Représentation schématique de la structure d'une macromolécule pectique
a) selon la représentation conventionnelle et b) selon le nouveau modèle proposé par Vincken
et al. (2003) et Willats *et al.* (2006).

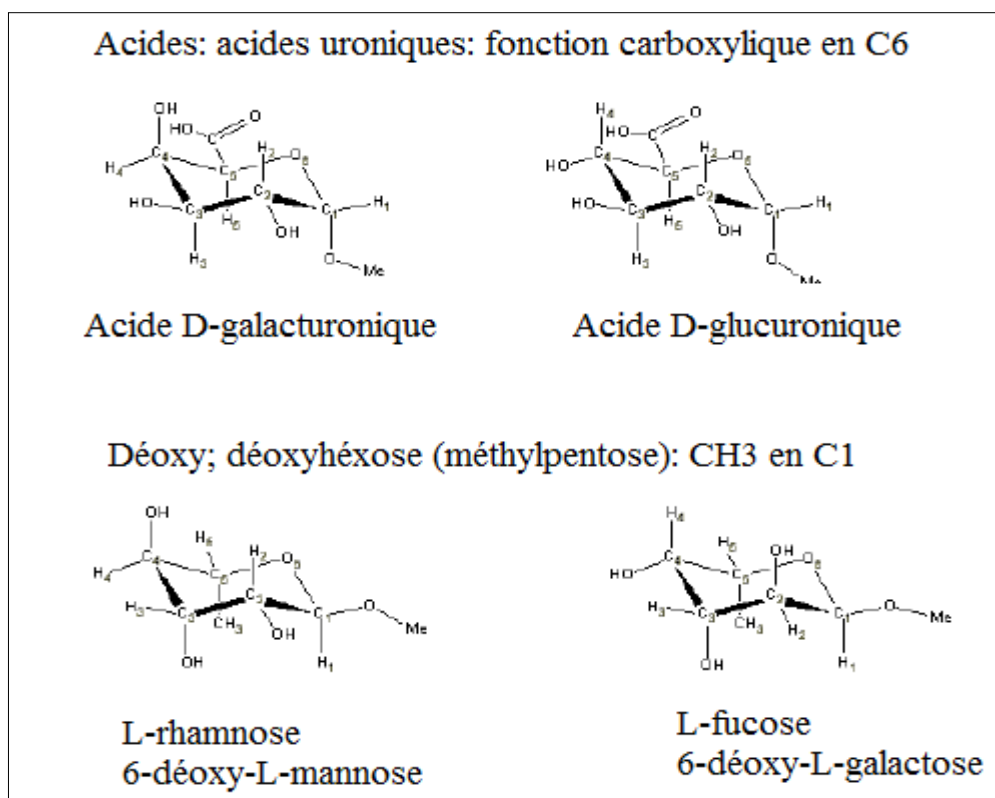


Figure 25 : Dérivés des sucres dans les pectines.

I.3.4.2. Les différentes classes des pectines

Les pectines sont donc des polysaccharides qui ont en commun une forte teneur en acide galacturonique et sont constituées par trois types de polysaccharides de structure différente reliés entre eux par des liaisons covalentes. Ces polysaccharides sont :

I.3.4.2.1. Les homogalacturonanes (HG)

Ce sont des polymères linéaires constitués de molécules d'acide α -D-galacturonique (GalA), en conformation chaise, liées en α (1-4).

I.3.4.2.2. Les rhamnogalacturonanes I (RGI)

Ce sont des polymères constitués par la répétition du motif $[\rightarrow 4)\text{-}\alpha\text{-D-GalA-(1}\rightarrow 2)\text{-}\alpha\text{-L-Rha-(1}\rightarrow]$ auquel peuvent être attachées des chaînes de type arabinane et galactane.

I.3.4.2.3. Les rhamnogalacturonanes II (RGII)

Ce sont des polymères plus proches des homogalacturonanes (HG) avec des chaînes complexes rattachées au motif GalA (Aurélie, 2007).

Les zones à taux élevé de sucres neutres sont appelées « zones chevelues », alors que les zones constituées uniquement d'unités acide galacturonique sont dites « zone lisse » (May, 2000).

I.3.4.3. Rôle des pectines

Les substances pectiques sont présentes dans des proportions variées dans la plupart des végétaux supérieurs (environ 1% dans le bois) et jouent le rôle de ciment intercellulaire. Elles contribuent à la cohésion des tissus végétaux, un rôle structural important dans le maintien de l'architecture cellulaire et participent également au métabolisme végétal, notamment au niveau de l'expansion et de la défense cellulaire. Elles sont utilisées comme gélifiants dans l'industrie agroalimentaire (Willats *et al.*, 2001; Ridley *et al.*, 2001).

I.3.5. Autres constituants

Les extractibles représentent généralement moins de 10 % de la masse sèche de la biomasse lignocellulosique (Milne *et al.*, 1992). Les substrats lignocellulosiques renferment également des lipides (acides gras, triglycérides), des protéines (la paroi contient généralement entre 3 et 6 % de protéines, souvent sous forme de glycoprotéines, dont les extensines, les autres sont des enzymes telles que la peroxydase ou diverses glycosidases), ainsi que des substances de faible poids moléculaire, tels que les extraits et minéraux (essentiellement des éléments Na,

K, P, Cl, Si, Mg). Les substances hydrosolubles, extractibles par l'eau ou les solvants organiques polaires sont essentiellement les composés aromatiques et phénoliques comme les tannins, les flavonoïdes, ainsi que des petites molécules telles que des sucres circulants, les graisses, les cires et les terpènes constituent les principales substances extractibles par les solvants apolaires. Les composés organiques comme les résines (colophane, essence de térébenthine) (Phyllis, 2003; Charlotte, 2005 ; Vassilev *et al.*, 2010).

II. Les polysaccharides de réserve

II.1. L'amidon

Est la principale forme de réserve glucidique des végétaux. Il est présent dans tous les végétaux et dans toutes les parties de la plante (Paris & Hurabielle, 1981). C'est une source énergétique indispensable à l'alimentation (Bruneton, 1999). Il se présente sous forme de grains arrondis ou discoïdes dispersés dans le cytosol et sans action sur la pression osmotique (Guignard, 1996). A l'état natif, l'amidon existe sous la forme d'une structure lentement organisée, c'est le grain d'amidon. La fraction glucidique est un mélange de deux polymères: l'amylose et l'amylopectine. La molécule de l'amylose se présente comme une longue chaîne non ramifiée comportant 60 à 6000 monomères de glucose associés par des liaisons α -(1→4). L'amylopectine, est une molécule ramifiée constituée de 6000 à 600.000 unités de glucose, reste l'un des plus gros polysaccharides connus (Guignard, 1996).

II.2. Les fructanes

Les fructanes sont des polymères du fructose liés par une liaison β -(2→1) ou β -(2→6) à une molécule de glucose terminal (Sims, 2003). Ritsema et Smeekens (2003) considèrent que ce sont des extensions de saccharose. Ils sont assez fréquents chez les végétaux où ils s'accumulent surtout dans une dizaine de familles jusqu'à 15% durant la floraison. Il s'agit des inulines chez les dicotylédones, principalement les *Asteraceae*, les *Boraginaceae* et les *Campanulaceae*; ou des phléines et des fructanes chez les monocotylédones, en particulier les *Poaceae* et les *Liliaceae* (Van den ende *et al.*, 2004).

Ces polymères se concentrent généralement dans les organes souterrains comme les racines, les bulbes, les tubercules ou les rhizomes. Leur teneur et leur forme varient selon la plante, le tissu, même l'état physiologique et les conditions environnementales (Wack & Blaschek, 2006).

II.3. La caroube

Ce polymère est formé par l'enchaînement de β -D-mannoses liés en 1 $\rightarrow$ 4, avec des branchements latéraux d'une seule unité d' α -D-galactose liée α -(1 $\rightarrow$ 6). Partiellement soluble dans l'eau froide, la caroube se solubilise à chaud aux environ 80°C. Elle donne à froid des solutions pseudoplastiques de grande viscosité supportant bien des variations importantes de pH pouvant aller de 3 jusqu'à 11, et l'adjonction de sels minéraux. Les solutions de la caroube forment des gels en présence de borate de sodium en milieu alcalin (Bruneton, 1999).

II.4. Le Guar

Le guar provient du simple broyage de l'albumen des graines de *Cyamopsis tetragonolobus* (L.) de la famille des *Fabaceae*. Il s'utilise en industries pharmaceutiques et agroalimentaires (Bruneton, 1999). C'est un D-galacto-D-mannane formé par l'enchaînement de β -D-mannoses liés en 1 $\rightarrow$ 4 avec des branchements latéraux comportant une seule unité d' α -D-galactose liée (1 $\rightarrow$ 6) (Bruneton, 1999; Cunha *et al.*, 2007).

III. Les exsudats et les mucilages

Les exsudats ou les gommes et les mucilages sont des classes de polysaccharides végétaux très proches et difficilement dissociables. Il est difficile de résoudre le problème de savoir si un exsudat de plante ou un extrait doit être nommé gomme (collante) ou mucilage (visqueux, gluant). Les exsudats provenant des surfaces d'arbres forment un groupe reconnaissable appelé gommes (gommes d'acacia, tragacanth, karaya, ghatti,...). Le mucilage tend à s'appliquer aux extraits provenant de graines ou aux substances qui coulent d'écorce ou de tissus souples (feuilles, tiges, racine) comme dans le cas des espèces du *Psyllium* (*Plantago*) (Boual, 2009).

III.1. Exsudats (les gommes)

L'exsudat est un polysaccharide de type rhamnogalacturonane dont l'unité de base est formée d'acide D-galacturonique lié par l'hydroxyle en C-4 en alternance avec un résidu L-rhamnose lié par l'hydroxyle en C-2. Leurs proportions dépendent du type et de l'origine de la gomme (Cerf *et al.*, 1990). Elle est infermentescible, non absorbée, non dégradée, non toxique. Elle est indiquée dans le traitement symptomatique de la constipation. (WU *et al.*, 2007). S'écoulant naturellement ou provoqué par incision du tronc et des branches d'arbres (Paris & Hurabielle, 1981).

.Gomme de *sterculia* : la gomme de *sterculia* (*Sterculia* sp., *Sterculiaceae*) est l'exsudat visqueux naturel ou provoqué par incision du tronc et des branches de certaines espèces du genre *Sterculia* comme *Sterculia foetida*, *Sterculia urens* (Marvelys *et al.*, 2006).

.Gomme arabique : la gomme arabique est l'exsudation gommeuse, durcie à l'air, s'écoulant naturellement ou par incision du tronc et des branches d'*Acacia senegal* et d'autres espèces du genre *Acacia* (Paris & Hurabielle, 1981).

.Gomme adragante : la gomme adragante est une exsudation gommeuse d'*Astragalus gummifer* (*Fabaceae*), s'écoulant naturellement par incision du tronc et des branches. Elle provient aussi de certaines espèces d'Asie occidentale (Mohammadifar *et al.*, 2006). Contrairement à la gomme arabique, la gomme adragante renferme environ 3% d'amidon et 3 à 4% de substances minérales. La gomme brute est un mélange de deux polysaccharides :

- **La tragacanthine** (30- 40%) est neutre et soluble dans les solutions hydro-alcooliques. Elle se solubilise dans l'eau en formant une solution colloïdale.

- **La bassorine** (60-70 %) est acide et précipite en milieu éthanolique. Elle gonfle au contact de l'eau pour former un gel.

.Gomme ghatti: la gomme ghatti est l'exsudat visqueux d'un arbre des forêts de l'Inde et du Sri Lanka, *Anogeissus latifolia* (*Combretaceae*). C'est un polysaccharide complexe. Elle se disperse dans l'eau en formant des solutions très visqueuses (Bruneton, 1999).

III.2. Les mucilages

Plusieurs espèces fournissent les mucilages parmi lesquels on distingue ;

. Mucilages des *Plantaginaceae* : comme les mucilages des graines d'ispaghul (*Plantago ovata*) et de *psyllium* (*Plantago afra*) qui sont des polysaccharides très hydrophiles à propriétés laxatives. Les feuilles de *P. asiatica* L. s'utilisent en pharmacopée chinoise comme des expectorantes, des diurétiques et des antimicrobiennes (Singh, 2007).

. Mucilages d'ispaghul et *psyllium* : le tégument de la graine et la graine d'ispaghul, et la graine de *psyllium* sont des laxatifs ayant un effet de lest (Singh, 2007).

. Mucilages de grand plantain (*Plantago major* L.) : Samuelsen *et al.*, (1998) ont caractérisés deux types de polysaccharides bioactives à partir feuille de *P. major*. L'un est de type pectique, le second est un arabinogalactane.

. Mucilages des *Malvales* : les espèces végétales réparties dans les différentes familles qui constituent l'ordre des Malvales renferment très souvent des cellules ou des canaux mucilagineux. La pharmacie et la phytothérapie utilisent très couramment des *Malvaceae*

comme la mauve (*Malva sylvestris* L.) et la guimauve (*Althoea officinalis* L.); des *Tiliaceae* comme (tilleuls) (Bruneton, 1999).

IV. Intérêts des polysaccharides

Les polysaccharides constituent l'une des familles les plus variées de biopolymères et leurs applications tant dans le domaine industriel que biologique sont innombrables (Delattre, 2005).

IV.1. Dans le domaine industriel

Elles sont mises à profit dans l'agro-alimentaire, l'industrie pétrolière, la cosmétique, les peintures, les adhésifs, les biomatériaux, etc. (Delattre, 2005). Leur biocompatibilité confère à ce groupe de biomolécules de vastes possibilités d'utilisation dans l'industrie, particulièrement dans l'industrie chimique, l'industrie pharmaceutique et médicale (Delattre, 2005).

Les polysaccharides pariétaux ont le potentiel d'être intégrés dans une grande variété d'applications telles que la production de bioéthanol, de biopolymères, de produits alimentaires industriels et d'autres produits chimiques (bio-tensioactifs, épaississants, émulsifiants, adhésifs, produits pharmaceutiques, etc.). La fabrication de pâte à papier utilise massivement le bois comme matière première (Zeitoun, 2011). Les fibres courtes sont utilisées pour des applications papetières, dans la fabrication de papier de qualité supérieure, de papier pour cigarettes et pour billets de banque (Eva, 2010)

Les pectines forment un gel dans certaines conditions. Cette propriété leur donne un grand intérêt dans l'industrie alimentaire. Elles sont utilisées aussi comme ingrédient dans la préparation des confitures, des marmelades et des gelées. Elles peuvent être utilisées comme stabilisateur d'émulsion. Elles sont également utilisées comme stabilisateur pour les acides (des produits laitiers) (Belhamri, 2005). Les hémicelluloses peuvent être utilisées comme adhésif, épaississant, stabilisant, émulsifiant ainsi que dans la formation de films ont été mentionnées (Fang *et al.*, 1999, Spiridon & Popa, 2008). Des essais ont aussi été menés pour les incorporer en tant qu'additif dans des peintures décoratives (Zeitoun, 2011).

Les lignines sont fortement recherchées dans les bois de chauffage, ayant un pouvoir calorifique important. Au contraire, elles sont gênantes pour la fabrication du papier, responsables de sa coloration jaunâtre après exposition au soleil [Web master 2].

L'adhésivité et le pouvoir épaississant des solutions de gomme font qu'elle est utilisée dans la formulation de produits lactés frais ou congelés comme les crèmes, les glaces, etc..., mais

aussi dans des produits de boulangerie car comme le guar, elle gonfle la pâte (Bruneton, 1999).

IV.2. Dans le domaine thérapeutique

Un intérêt particulier est porté aux polysaccharides polyfonctionnels ayant une application dans les domaines biomédicaux. De nombreuses études sont menées sur leurs propriétés immunomodulatrices et immunostimulantes, mais aussi sur leurs activités anti-tumorales et anti-virales, etc. (Delattre, 2005).

Les glucides ont un rôle énergétique car 40 à 50 % des calories apportées par l'alimentation humaine sont des sucres, ils ont un rôle de réserve énergétique dans le foie et les muscles (glycogène) (Touitou, 2005).

Les aliments contenant des fibres réduisent le risque de cancer colorectal, cela inclut l'avoine, les fruits et légumes, les pâtes et le pain complet. Donc, il existe une corrélation entre les aliments contenant des fibres et la réduction du risque de cancer. Apparemment, les fibres aident à accélérer le transit intestinal (temps qu'il faut aux aliments pour traverser l'appareil digestif). Les glucides non raffinés sont à privilégier car ils contiennent davantage de fibres et d'eau et ont une plus faible densité calorique [Webmaster 3].

Les hémicelluloses ont des propriétés intéressantes sur le plan médical car elles présenteraient une activité hypocholestérolimique (Zeitoun, 2011).

Les pectines sont utilisées comme agents antidiarrhée, pour la désintoxication, régulateurs et protecteurs gastro-intestinaux (Belhamri, 2005). Elles s'utilisent lors des vomissements habituels du nourrisson (Bruneton, 1999).

Le fructose joue un rôle important pour l'apport énergétique du cœur, indépendamment de l'oxygénation [Web master 4].

Partie II

Etude expérimentale

Chapitre V

Matériel et méthodes

I. Matériel biologique

L'étude de l'activité biologique (Antibactérienne, antifongique et antioxydante) porte sur des feuilles, fleurs et fruits de *Crataegus monogyna* Jacq. (fig. 26 et 27) évoluant dans le mont de Tessala (Ouest Algérien). La collection des feuilles et fleurs a été effectuée en avril 2013 dans une station située à une altitude : 850 m ; latitude Nord : 35° 16. 93" ; longitude Ouest : 0°46. 62"; exposition : Nord-Ouest., alors que la récolte des fruits a eu lieu en octobre 2013 dans la même station.

Ensuite les échantillons ont été bien séchés à l'obscurité dans un endroit sec et aérée, puis réduits en poudre à l'aide d'un broyeur à coteaux.

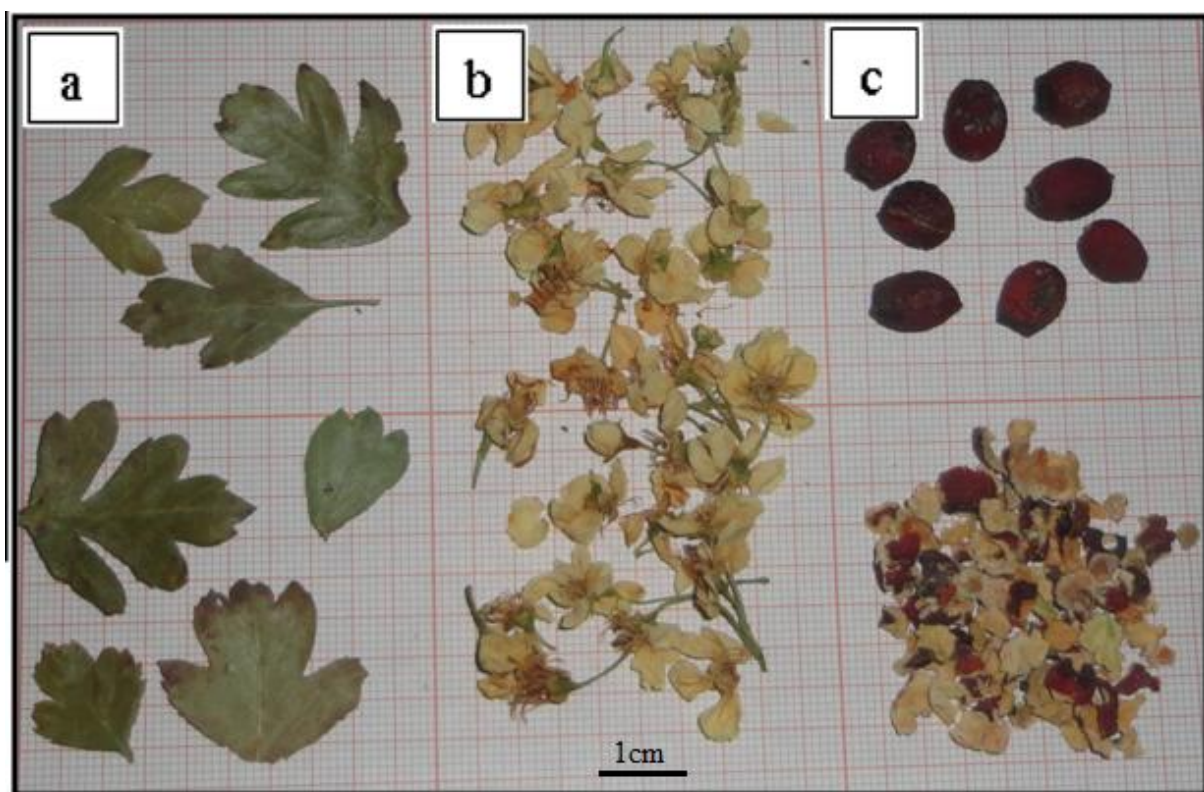


Figure 26: Feuilles (a), fruits (b) et fleurs (c) de *Crataegus monogyna* Jacq.

(cliché Hamdaoui, 2016).

La quantification des polysaccharides pariétaux a porté seulement sur le péricarpe des fruits et les feuilles.

Les essais de germination ont porté sur des graines récupérées après séchage des fruits.

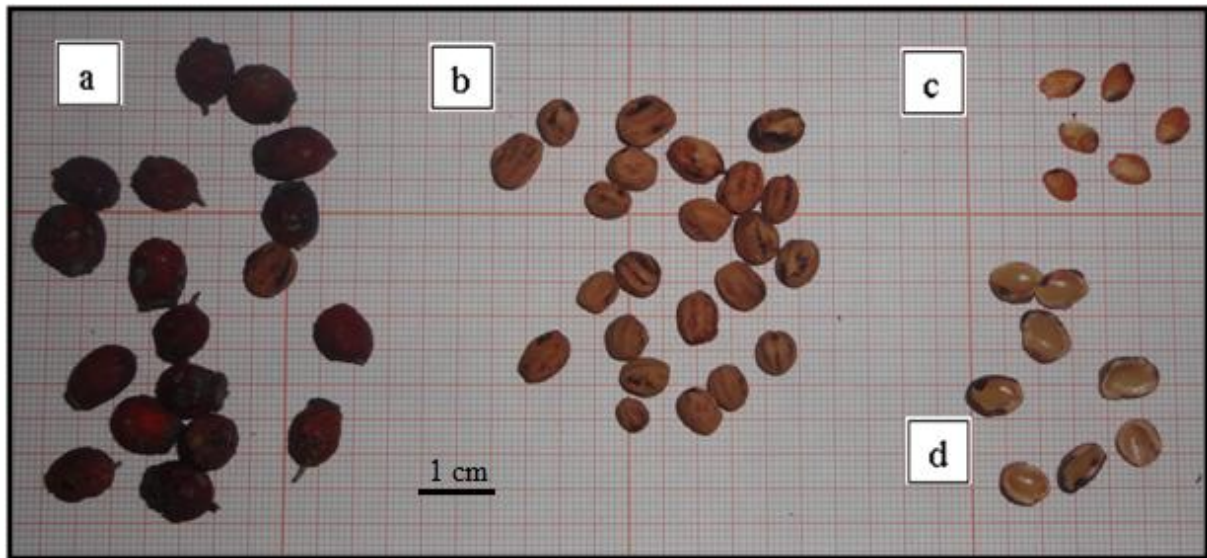


Figure 27: Représentation du fruit de *Crataegus monogyna* Jacq.

Fruits secs (a), graines (b), amandes (c), téguments(d) (Cliché Hamdaoui, 2016).

II. Méthodes d'étude

II.1. Détermination de la teneur en eau

La méthode utilisée est la dessiccation par évaporation. Nous avons procédé à la dessiccation du matériel végétal à la température de $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ dans une étuve ventilée jusqu'à poids constant. La teneur en eau est définie comme étant la perte de poids subit lors de la dessiccation (Audigié *et al.*, 1978).

La teneur en eau est calculée par la formule suivante : $H\% = (M1 - M2) / PE \times 100$.

Avec :

H% : teneur en eau.

M1 : poids de la capsule + échantillon avant dessiccation.

M2 : poids de la capsule + échantillon après dessiccation.

PE : prise d'essai.

La matière sèche est obtenue comme suite : $MS = 100 - H\%$.

II.2. Détermination de la teneur en cendres totales

Elle consiste à un passage au four du matériel végétal à une température de 550°C , jusqu'à destruction totale de toute particule carbonneuse (Laurent, 1991). La teneur en matière organique est calculée par la formule suivante : $MO\% = (M1 - M2) / PE \times 100$.

MO % : matière organique.

M1 : poids de la capsule et de l'échantillon avant calcination.

M2 : poids de la capsule et de l'échantillon après calcination.

PE : prise d'essai.

La teneur en cendres est calculée comme suit : Cendres % = $100 - MO$.

II.3. Etude de l'activité antibactérienne et antifongique

II.3.1. Préparation des extraits

Des extraits aqueux, éthanoliques et méthanoliques ont été préparés à raison de 15 g de poudre végétale (feuilles, fleurs, fruits) pour 100 ml d'eau distillée, éthanol et méthanol (fig. 28 et 29) (Sqalli, 2007).

À cet effet, l'extraction a été effectuée par une macération de la poudre végétale à l'ombre pendant 24 heures dans l'eau distillée (infusion), le méthanol absolu et l'éthanol absolu.

Les différents extraits ont subi une filtration sous vide par une pompe à vide et un filtre Buchner en verre fritté n° 5 pour les fleurs et les fruits et n° 2 pour les feuilles.

Après filtration, le solvant est évaporé à sec et sous vide au rotavapeur à 45 °C. L'extrait est ensuite repris dans 5 ml d'eau distillée.

Tous les extraits sont lyophilisés à l'aide d'un lyophilisateur de type CHRIST puis conservés dans un endroit sec et à l'abri de la lumière afin de préparer les concentrations.

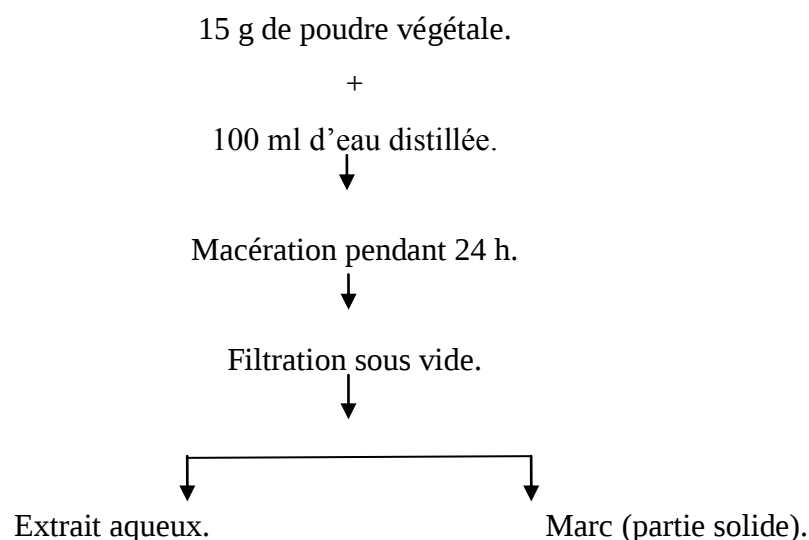


Figure 28 : Schéma d'extractions à l'eau (infusion) (Sqalli, 2007).

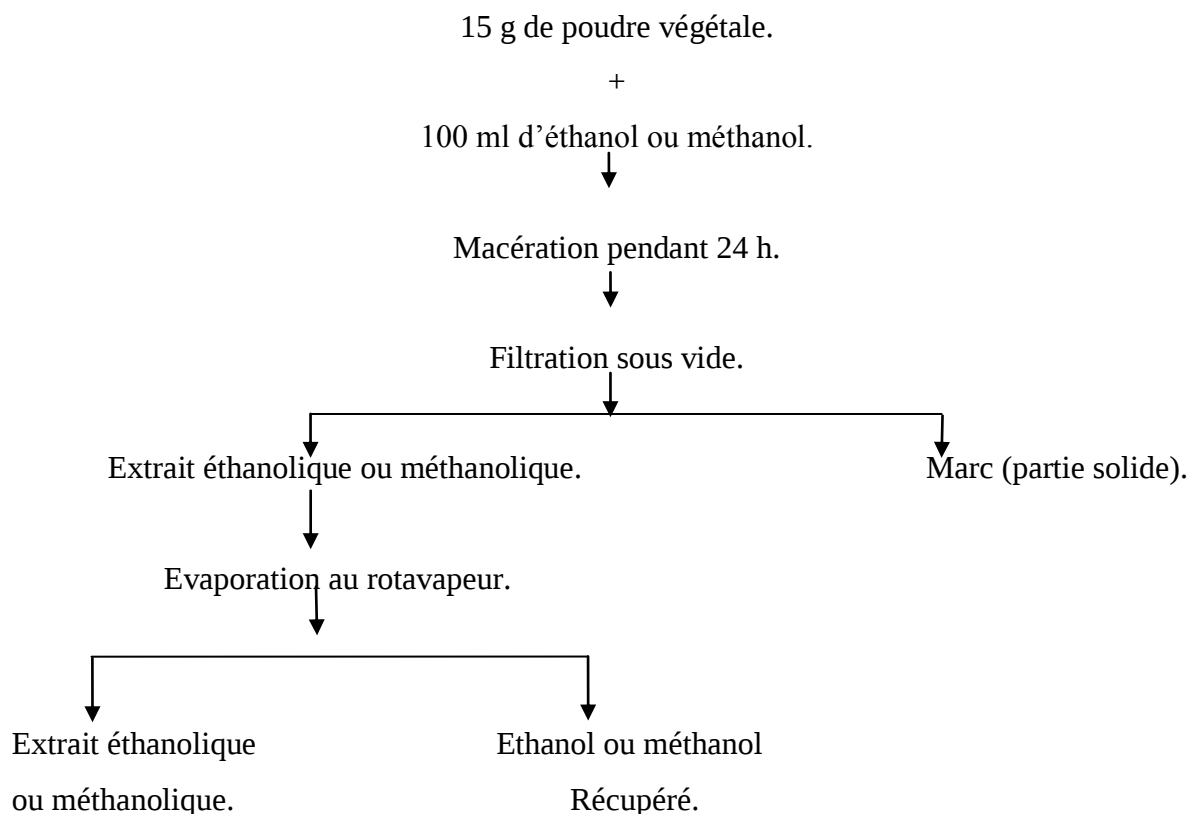


Figure 29: Schéma d'extraction à l'éthanol ou méthanol (Sqalli, 2007).

Dans cette partie, nous avons testé l'aptitude des extraits aqueux, éthanoliques et méthanoliques des feuilles, fleurs et fruits de *C. monogyna* à inhiber la croissance des bactéries et des champignons. Dans notre étude nous avons utilisé des souches pathogènes référenciées (ATCC : Culture de Collection de Type American).

Trois souches bactériennes : *Bacillus cereus* (ATTC 10876), *Escherichia coli* (ATTC 25922) et *Proteus mirabilis* (ATTC 35659) et deux souches fongiques : *Candida albicans* (ATTC 10231) et *Aspergillus brasiliensis* (ATTC 16404).

II.3.2. Méthodes d'étude de l'activité antibactérienne et antifongique

Pour les bactéries et les champignons, nous avons testé leur sensibilité par la méthode des disques ou antibiogrammes standard (Joffin et Leyral, 2001). La méthode de diffusion en milieu solide ou antibiogrammes standards sont les plus utilisées par les laboratoires de diagnostic. Des disques de papier buvard, imprégnés d'antibiotiques ou d'extraits à tester, sont disposés à la surface d'un milieu gélosé, préalablement ensemencé avec une culture pure des souches pathogènes. Après incubation, les disques s'entourent de zones d'inhibition circulaires correspondant à une absence de culture (Guérien & Carrot, 1999).

II.3.2.1. Pré-culture et préparation de l'inoculum

Avant l'utilisation, les cinq souches sont repiquées dans des tubes contenant chacun 10 ml de milieu de culture incliné et stérile (Mueller Hinton pour les bactéries (Ericson & Sherris, 1971) et Sabouraud pour les champignons puis incubés pendant 24 heures pour avoir des colonies plus jeunes, ensuite sont conservées à 5°C.

L'inoculum des champignons se prépare de la même façon que celui des bactéries selon la méthode photométrique d'Atwal (2003). A l'aide d'une anse de platine, nous raclons quelques colonies bien isolées de chacune des souches bactériennes et fongiques, et qui vont être mises chacune dans un tube contient 10 ml de milieu de culture fraîchement préparé et stérilisé. Après incubation de 18 à 20 heures, nous prenons quelques gouttes de cette culture pour les diluer dans de l'eau distillée stérile pour avoir une densité de 0,1.

La densité mesurée à 625 nm est équivalente à 1×10^8 cfu/ml (cfu : nombre de colonies formant des unités), la suspension d'inoculum a été ensuite diluée à 1 /10 dans l'eau distillée à une concentration finale de 1×10^7 cfu / ml.

II.3.2.2. Ensemencement

Dans 45 boîtes de Pétri stériles de 9 cm de diamètre (9 pour chaque souche), nous avons versé 20 ml de milieu de culture ; le Mueller Hinton pour les souches bactériennes et Sabouraud pour les champignons. Après solidification du milieu, ce dernier est inoculé avec quatre gouttes de suspension (10^6 cfu) des souches à étudier puis étalées en surface.

II.3.2.3. Dépôt des disques et incubation

À l'emploi, 25 mg de chaque extrait brut sont solubilisés dans un millilitre de diméthyleformamide (DMF) (Elias *et al.*, 1991). Des disques sphériques de papier filtre de 6 mm de diamètre stérile sont imprégnés de différentes concentrations obtenues par une dilution successive de 100 µl de la solution mère avec 200 µl, 400 µl, 600 µl, 800 µl, 1000 µl de DMF. Ces dilutions correspondent respectivement aux concentrations suivantes : 25 µg/µl, 8,33 µg/µl, 5 µg/µl, 3,57 µg/µl, 2,77 µg/µl, 2,27 µg/µl. Les disques sont ensuite disposés de façon régulière (6 disques par boîte de Pétri) à des distances régulières sur la surface du milieu solidifié avec un numéro d'identification apposé sur la face inférieure de la boîte. Les boîtes ont été incubées pendant 18 heures pour les souches bactériennes et 48 heures pour les souches fongiques dans une étuve à 37 °C.

II.3.2.4. Sensibilité des souches vis-à-vis des antibiotiques et des antifongiques

Le but de la réalisation d'un antibiogramme est de prédire la sensibilité d'un germe à un ou plusieurs antibiotiques dans une optique essentiellement thérapeutique (Burnichon & Texier, 2003) ; de même pour l'antifongigramme qui consiste à déterminer la sensibilité des mycètes vis-à-vis d'un ou plusieurs antifongiques.

Dans notre travail, des disques imbibés d'antibiotiques standards, à savoir l'imipénème (IPM) et la Ceftazidime (CAZ) pour les souches bactériennes et d'antimycotiques qui sont le Fungizone (Amphotéricine B) et Nystatine (Mycostatine) pour les souches fongiques. Les disques sont ensuite disposés sur les milieux de culture préalablement ensemencés avec des cultures pures de souches pathogènes testées puis incubées à 37 °C pendant 18 heures pour les bactéries et 48 heures pour les champignons. Parallèlement, un contrôle négatif a été fait avec le diméthyle-formamyle (DMF) sans extrait utilisé pour la solubilisation des extraits bruts.

II.3.2.5. Expression des résultats

La détermination de l'activité antifongique et antibactérienne a été faite en mesurant le diamètre de la zone claire d'inhibition, qui est représentée par une auréole formée autour de chaque disque où aucune croissance n'est observée (Guérien & Carrot, 1999).

II.4. Evaluation de l'activité antioxydante (test au DPPH)

L'étude de l'activité antioxydante des extraits déjà préparés a été également évaluée. Pour déterminer l'activité antioxydante des extraits des feuilles, fruits et fleurs de *C. monogyna*, le test du Diphényle picryl-hydrazyle (DPPH) a été utilisé selon le protocole décrit par Mansouri *et al.* (2005). Le DPPH, radical libre de couleur violette, est réduit en un composé de couleur jaune en présence de composés anti-radicalaires (Molyneux, 2004).

A l'emploi, nous mélangeons 50 µl de chaque concentration des différents extraits avec 1.95 ml d'une solution méthanolique de Diphényle picryl-hydrazyle (DPPH) de 2.4 mg / 100ml. Le mélange est incubé pendant 30 mn à l'obscurité. Ensuite les absorbances des différents extraits sont déterminées à une longueur d'onde de 517 nm. Les résultats obtenus pour chaque extrait testé sont comparés à ceux obtenus pour le Hydroxy toluène butylé (BHT) pris comme antioxydant standard.

Les concentrations des extraits dans le milieu réactionnel sont comprises entre 0 et 2 mg / ml pour l'extrait aqueux, l'extrait éthanolique et l'extrait méthanolique, alors que la concentration du standard (BHT) est comprise entre 0 et 50 µg / ml.

Les six concentrations de chaque extrait sont obtenues par une dilution successive de 100 µl de la solution mère avec 100 µl, 200 µl, 300 µl, 400 µl, 500 µl et 600 µl du méthanol.

II.4.1. Expression des résultats

L'activité antiradicalaire ou antioxydante est estimée selon l'équation suivante (Prakash *et al.*, 2007) :

$$\% \text{ d'activité antiradicalaire} = [(\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}) / \text{Abs contrôle}] \times 100$$

La concentration d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du DPPH initiale de 50 % est notée (IC₅₀) et est calculée à partir de l'équation donnée par la droite de régression de chaque extrait.

II.5. Extraction et quantification des polysaccharides pariétaux : cellulose, hémicelluloses et pectines.

La quantification de la cellulose, des hémicelluloses et des pectines a été effectuée sur le résidu pariétal du péricarpe du fruit et des feuilles de *C. monogyna* selon la méthode de Chanda *et al.*, (1950) modifiée par Harche *et al.* (1991) pour la cellulose et les hémicelluloses et la méthode de Lamport (1970) et Thiboult (1980) in (Monties, 1980) pour les pectines.

II.5.1. Préparation du résidu pariétal

La préparation du résidu pariétal consiste à mettre sous agitation, pendant 14 heures et sous hotte, 50 g de poudre végétale dans un mélange éthanol-toluène (1V-1V). Après filtration sur toile à blüter, le résidu pariétal est mis dans l'éthanol sous agitation pendant 2 heures pour éliminer les traces de toluène; il est ensuite rincé à l'eau distillée puis à l'acétone et enfin séché à l'étuve à 60 °C pendant 24 heures. Le résidu obtenu contient les lignines, la cellulose, les hémicellulose et les pectines.

II.5.2. Délignification du résidu pariétal

Avant d'extraire la cellulose et les hémicelluloses, le résidu pariétal est délignifié pour rompre les liaisons lignines-polysaccharides et par conséquent extraire le maximum de polysaccharides. A cet effet, 5g de résidu pariétal est mis sous agitation à 80 °C pendant 2 heures dans 100 ml d'éthanol à 70 % contenant 1g de soude (NaOH). Après filtration sur toile à blüter, le résidu est lavé à l'eau distillée puis séché à l'étuve à 60 °C pendant 24 heures (Gabrielli *et al.*, 2000). Le résidu ainsi obtenu est délignifié.

II.5.3. Extraction de la cellulose et des hémicelluloses

Pour l'extraction de la cellulose et des hémicelluloses, 5g de résidu pariétal délignifié sont mis sous agitation pendant 14 heures dans un Erlen contenant 100 ml de soude (NaOH) à 4%. Après filtration sur toile à blüter, cette opération est renouvelée sur le résidu pour récupérer le maximum d'hémicelluloses. Le résidu obtenu est lavé avec l'eau distillée puis à l'acétone, ensuite séché à l'étuve à 60 °C pendant 14 heures et enfin pesé. Cette partie représente la fraction cellulosique (Chanda *et al.*, 1950).

Les deux filtrats obtenus sont neutralisés par l'acide acétique pur, puis précipités dans l'éthanol (1V-3V) pendant 14 heures. Après centrifugation à 3600 tr / min pendant 30 minutes, le culot est lavé par l'eau distillée puis l'acétone, ensuite séché à l'étuve à 60 °C pendant 14 heures et enfin pesé. Cette partie représente la fraction hémicellulosique.

II.5.4. Extraction des pectines

L'extraction des pectines hautement méthylées (PHM) et les pectines faiblement méthylées (PFM) est effectuée selon la technique de Thibault (1980) in Monties (1980).

Pour les pectines hautement méthylées (PHM), 5g de résidu sont introduits dans un Erlen contenant 100 ml d'eau distillée et mis sous agitation pendant 14 heures, puis mis à ébullition sous reflux deux fois deux heures. Après filtration sur toile à blüter, le filtrat est concentré au rotavapeur et précipité dans l'acétone à froid (1V-2V) pendant 14 heures. Après centrifugation, le culot est lavé à l'eau distillée puis à l'alcool et mis à sécher dans l'étuve à 50 °C.

Pour les pectines faiblement méthylées (PFM), le résidu obtenu est traité avec 100 ml d'acide éthylène diamino-tétra-acétique (EDTA) à 1% à pH 6,5 ajusté avec une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH), puis mis sous agitation pendant 6 heures à une température de 80 °C. Après filtration, la solution obtenue est dialysée contre l'eau courante pendant 14 heures, puis contre l'eau distillée 4 fois 1 heure afin d'éliminer les traces d'EDTA en utilisant une membrane de dialyse de type SPECTRA POR 6 MWCO 1000. Le dialysat est concentré au rotavapeur. Les pectines faiblement méthylées sont récupérées par précipitation du volume de dialysat restant dans l'acétone à froid (1V- 2V) pendant 14 heures. Après centrifugation, le culot est lavé à l'eau distillée puis à l'alcool et mis séché dans l'étuve à 50 °C.

II.6. Caractérisation des sucres des polysaccharides pariétaux par chromatographie sur couche mince (CCM).

La chromatographie sur couche mince (CCM) est utilisée pour déterminer la composition qualitative en oses polysaccharidiques pariétaux. Cette technique a été utilisée par Randerath (1971). A cet effet, des chromatographies monodimensionnelles ont été effectuées sur des plaques en gel de silice 60 G polygram (Merk) de 0.25 mm d'épaisseur.

Avant d'être analysés, les polysaccharides pariétaux ont subi deux types d'hydrolyse :

II.6.1. Hydrolyse acide partielle

Dans cette hydrolyse, les pectines et les hémicelluloses sont diluées par les acides, propriétés qui les distinguent de la cellulose. La méthode utilisée est celle décrite par Harche *et al.* (1991).

Pour la réalisation de cette hydrolyse, dans des tubes à vis contenant 100 mg de fraction pectique ou hémicellulosique, nous ajoutons 2 ml d' H_2SO_4 à 1N. Ces tubes sont bien fermés et placés pendant 4 heures au bain Marie à une température de 100°C .

Les hydrolysats sont filtrés trois fois sous vide sur filtre Buchner en verre fritté n°7. Le résidu insoluble est rincé à l'eau distillé puis éliminé. Les filtrats sont neutralisés par le carbonate de strontium, puis gardés à une température de 0°C jusqu'à l'analyse.

II.6.2. Hydrolyse acide totale

La cellulose est hydrolysée par la technique de Harche *et al.* (1991). A cet effet, 10 mg de cellulose et 1ml d' H_2SO_4 à 72%, sont placés dans des tubes à vis bien fermés pendant 2 heures à la température ambiante. Le volume est ensuite complété avec 9 ml d'eau distillée afin d'obtenir H_2SO_4 à 1N, l'hydrolyse est poursuivie pendant 2 heures au bain Marie à 100°C .

Après filtration sur verre fritté, le filtrat est neutralisé par le carbonate de strontium puis gardé à une température de 0°C jusqu'à l'analyse.

Ensuite des solutions des sucres témoins ont été préparées à une concentration de 0.025g/ml dans de l'eau distillée. Il s'agit du D-Glucose, D-Galactose, D- Mannose, D-Arabinose, L-Rhamnose, D- Sucrose et le D-xylose.

Le dépôt des échantillons s'effectue sur des repères distants à l'aide d'une seringue, qui permet de déposer des gouttes qui ne dépassent pas 2 mm de diamètre.

Les témoins sont déposés dans les mêmes conditions pour pouvoir identifier les échantillons.

Après le séchage des chromatogrammes, la plaque est placée verticalement dans la cuve contenant le solvant de migration : 60 ml d'acétate d'éthyle, 15 ml d'acide acétique, 15 ml de méthanol et 10ml d'eau distillée.

La migration est arrêtée au bout de 3 heures lorsque le front du solvant atteint une hauteur de 16 cm.

Après séchage à l'air libre, la position des oses est révélée par pulvérisation du révélateur qui est l'aniline, diphénylamine (DPA), acide phosphorique (H_3PO_4) à 85% dont la composition est la suivante :

Solution A : 2 ml d'aniline dans 25 ml dans l'acétone.

Solution B : 2 g de DPA dans 25 ml dans l'acétone.

A l'emploi, nous mélangeons les deux solutions avec 10 ml d'acide phosphorique, après pulvérisation du révélateur la plaque est séchée à 100°C à l'étuve pendant 10 minutes.

II.6.3. Expression des résultats

Pour déterminer les oses contenus dans les feuilles et les fruits, nous avons calculé les rapports frontaux (R_f) des spots ; $R_f = d / D$, avec d : distance parcourue par le constituant (centre de la tache) et D : distance parcourue par l'éluant ; puis nous les avons comparé avec ceux des sucres témoins (Villars, 1971 ; Ciulei, 1982).

II.7. Effet de quelques prétraitements physico-chimiques sur la physiologie de germination des graines

II.7.1. Sélection des graines

Les graines destinées aux essais de germination ont été soumises au test de flottaison en vue de sélectionner seules qui sont pleines et mûres. Les graines triées ont été désinfectées par l'hypochlorite de sodium (12%) pendant 10 à 15 mn, rincées à l'eau distillée, puis séchées à l'air libre.

II.7.2. Prétraitement des graines et mise en germination

Les graines sélectionnées ont été réparties en quatre lots :

- Lot 1 (Ech 1): graines non scarifiées par l'acide sulfurique (98%).
- Lot 2 (Ech 2): graines scarifiées par l'acide sulfurique pendant 30 mn.
- Lot 3 (Ech 3): graines scarifiées par l'acide sulfurique pendant 60 mn.
- Lot 4 (Ech 4): graines scarifiées par l'acide sulfurique pendant 90 mn.

Chacun de ces lots comporte 600 graines, réparties en six sous-lots de 100 graines chacun. Chaque sous-lot a subi les prétraitements suivants en se référant à des travaux antérieurs comme ceux de John (1982), Éthel *et al.* (1997) et Barbara (2002):

Prétraitement I : Stratification chaude à 20 °C pendant 4 semaines, suivie par une stratification froide à 4°C pendant 10 semaines.

Prétraitement II : Stratification chaude à 25 °C pendant 4 semaines, suivie par une stratification froide à 4°C pendant 10 semaines.

Prétraitement III : Stratification chaude à 30 °C pendant 4 semaines, suivie par une stratification froide à 4°C pendant 10 semaines.

Prétraitement IV : Stratification alternée : chaude à 25 °C pendant 4 semaines, suivie par une stratification froide à 4°C pendant 4 semaines, suivie par une stratification chaude à 25°C pendant 4 semaines.

Prétraitement V : Stratification chaude à 25°C pendant 12 semaines, suivie par une stratification froide à 4°C pendant 4 semaines.

Prétraitement VI : Stratification froide à 4°C pendant 16 semaines.

La stratification au froid est effectuée dans du sable humide, et la stratification chaude dans une étuve.

La germination des graines prétraitées a été testée dans une étuve de type Memmert, sous deux régimes thermiques : 20°C et 25 °C. Les essais de germination ont été réalisés dans des boîtes de pétri en verre de 90 mm de diamètre, tapissées de papier filtre imbibé d'eau distillée. Chaque essai de germination comporte cinq répétition de 20 graines chacune.

II.7.3. Expression des résultats

Le suivi des essais de germination s'est étalé sur une période de 40 jours. Les graines germées ont été dénombrées toutes les 72 h. Nous avons considéré comme critère de germination, la percée des téguments de la graine par la radicule.

Les résultats ont été exprimés par la capacité de germination (CG), le coefficient de vélocité (CV) ou vitesse de germination et le temps de latence (TL) (Côme, 1970).

II.8. Traitement statistique des données.

Les teneurs moyennes des différents composés biochimiques dosés correspondent à des moyennes évaluées sur cinq échantillons, exprimées par la Moyenne $\pm$ Déviation standard.

La comparaison des teneurs moyennes des teneurs en eau, matière sèche, cendres totales, matière organiques, rendement en extraits bruts, IC₅₀ et polysaccharides pariétaux (Cellulose,

Hémicellulose, Pectines hautement et faiblement méthylées) a été effectuée par l'analyse de la variance à un seul facteur (comparaison de plusieurs moyennes) et par le test de Tukey (comparaison des moyennes deux à deux) au seuil de 5 % en utilisant le logiciel statistique XLSTAT 2014.

La comparaison des valeurs moyennes des paramètres de germination (CG, CV, TL) a été effectuée par le test de l'analyse de la variance à un seul facteur suivi par le test de Fisher (comparaison des moyennes deux à deux) au seuil de 5 % en utilisant le logiciel sus-indiqué.

Chapitre VI

Résultats et discussion

Ce chapitre englobe l'ensemble des résultats relatifs aux différentes parties traitées ainsi que leurs discussions.

I. Teneurs en eau, matière sèche, cendres totales et matière organique

Les teneurs moyennes en eau, matière sèche, cendres totales et matière organique caractérisant les feuilles, fleurs et fruits de *C. monogyna* sont enregistrés dans le tableau n° 4.

Tableau 4 : Teneurs moyennes en eau, matière sèche, cendres totales et matière organique dans les feuilles, fleurs et fruits de *C. monogyna*

	Teneur en %			Analyse de la variance
	Feuilles	Fleurs	Fruits	
TE	^b 52.93 ± 0.21 ^b	^b 74.22 ± 0.39 ^a	^b 51.21 ± 0.25 ^b	+
MS	^b 47.05 ± 0.21 ^a	^c 25.76 ± 0.39 ^b	^b 50.45 ± 1.21 ^a	+
CT	^c 14.96 ± 0.32 ^b	^d 08.07 ± 0.98 ^c	^c 21.33 ± 0.71 ^a	+
MO	^a 85.03 ± 0.82 ^{ab}	^a 91.92 ± 0.27 ^a	^a 78.66 ± 0.64 ^b	+
Analyse de la variance	+	+	+	

TE : teneur en eau, **MS** : matière sèche, **CT** : cendres totales, **MO** : matière organique.

+: Différence significative au seuil de 5% ($p < 0.05$).

Les lettres différentes indiquent une différence significative entre les paramètres analysés dans le même organe (lettres en bleu) et entre les organes pour un seul paramètre (lettre en noir) (test de Tukey; $P < 0.05$).

L'analyse statistique montre que la différence est significative ($P < 0.05$) entre les paramètres analysés (teneur en eau, matière sèche, cendres totales et matière organique) dans le même organe et entre les organes (feuilles, fleurs et fruits) pour chaque paramètre donné.

D'après le tableau n° 4, nous notons que l'organe le plus riche en eau correspond aux fleurs (74.22 ± 0.39 %), alors que des teneurs inférieures soit 52.93 ± 0.21 % et 51.21 ± 0.25 % sont notées respectivement chez les feuilles et les fruits. Ces deux organes contiennent des teneurs en matière sèche, d'environ 50 % ; alors que les fleurs renferment la quantité la plus faible en matière sèche (25.76 ± 0.39 %) et en cendres totales (8.07 ± 0.98 %) par rapport au taux appréciable de matière organique (91.92 ± 0.27 %). Dans les feuilles et les fruits, sont notées respectivement des teneurs de 14.96 ± 0.32 % et 21.33 ± 0.71 % en cendres totales et 85.03 ± 0.82 % et 78.66 ± 0.64 % en matière organique.

Dans d'autres travaux réalisés sur la même espèce, il a été relevé dans le péricarpe du fruit de *C. monogyna*, des teneurs en eau supérieures à celles que nous avons obtenues, de l'ordre de

66.20 % (Mohammedi, 2006) et 72% (Couplan, 1998). Dans les fleurs, Mohand (2006) a obtenu une teneur en eau de 10 %. Dans le péricarpe du fruit, Herrera (1984) & Bouzid (2009) ont évalué des teneurs en cendres respectivement de 4.30 % et 7.25 %. Ces données en eau et en cendres totales sont bien inférieures à celles qui ont été enregistrées dans nos essais. Cette variation de la teneur en eau et en fraction minérale notées dans les différentes études suscitées s'expliquent certainement par l'effet de l'origine géographique de l'espèce étudiée, des facteurs écologiques (température, précipitation, le sol, etc.), de la saison de prélèvement ayant une certaine influence sur le développement de l'espèce étudiée.

II. Rendement des extraits

Les teneurs moyennes du rendement en extraits bruts des extraits aqueux, éthanoliques et méthanolique des feuilles, fleurs et fruits de *C. monogyna* sont notées dans le tableau n° 05 et représentées par la figure n° 30.

Tableau 05 : Rendement en g / 15 g des différents extraits des feuilles, fruits et fleurs de *C. monogyna*.

Extrait	Rendement en g/ 15g			Analyse de la variance
	Feuilles	Fleurs	Fruits	
EA	^a 03.36 ± 0.03 ^a	^a 02.76 ± 0.02 ^b	^a 02.64 ± 0.01 ^b	+
EE	^b 01.11 ± 0.02 ^b	^b 01.49 ± 0.02 ^{ab}	^b 01.89 ± 0.09 ^a	+
EM	^c 00.70 ± 0.02 ^a	^c 00.49 ± 0.01 ^b	^c 00.37 ± 0.02 ^b	+
Analyse de la variance	+	+	+	

EA : extrait aqueux, **EE** : extrait éthanolique, **EM** : extrait méthanolique. + : Différence significative au seuil de 5% ($p < 0.05$).

Les lettres différentes indiquent une différence significative entre les différents extraits dans le même organe (lettres en bleu) et entre les organes pour la même extrait (lettre en noir) (test de Tukey; $P < 0.05$).

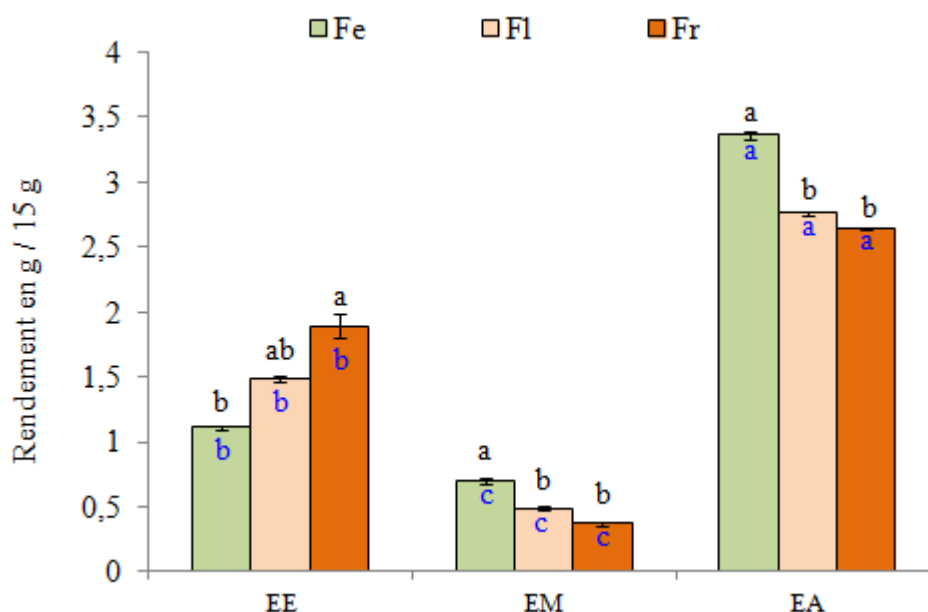


Figure 30 : Rendement en extraits bruts (en g/15g) des extraits éthanolique, méthanolique et aqueux des feuilles, fleurs et fruits de *C. monogyna*.

EA : extrait aqueux, **EE :** extrait éthanolique, **EM :** extrait méthanolique. **Fe:** feuilles, **Fl:** Fleures, **Fr:** fruits.

Les lettres différentes indiquent une différence significative entre les différents extraits dans le même organe (lettres en bleu) et entre les organes pour la même extrait (lettre en noir) (test de Tukey; $P < 0.05$).

Les résultats illustrés dans le tableau n° 5 montrent que la différence entre les extraits aqueux, éthanoliques et méthanoliques est significative ($P < 0.05$) pour les feuilles, fleurs et fruits, ainsi qu'entre les feuilles, fleurs et fruits pour chacun des extraits.

La teneur la plus élevée du rendement en extrait brut des extraits caractérise les extraits aqueux soit 3.36 ± 0.03 ; 2.76 ± 0.02 et 2.64 ± 0.01 g/15g respectivement dans les feuilles, fleurs et fruits, suivie par les extraits éthanoliques environ 1.11 ± 0.02 pour les feuilles, 1.49 ± 0.02 pour les fleurs et 1.89 ± 0.09 g/15g pour les fruits, alors que les teneurs les plus faibles sont enregistrées avec les extraits méthanoliques, soit 0.70 ± 0.02 , 0.49 ± 0.01 , 0.37 ± 0.02 g / 15g respectivement dans les feuilles, fleurs et fruits.

Si nous comparons les trois organes, il ressort que les meilleurs rendements sont obtenus avec les feuilles soit 3.36 ± 0.03 g / 15g pour l'extrait aqueux et 0.70 ± 0.02 g/15g pour l'extrait méthanolique, et les fruits soit 1.89 ± 0.09 g/15g obtenu avec l'extrait éthanolique. Donc la différence entre le rendement des organes étudiés dépend de la polarité de chaque solvant utilisé et que l'eau présente une capacité d'extraction élevée par rapport aux solvants organiques (éthanol et méthanol).

III. Tests biologiques

III.1. Evaluation de l'activité antibactérienne et antifongique

Les diamètres des zones d'inhibition induits par les différentes concentrations des extraits méthanoliques, éthanoliques et aqueux préparés à partir des feuilles, fruits et fleurs de *C. monogyna* sur la croissance des souches bactériennes et fongiques testées sont consignés dans le tableau n° 06 et représentés par les figures n° 31, 32, 33 et 34. Les résultats relatifs aux antibiogrammes, aux antifongigrammes et au diméthylformamide (DMF) sont notés sur tableau n° 7 et représentés par les figures n° 35. Nous avons représenté la résistance par le signe (-) dans le cas où aucune zone d'inhibition n'a été détectée.

Tableau 06 : Diamètres de la zone d'inhibition (en mm) induits par les différentes concentrations en extraits testés sur les souches bactériennes et fongiques.

	EXTRAIT METHANOLIQUE																	
	Feuilles						Fruits						Fleurs					
	25 µg /µl	8.33 µg /µl	5 µg /µl	3.57 µg /µl	2.77 µg /µl	2.27 µg /µl	25 µg /µl	8.33 µg /µl	5 µg /µl	3.57 µg /µl	2.77 µg /µl	2.27 µg /µl	25 µg /µl	8.33 µg /µl	5 µg /µl	3.57 µg /µl	2.77 µg /µl	2.27 µg /µl
<i>E. coli</i>	11.00	–	7.50	–	–	7.25	7.00	–	–	–	7.50	7.50	–	8.25	–	–	–	–
<i>B. cereus</i>	9.50	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>P. mirabilis</i>	7.50	–	–	–	–	8.50	8.25	–	–	–	–	–	–	16.00	15.00	–	8.50	8.00
<i>C. albicans</i>	8.75	9.25	12.75	14.75	15.25	12.25	18.00	14.00	15.00	21.00	18.00	17.00	16.00	15.00	17.00	17.00	21.00	18.00
<i>A.brasiliensis</i>	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	EXTRAIT ETHANOLIQUE																	
	Feuilles						Fruits						Fleurs					
	25 µg /µl	8.33 µg /µl	5 µg /µl	3.57 µg /µl	2.77 µg /µl	2.27 µg /µl	25 µg /µl	8.33 µg /µl	5 µg /µl	3.57 µg /µl	2.77 µg /µl	2.27 µg /µl	25 µg /µl	8.33 µg /µl	5 µg /µl	3.57 µg /µl	2.77 µg /µl	2.27 µg /µl
<i>E. coli</i>	–	–	–	–	–	–	21.00	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>B. cereus</i>	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>P. mirabilis</i>	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	12.50	–	–
<i>C. albicans</i>	–	–	9.50	11.25	9.50	10.50	7.25	–	8.50	–	–	08.00	8.25	–	–	–	8.50	9.50
<i>A.brasiliensis</i>	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	EXTRAIT AQUEUX																	
	Feuilles						Fruits						Fleurs					
	25 µg /µl	8.33 µg /µl	5 µg /µl	3.57 µg /µl	2.77 µg /µl	2.27 µg /µl	25 µg /µl	8.33 µg /µl	5 µg /µl	3.57 µg /µl	2.77 µg /µl	2.27 µg /µl	25 µg /µl	8.33 µg /µl	5 µg /µl	3.57 µg /µl	2.77 µg /µl	2.27 µg /µl
<i>E. coli</i>	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>B. cereus</i>	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>P.mirabilis</i>	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	10.50	–	–	–	–	–
<i>C. albicans</i>	8.00	–	8.00	8.00	7.50	–	–	–	–	10.25	8.66	14.00	13.50	–	10.25	–	–	–
<i>A.brasiliensis</i>	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

Les résultats obtenus montrent que les différentes concentrations préparées à base des extraits méthanoliques, éthanoliques et aqueux des feuilles, fruits et fleurs de *C. monogyna* ont agi de façon différente sur la croissance des souches bactériennes et fongiques, en y induisant différents diamètres d'inhibition sur la zone de croissance.

Les résultats représentés sur le tableau n° 06 montrent que *Candida albicans* est la souche fongique la plus sensible aux extraits de tous les organes avec une forte inhibition induite par les extraits méthanoliques et ce quelle que soit la concentration de l'extrait. Une capacité inhibitrice très efficace est enregistrée avec l'extrait méthanolique des fleurs et des fruits, se traduisant par une zone d'inhibition de 21 mm de diamètre avec la concentration de 2.77 µg /µl pour les fleurs et 3.57 µg /µl pour les fruits ; alors qu'une capacité inhibitrice non négligeable est obtenue avec une concentration de 2.77 µg /µl pour l'extrait méthanolique des feuilles soit 15,25 mm de diamètre.

Les extraits éthanoliques des feuilles, fruits et fleurs exercent également une capacité inhibitrice sur la croissance de *C. albicans* en y induisant un diamètre maximum de 11.25 mm obtenu avec une concentration de 3.57µg /µl pour l'extrait des feuilles, 8.5 mm avec 5 µg/µl pour l'extrait des fruits et un diamètre d'inhibition de 9.5 mm obtenu avec la concentration 2.27 µg/µl pour l'extrait des fleurs.

Les extraits aqueux des feuilles, fruits et fleurs exercent aussi un effet inhibiteur important sur la croissance de *C. albicans* en enregistrant des diamètres d'inhibition respectivement de 8 mm à 25 µg / µl, 14 mm à 2.27 µg / µl et 13.50 mm à 25 µg / µl.

La solution mère est un extrait brut qui a une capacité d'inhiber les molécules bioactives, mais la méthode de dilution que nous avons utilisée permet de séparer ces molécules qui deviennent plus actives sur la croissance des souches pathogènes. Ceci étant, nous pouvons admettre que dans ce travail, le méthanol permet d'extraire les molécules bioactives dans les organes étudiés de *C. monogyna*, ayant un pouvoir inhibiteur sur la croissance de *C. albicans* et qui sont mieux représentées dans les fruits et les fleurs, et moyennement dans les feuilles. Par contre, il semble que l'éthanol et l'eau ne permettent pas d'extraire ces molécules bioactives sur cette souche dans les feuilles et les fruits vu leur faible pouvoir inhibiteur. Entre autre, la solubilité des composés phénoliques est affectée par la polarité du solvant utilisé. Par conséquent, il est très difficile de développer un procédé d'extraction approprié à l'extraction de tous les composés phénoliques de la plante (Garcia, 2010; Jokić *et al.*, 2010). L'addition de l'eau aux solvants organiques augmente la solubilité des polyphénols (Sripad *et al.*, 1982) par modulation de la polarité du solvant organique (Mohammedi & Atik., 2011).

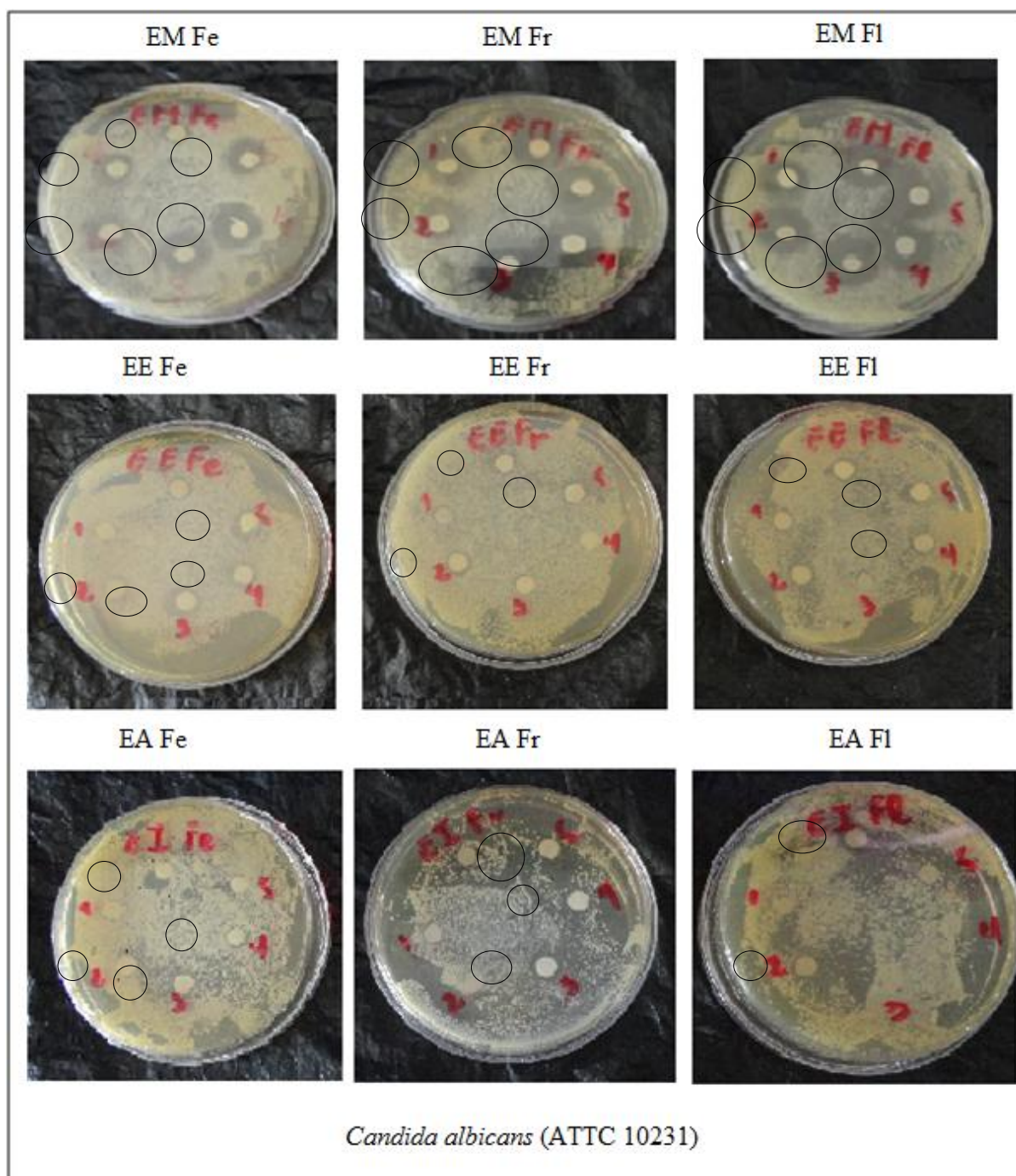


Figure 31 : Capacité inhibitrice des extraits méthanoliques, éthanoliques et aqueux des feuilles, fruits et fleurs de *C. monogyna* sur *Candida albicans* (ATTC 10231).

EM: extrait méthanolique, **EE:** extrait éthanolique, **EI:** extrait aqueux (infusé), **FE:** feuilles **FR:** fruits, **FL:** fleurs.

Les cercles autour des disques indiquent les zones d'inhibition induites par les concentrations des extraits sur la souche pathogène.

Proteus mirabilis est très sensible à l'extrait méthanolique des fleurs. Ce dernier a induit sur cette souche un diamètre d'inhibition maximal de 16 mm obtenu avec la concentration de 8.33 µg /µl. Cette

sensibilité a été également détectée vis-à-vis de l'extrait éthanolique ($3.57 \mu\text{g}/\mu\text{l}$) et de l'extrait aqueux ($25 \mu\text{g}/\mu\text{l}$) des fleurs qui ont engendré sur la souche suscitée une zone d'inhibition avec des diamètres respectivement de 12.5 mm et 10.5 mm. Cependant l'extrait méthanolique des feuilles et des fruits y présente une faible capacité inhibitrice dans le mesure où qu'une seule zone d'inhibition de 8.25 mm a été obtenue avec la solution mère ($25 \mu\text{g}/\mu\text{l}$) pour l'extrait des fruits et deux zones d'inhibition 7.5 mm et 8.5 mm ont été détectées respectivement avec les concentrations $25 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ et $2.27 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ pour l'extrait des feuilles.

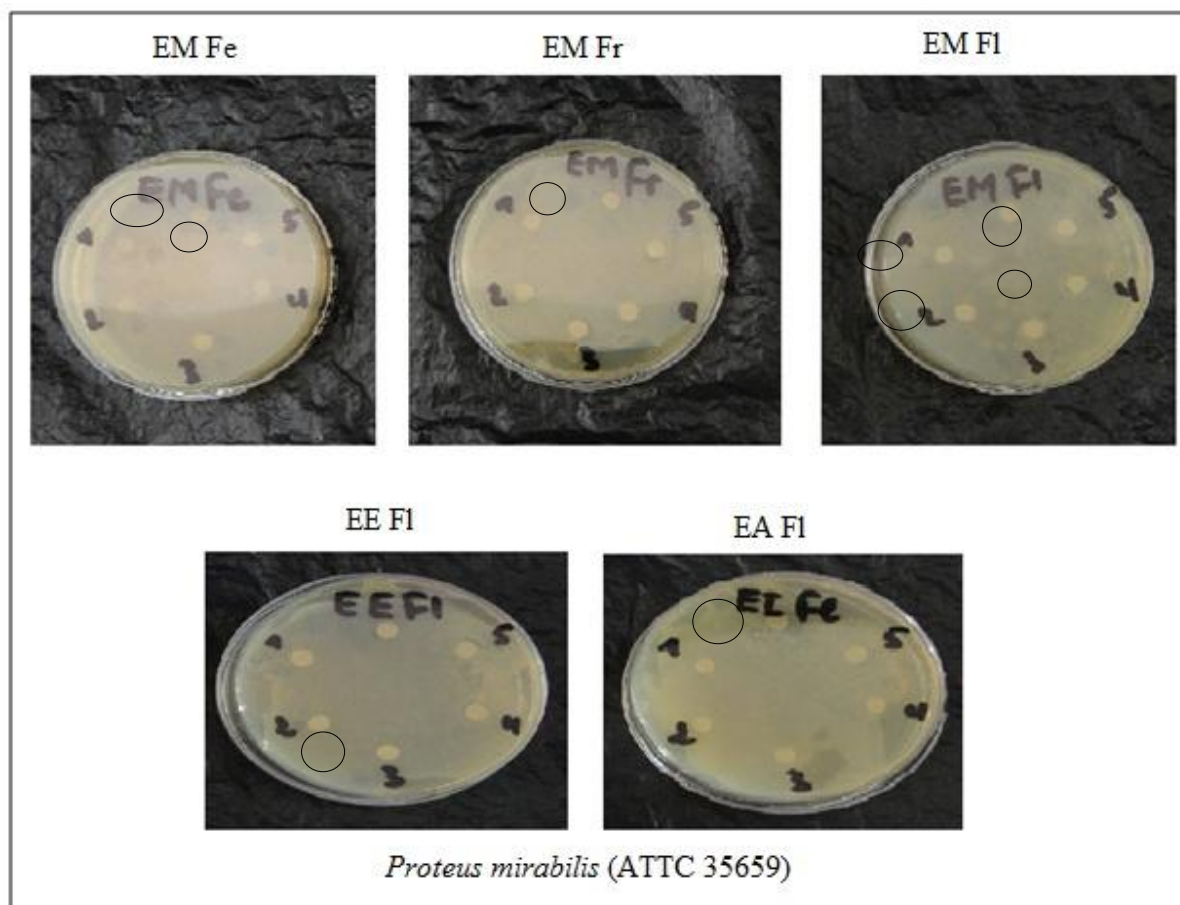


Figure 32 : Capacité inhibitrice des extraits méthanoliques, éthanoliques et aqueux des feuilles, fruits et fleurs de *C. monogyna* sur *Proteus mirabilis* (ATCC 35659).

EM : extrait méthanolique, **EE:** extrait éthanolique, **EI:** extrait aqueux (infusé), **FE:** feuilles **FR:** fruits, **FL:** fleurs.

Les cercles autour des disques indiquent les zones d'inhibition induites par les concentrations des extraits sur la souche pathogène.

En ce qui concerne *Escherichia coli*, cette souche est très sensible au extrait éthanolique des fruits qui a engendré un diamètre d'inhibition de 21 mm à $25 \mu\text{g}/\mu\text{l}$; moyennement sensible aux extraits méthanoliques des trois organes. En effet, les extraits méthanoliques des feuilles et des fleurs à $25 \mu\text{g}/\mu\text{l}$

et 8.33 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ agissent sur la croissance de cette souche en entraînant la formation des diamètres d'inhibition respectivement de 11mm et 8.25 mm. L'extrait méthanolique des fruits à 2.77 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ et 2.27 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ a induit qu'une zone d'inhibition de 7.5 mm de diamètre.

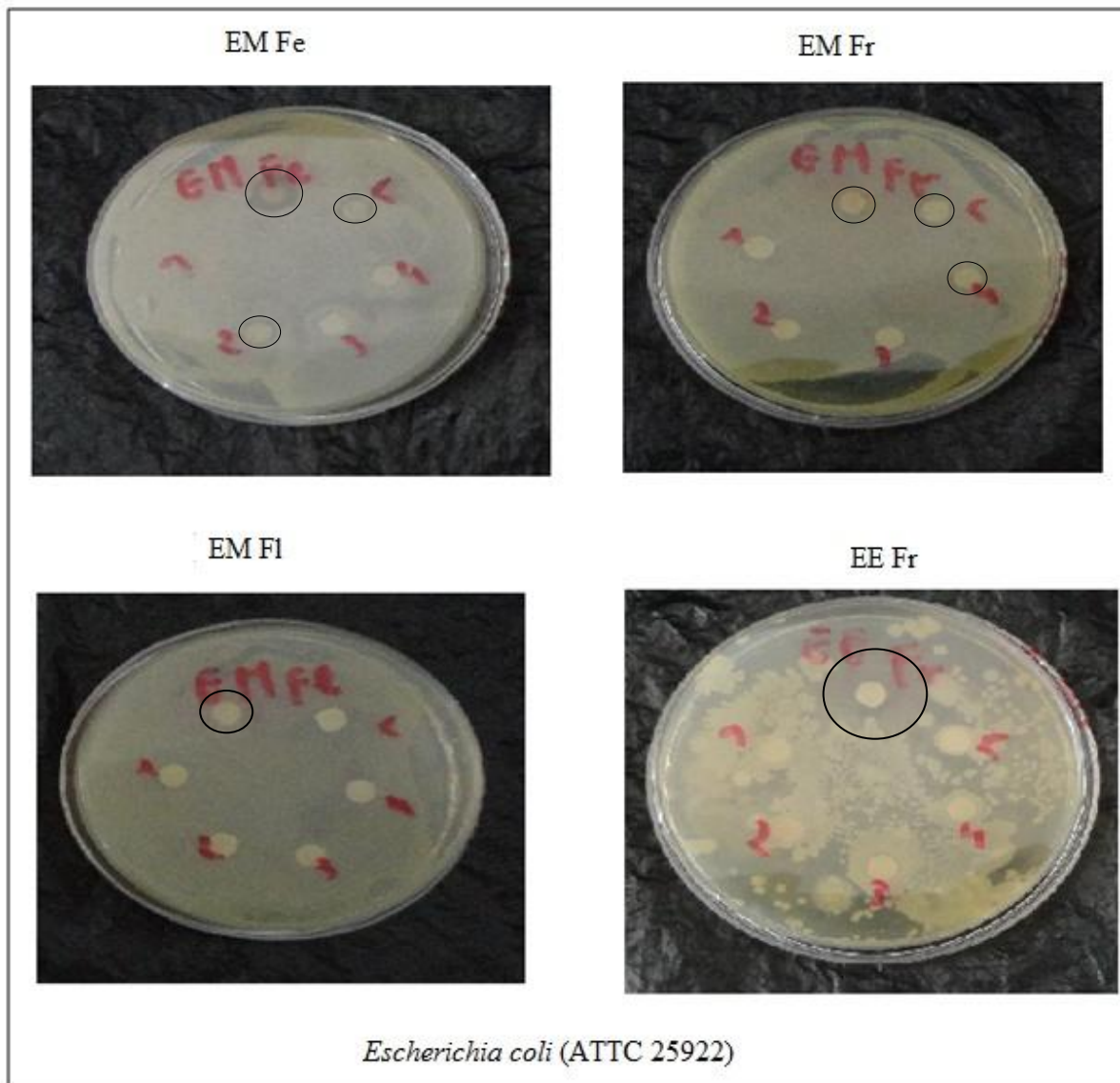


Figure 33: Capacité inhibitrice des extraits méthanoliques des feuilles, fruits et fleurs et d'extrait éthanolique des fruits de *C. monogyna* sur *Escherichia coli* (ATTC 25922).

EM : extrait méthanolique, **EE**:extrait éthanolique, **FE**: feuilles **FR**: fruits, **FL**: fleurs.

Les cercles autour des disques indiquent les zones d'inhibition induites par les concentrations des extraits sur la souche pathogène.

Pour la souche *Bacillus cereus*, aucune zone d'inhibition de croissance n'a été constatée autour des disques, à l'exception de la concentration mère de l'extrait méthanolique des feuilles (25 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$), qui a agit sur la croissance de cette souche bactérienne par la formation d'une zone d'inhibition de 9,5 mm de

diamètre. Ces constatations dénotent la résistance de cette souche bactérienne vis-à-vis des extraits testés. Cette résistance est due à la différence de la structure de la paroi cellulaire entre les bactéries Gram (+) et les bactéries Gram (-). En effet, la paroi des bactéries à **Gram positif** mesure de **20 à 80 nm** d'épaisseur et présente un **aspect assez homogène**, elle est composée essentiellement de **peptidoglycane associé à des carbohydrates dont les plus connus sont les acides teichoïques** (représentant alors jusqu'à 50% du poids sec de la paroi) et en acide diaminopimélique. Cependant, pour les bactéries Gram négatif, la paroi est **moins épaisse** que celle des bactéries à Gram positif (6 à 15 nm) et surtout **beaucoup plus complexe** et riche en lipides. En plus du peptidoglycane, on y trouve : une membrane externe, riche en lipopolysaccharides et un espace périplasmique (Ali-Shtayeh *et al.*, 1998).

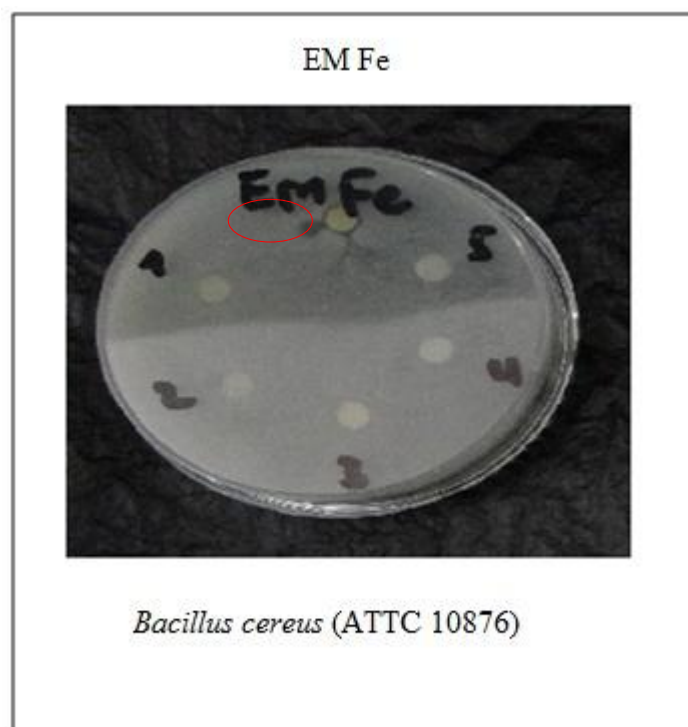


Figure 34 : Capacité inhibitrice de l'extrait méthanolique des feuilles sur *Bacillus cereus* ATCC (10876).

EM Fe: extrait méthanolique des feuilles.

Le cercle autour de disque indique la zone d'inhibition induite par la concentration mère de l'extrait méthanolique sur la souche pathogène.

Les extraits aqueux et organiques des feuilles, fruits et fleurs de *C. monogyna* se sont révélés inefficaces sur *Aspergillus brasiliensis*, dans la mesure où aucune activité inhibitrice n'a été décelée. Ceci pourrait être expliqué par l'absence dans ces extraits de substances à activité antifongique comme les alcaloïdes (Bruneton, 1993).

Les résultats de la sensibilité des souches bactériennes et fongiques aux antibiotiques et aux antimycotiques standards sont notés dans le tableau n° 07.

Tableau 07 : Résultats de l'antibiogramme et de l'antifongigramme sur la croissance des souches bactériennes et fongiques.

Les souches	Diamètre des zones d'inhibition de croissance en mm		
	Antibiotiques et antimycotiques standards	DMF	
<i>Proteus mirabilis</i> ATTC (35659) Bactérie à Gram négatif (-)	CAZ (30) IPM (10)	35 24	R
<i>Escherichia coli</i> ATTC (25922) Bactérie à Gram négatif (-)	CAZ (30) IPM (10)	R 46	R
<i>Bacillus cereus</i> ATTC (10876) Bactérie à Gram positif (+)	CAZ (30) IPM (10)	R 23	R
<i>Candida albicans</i> ATTC (10231)	Fungizone 10% (Amphotéricine B)	17	R
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATTC (16404)	Nystatine (30µg) (Mycostatine)	19	R

CAZ (30) : Ceftazidime, **IPM (10) :** Imipénème, **R :** résistante, **DMF:** Diméthylformamide.

Comparativement aux antibiotiques et aux antimycotiques standards, l'activité inhibitrice des extraits aqueux et organiques des feuilles, fruits et fleurs de *C. monogyna* reste très faible.

L'Imipénème [IPM (10)] agit sur la croissance des souches bactériennes par la formation de zones d'inhibition avec des diamètres de l'ordre 24 mm, 23 mm et 46 mm respectivement sur *Proteus mirabilis*, *Bacillus cereus* et *Escherichia coli*. Un diamètre de 35 mm est obtenu avec le Ceftazidime [CAZ (30)] sur *Proteus mirabilis*. Le solvant diméthylformamide (DMF) utilisé pour dissoudre les extraits bruts, n'a aucune activité inhibitrice sur les souches testées.

Conformément à nos résultats et à titre d'exemples, les extraits méthanoliques des feuilles, fruits et fleurs et l'extrait éthanolique des fruits à certaines concentrations, ont inhibé la croissance d'*Escherichia coli*, alors cette souche résiste à la Ceftazidime CAZ (30). Aussi l'extrait méthanolique des feuilles exerce un pouvoir inhibiteur (9.5 mm à 25 µg/µl) sur la souche *Bacillus cereus*, alors que celle-ci s'est révélé résistance au même antibiotique standard. Ces observations reflètent l'importance de l'activité antibactérienne de ces extraits.

Nous constatons aussi que les extraits méthanoliques des fruits et des fleurs, donnent des capacités inhibitrices variant entre 14 mm et 21 mm sur *Candida albicans* (ATTC 10231), où certaines zones d'inhibition sont plus importantes à celles obtenues avec l'antibiotique standard utilisé (Fungizone). Cependant, nos extraits exercent une activité antibactérienne et antifongique importante sur les souches étudiées, dans la mesure où ils ne sont pas des produits purs comme les produits antibiotiques ou antimycotiques standards commercialisés mais des extraits bruts c'est-à-dire un mélange des substance bioactives (Sanogo *et al.*, 2006).

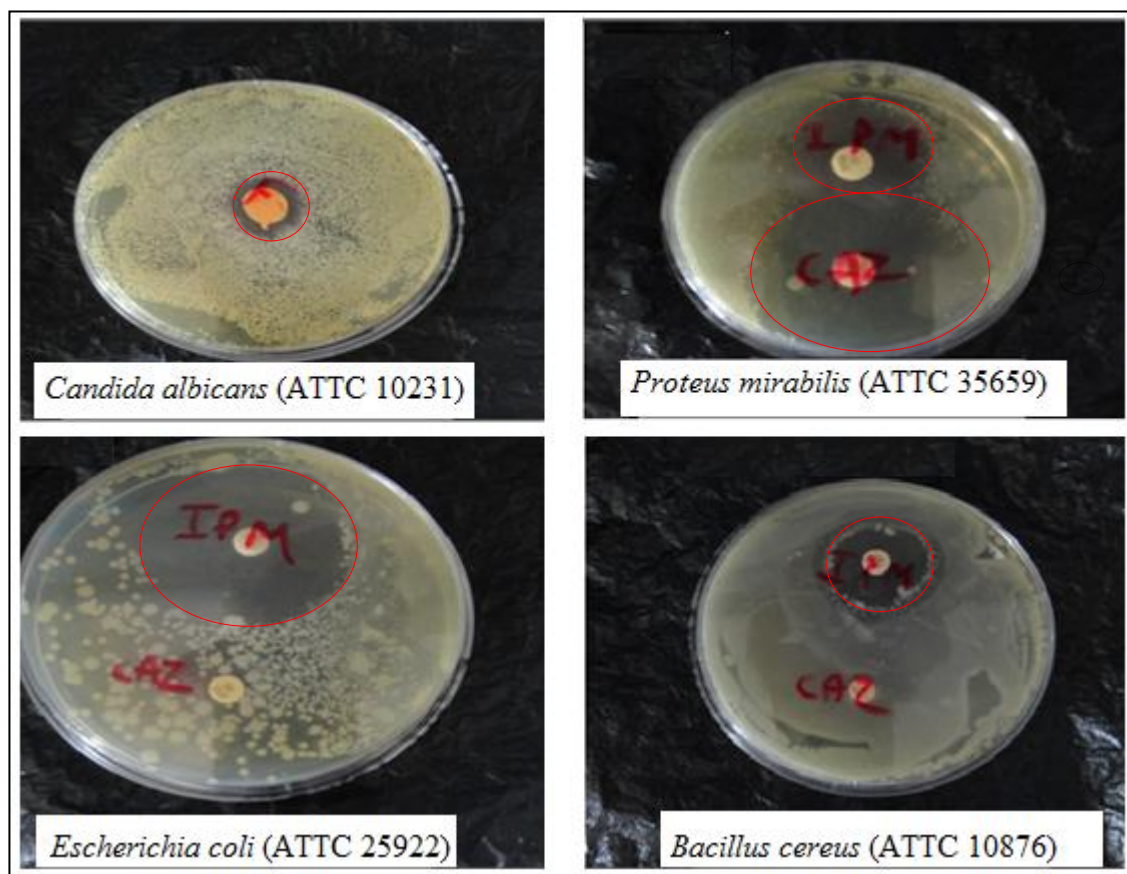


Figure 35 : Capacité inhibitrice des antibiotiques et antimycotiques standards

Imipénème : IPM (10) ; Ceftazidime : CAZ (30) et Fungizone sur les différents souches étudiées.

Les cercles autour des disques indiquent les zones d'inhibition induites par les antibiotiques et les antimycotiques standards sur les souches pathogènes.

Des travaux antérieurs ont montré que les extraits flavoniques de *C. monogyna* inhibent la croissance de *Candida albicans* (ATTC 10231) en enregistrant des zones d'inhibition avec un diamètre moyen de 10.83 mm, alors que *E. coli* ATCC (25922) est résistante à cet extrait (Mohammedi, 2006).

Dans les travaux de Bouzid (2009) est signalé que l'extrait aqueux (EAq) avec une concentration de 1g/ml, l'extrait méthanolique (EMe), l'extrait déchlorométhane (EDm) et l'extrait éther de pétrole (EEp)

des fruits de *C. monogyna* n'exercent aucune activité antibactérienne sur *Escherichia coli* (ATCC 25922) et aucune activité antifongique sur *Candida albicans*.

Par ailleurs, Danijela *et al.* (2012) ont noté que l'extrait éthanolique des fruits frais de *C. oxyacantha* L. évoluant en Serbie, n'exerce aucune activité sur *Aspergillus niger* ATCC (16404) à une concentration de 10 mg/ml et sur *Bacillus subtilis* (ATCC 6633).

Cependant, le même extrait induit des zones d'inhibition de 13 mm et 20 mm de diamètre qui ont été mises en évidence aux concentrations respectives de 20µl et 50µl sur *Candida albicans*. Aussi, il a été détecté sur *Escherichia coli*, des zones d'inhibition de 12 mm à 20 µl et 22 mm à 50 µl. Les résultats obtenus montrent que nos extraits présentent un pouvoir antibactérien et antifongique comparable et parfois plus important à celui noté dans certains travaux Mohammedi (2006) et Bouzid (2009).

La confrontation des ces observations avec les nôtres, permet de faire ressortir que les extraits méthanoliques des feuilles, fruits et fleurs de *C. monogyna* ont un pouvoir inhibiteur très important. Ceci n'est pas le cas pour les extraits éthanoliques où ce pouvoir reste moyen et faible pour les extraits aqueux. Ce pouvoir inhibiteur pourrait s'expliquer par la présence dans les extraits suscités, selon leur polarité, de substances polyphénoliques bioactives (Wang *et al.*, 2008). Dans ce contexte, Hamdaoui *et al.* (2015) ont montré que l'extrait méthanolique des feuilles, fruits et fleurs de *C. monogyna* sont très riches en polyphénols, en phénols totaux et en flavonoïdes.

Le mécanisme de l'effet antimicrobien des polyphénols est sans doute très complexe. Parmi les hypothèses avancées, nous pouvons citer l'inhibition des enzymes extracellulaires microbiens, la séquestration du substrat nécessaire à la croissance microbienne, la chélation des métaux tels que le fer ou l'inhibition du métabolisme microbien (Milane, 2004).

D'après les résultats obtenus, nous remarquons que indépendamment de la nature de l'extrait ou de sa concentration, les bactéries à Gram (–) telles que *Proteus mirabilis* (ATCC 35659) et *Escherichia coli* ATCC (25922) possèdent une forte résistance. Cette résistance n'est pas surprenante, elle est en relation avec la nature de leurs membranes externes (imperméables à la plupart des agents biocides) (Faucher & Avril, 2002).

Les résultats auxquels nous avons aboutis confirment l'importance de la méthode de dilution des extraits qui réside dans la séparation des molécules bioactives qui peuvent être masquées par d'autres molécules inactives ; ceci s'est traduit par la formation de zones d'inhibition très importantes, induites par les différentes dilutions de la solution mère. Cependant, il serait intéressant d'établir des tests antibactériens et antifongiques avec la méthode de fractionnement des extraits afin d'avoir des résultats plus efficaces et plus objectifs. En effet, selon Klervi (2005) & Cavin (2007), dans ce genre d'investigation, il faudrait pousser plus loin les tests relatifs aux activités antibactériennes, en testant d'une part les extraits sur d'autres souches et d'autre part en fractionnant les extraits car il y aurait dans les extraits non

fractionnés des composés inhibiteurs masquant les composés actifs. L'efficacité d'un extrait dépend de sa concentration, de la plante de laquelle est issu et de la souche testée (Klervi, 2005), ce qui explique que l'activité antibactérienne et antimycotique peut varier d'une plante à une autre et d'un germe à autre (Yameogo, 2003). Selon Diallo (2005), l'extraction des principes actifs par un solvant comme le dichlorométhane augmente l'activité antibactérienne.

Des études antérieures ont montré que les produits présents dans la plante peuvent être soit actifs sans être métabolisés et auront ainsi une activité *in vitro* et *in vivo*, soit actifs après métabolisation et dans ce cas, ils seront inactifs *in vitro* et actifs *in vivo*. Les produits entrant dans cette deuxième catégorie sont des prodrogues ; ils sont nombreux chez les végétaux notamment dans le groupe des hétérosides (Balansard, 1983). Même les solvants de solubilisation tels que le DMF ou le DMSO sont utilisés couramment dans les tests *in vitro*. On utilise toujours une dose de solvant qui est sans influence sur le développement de la bactérie ou des champignons. Néanmoins, il est toujours possible que l'ajout de DMF ou de DMSO à un extrait végétal diminue son activité intrinsèque de telle manière que dans ce cas le résultat n'a qu'une valeur relative (Elias *et al.*, 1991).

Nos résultats sont difficilement comparables avec ceux de la bibliographie étant donné que les méthodes utilisées sont différentes, le choix du protocole d'extraction et plus particulièrement celui du solvant est très important. En effet, selon la polarité du solvant, les composés extraits ne sont pas les mêmes. A cet effet, pour avoir des résultats plus fiables et plus précis sur l'activité antimicrobienne chez *C. monogyna*, il est souhaitable d'utiliser d'autres protocoles et d'autres solvants. Cependant la méthode de dilution reste faible par rapport à la méthode de fractionnement.

III.2. Evaluation du pouvoir antioxydant

Les teneurs moyennes de l'IC₅₀ (en µg/ml) des extraits aqueux, éthanoliques et méthanoliques des feuilles, fruits et fleurs de *C. monogyna*., sont enregistrées dans le tableau n° 08.

Tableau 08: IC₅₀ moyen en µg/ml des différents extraits des feuilles, fruits et fleurs de *C. monogyna*.

Extrait	IC ₅₀ en µg/ml			Analyse de la variance
	Feuilles	Fleurs	Fruits	
EA	^a 1229, 41 ± 51, 50 ^b	^a 996, 62 ± 11, 35 ^b	^a 2405, 50 ± 59, 20	+
EE	^b 110, 01 ± 0, 76 ^c	^b 373, 96 ± 41, 51 ^b	^b 797, 88 ± 29, 45 ^a	+
EM	^b 196, 70 ± 13, 96 ^a	^c 96, 89 ± 19, 40 ^a	^c 129, 61 ± 08,13 ^a	–
Analyse de la variance	+	+	+	

IC₅₀ du BHT = 4,47 ± 0,12.

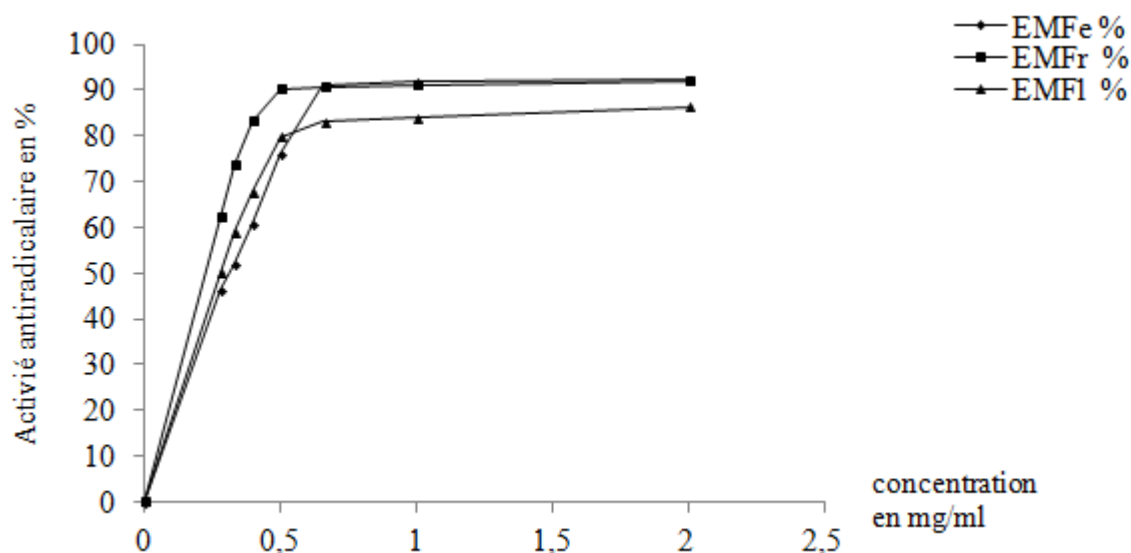
EA : Extrait aqueux, **EE** : Extrait éthanolique, **EM** : Extrait méthanolique.

+: Différence significative au seuil de 5% ($P < 0.05$). – : Différence non significative au seuil de 5 % ($P > 0.05$).

Les lettres différentes indiquent une différence significative entre les extraits pour le même organe (lettres en bleu) et entre les organes pour la même extrait (lettres en noire) (test de Tukey ; $P < 0.05$).

L'analyse de la variance de l'IC₅₀ a fait ressortir que la différence est significative entre les différents extraits aqueux, éthanoliques et méthanoliques des feuilles, fleurs et fruits ainsi qu'entre les feuilles, fleurs et fruits pour les extraits aqueux et éthanoliques ($P < 0.05$), et non significative pour les extraits méthanoliques ($P > 0.05$).

La comparaison des extraits selon leurs activités antioxydantes a fait ressortir que les extraits méthanoliques sont les plus efficaces pour les trois organes avec une IC₅₀ égale à 196.70 ± 70 µg/ml pour les feuilles, 96.89 ± 19.40 µg/ml pour les fleurs et 129.61 ± 8.13 µg/ml pour les fruits. Nous notons aussi que les extraits méthanoliques ont une activité antiradicalaire très importante soit 92.34 %, 91.99 % et 86.39 % obtenue chez les feuilles, fruits et fleurs respectivement (fig. 36).



Figure

36 : Profils de l'activité antiradicalaire des extraits méthanoliques des feuilles, fruits et fleurs de *Crataegus monogyna*.

Les extraits éthanoliques présentent une activité antioxydante moyenne avec des IC_{50} de l'ordre 110.01 ± 0.76 ; 373.96 ± 41.51 et 797.88 ± 29.45 $\mu\text{g/ml}$ respectivement avec les feuilles, fruits et fleurs. L'activité antiradicalaire enregistrée avec les extraits éthanoliques est aussi très importante soit 97.02 % pour les feuilles, 87.89 % pour les fruits et 86.23 % pour les fleurs (fig. 37).

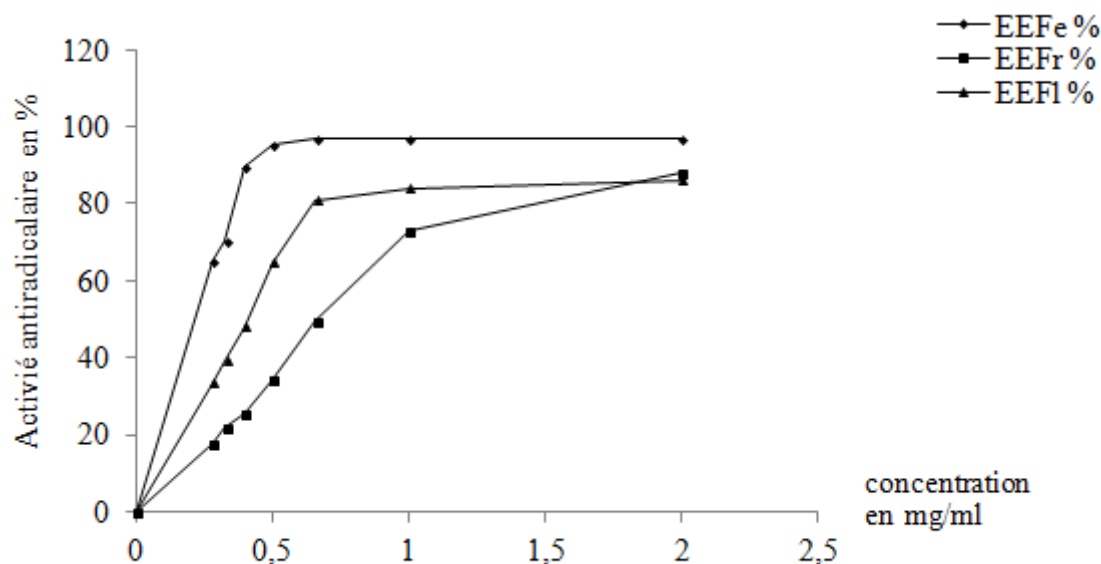
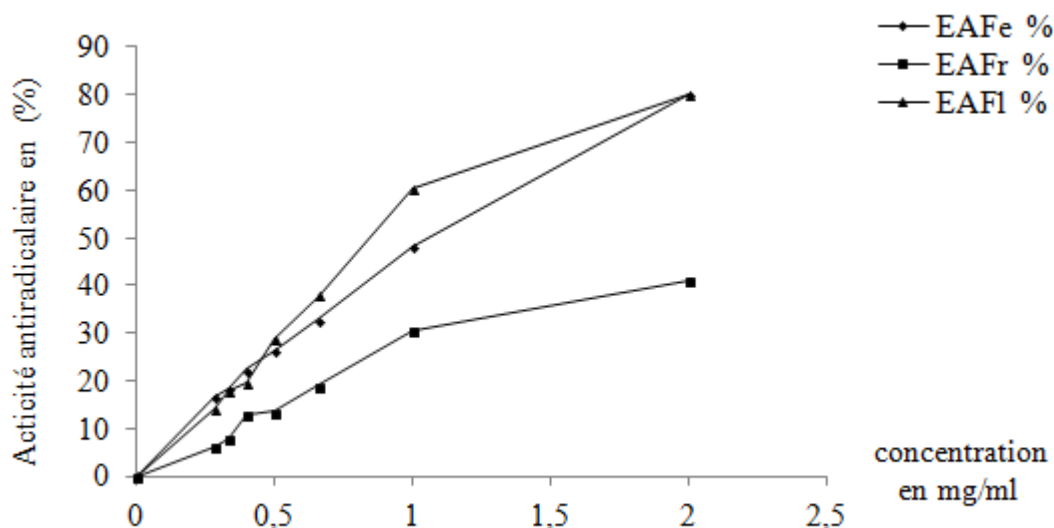


Figure 37:

Profils de l'activité antiradicalaire des extraits éthanoliques des feuilles, fruits et fleurs de *Crataegus monogyna*.

Les extraits aqueux des trois organes manifestent une faible activité antioxydante, soit 1229.41 ± 51.50 $\mu\text{g/ml}$ pour les feuilles, 996.62 ± 11.35 $\mu\text{g/ml}$ pour les fleurs et 2405.50 ± 59.20 $\mu\text{g/ml}$ pour les fruits, et

une faible activité antiradicalaire avec les fruits soit 41.15%, alors que celle obtenue avec les feuilles et les fleurs est très importante soit 80.27% pour les feuilles, 80.03% pour les fleurs (fig. 38).



Figure

38 : Profils de l'activité antiradicalaire des extraits aqueux des feuilles, fruits et fleurs de *Crataegus monogyna*.

En parallèle, nous avons utilisé le hydroxy-toluène-butylé (BHT) comme antioxydant standard, ayant une activité antiradicalaire intéressante soit 90 % (fig. 39) avec une IC50 de l'ordre de 4.47 μ g/ml. En comparaison avec le BHT, tous nos extraits s'avèrent moins actifs, dans la mesure où ils ne sont pas des produits purs mais des extraits bruts (Sanogo *et al.*, 2006).

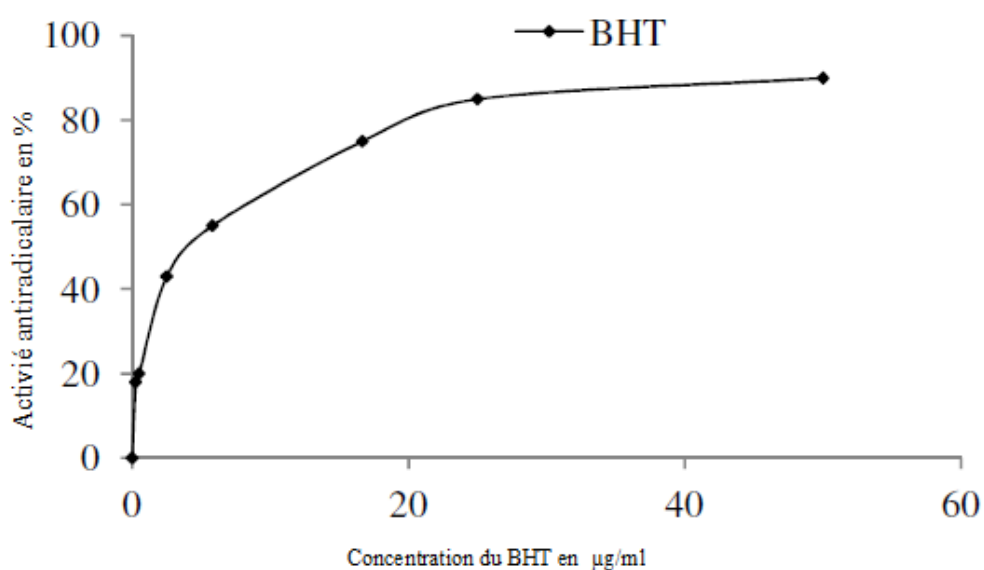


Figure 39: Profils de l'activité antiradicalaire du Hydroxy Toluène Butylé (BHT).

Stankovic *et al.* (2012) montrent que l'extrait analysé est un mélange de plusieurs composés par rapport au standard utilisé pour la comparaison. En effet, cette propriété antioxydante est en relation directe avec la structure chimique de ses molécules (Cosio *et al.*, 2006).

Les résultats obtenus montrent que les fleurs ont une activité antioxydante plus importante que celle des feuilles et des fruits avec une IC_{50} égale $96.89 \pm 19.40 \mu\text{g/ml}$ obtenu avec l'extrait méthanolique, suivie par les feuilles avec une IC_{50} égale $110.01 \pm 0.76 \mu\text{g/ml}$ obtenu avec l'extrait éthanolique et finalement par les fruits avec une IC_{50} égale $129.61 \pm 8.13 \mu\text{g/ml}$ obtenu avec l'extrait méthanolique.

Globalement, il ressort que pour les feuilles, fruits et fleurs de *C. monogyna*, les extraits éthanoliques et méthanoliques ont une capacité très élevée pour capter les radicaux libres par rapport aux extraits aqueux. La différence entre l'activité antiradicalaire des extraits s'explique par la différence de la polarité des solvants utilisés. Il est à noter que suite au test de DPPH, le méthanol s'est révélé le solvant le plus efficace pour extraire les substances bioactives qui sont capables de capter les radicaux libres présents dans les feuilles, fruits et fleurs de *C. monogyna*.

L'activité antiradicalaire des extraits aqueux, éthanoliques et méthanoliques est probablement liée à leur contenu en polyphénols, en flavonoïdes et en tannins. Hamdaoui *et al.* (2015) montrent que les extraits méthanoliques des feuilles, fleurs et fruits de *C. monogyna*, contiennent respectivement 34.82 ± 0.63 , 25.72 ± 0.14 et $16.62 \pm 0.23 \text{ mg EAG/g}$ de phénols totaux ; 17.79 ± 0.55 , 5.07 ± 0.10 et $3.72 \pm 0.34 \text{ mg EC /g}$ de flavonoïdes ; 1.21 ± 0.01 , 0.59 ± 0.03 et $0.25 \pm 0.01\%$ de tannins.

Les travaux antérieurs montrent aussi que dans les feuilles de *C. monogyna* existent des substances polyphénoliques de plusieurs types : hétérosides du quercétol, rhamnosides, polymères flavanniques, oligomères procyanidines, acide chlorogénique et acide caféique (Bruneton, 1993 ; Fong & bouman, 2002 ; Mohand, 2006). Alors que dans les fleurs, se trouvent les mêmes substances avec en plus l'orientine, des saponaires, di-C-hétérosides de l'apigénol, proanthocyanodols, l'épicatéchol, des acide phénoliques (acide crataégoïque, acide ursolique, acide oléanolique) et des bêta- sitostérols. Par ailleurs, dans les fruits existent des leuco-anthocyanidines et des procyanidines (Mohand, 2006). Ces composés phénoliques semblent être les substances responsables des activités antioxydantes chez cette espèce du fait de la présence de nombreux hydroxyles pouvant réagir avec les radicaux libres (Klervi, 2005 ; Panovska, 2005 ; Sokol, 2007). De nombreuses études ont établi des relations entre les structures chimiques des flavonoïdes et leurs capacités antioxydantes ; l'activité de ces molécules à piéger les radicaux libres dépend essentiellement de leurs structures. Les flavonoïdes les plus actifs sont ceux qui renferment des groupements 3'- 4' dihydroxy sur le cycle B et/ou un groupement 3 OH sur le cycle C (Amic *et al.*, 2003 ; Marfak, 2003 ; Sokol, 2007).

Si nous comparons nos résultats avec d'autres travaux effectués sur les fruits de *C. monogyna*, une IC_{50} égale $331.85 \pm 1.52 \mu\text{g/ml}$ de l'extrait méthanolique est enregistrée par Bouzid (2009), valeur supérieure

à celle que nous avons obtenue, soit $129.61 \pm 8.13 \mu\text{g/ml}$. Par contre, dans nos essais, une valeur de $2405,50 \pm 59,20 \mu\text{g/ml}$ a été obtenue avec l'extrait aqueux. Cette valeur est supérieure à celle enregistrée par Bouzid (2009), soit $800 \pm 1.52 \mu\text{g/ml}$. Selon Maataoui (2006), la capacité antioxydante des fruits de couleur pourpre semble être plus élevée que celle des fruits de couleur jaune orangé. Ceci dénote que les anthocyanes et certains flavonoïdes participant à la coloration des fruits mûrs ont un pouvoir sur les propriétés antioxydantes (Dubois *et al.*, 1977). Les flavonoïdes sont des pigments quasi universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs et des fruits. Ils existent le plus souvent à l'état naturel sous forme d'hétérosides (Fiorucci, 2006).

Yoo *et al.* (2008) notent dans l'extrait éthanolique des feuilles de *C. pinnatifida* une forte activité antiradicalaire égale à 84.5%. Cette valeur est comparable à celle obtenue à partir de l'extrait éthanolique des feuilles de *C. monogyna*, soit 97.2%.

Les solvants, les protocoles, la durée de conservation des échantillons et la température pourraient expliquer les différences constatées entre nos résultats et ceux de la bibliographie (Klervi, 2005 ; Sokol, 2007).

Les résultats obtenus montrent que les feuilles, fleurs et fruits de *C. monogyna* renferment des substances bioactives ayant une capacité très importante à capter les radicaux libres. Cette capacité varie en fonction du solvant utilisé et de l'organe analysé.

La teneur moyenne la plus élevée du rendement en extrait brut (lyophilisat) est obtenue avec les extraits aqueux, suivi par les extraits éthanoliques et les extraits méthanoliques.

Les extraits méthanoliques présentent l'activité antioxydante la plus efficace. Cette activité dépend de la richesse des organes étudiés en composés polyphénoliques, essentiellement les phénols totaux, les flavonoïdes, les proanthocyanidines et les procyanidines ainsi de la capacité de chaque solvant d'extraire des molécules sélectives selon sa polarité. En notant aussi que les molécules responsables de l'activité antioxydante des feuilles, fleurs et fruits sont mieux représentées dans les solvants organiques (l'éthanol et le méthanol) et ce contrairement dans l'eau. Nous pouvons conclure que les feuilles et les fleurs sont riches en micromolécules bioactives par rapport au fruit qui renferme des quantités appréciables de macromolécules (polysaccharides).

IV. Evaluation des polysaccharides pariétaux

IV.1. Teneurs moyennes en résidu pariétal, extractibles, résidu pariétal délignifié et lignines des feuilles et des fruits de *C. monogyna* Jacq.

Les pourcentages moyens en résidu pariétal, extractibles (composés du cytoplasme), résidu pariétal délignifié et lignines dans les feuilles et fruits de *C. monogyna*., sont représentées par les figures 40 et 41.

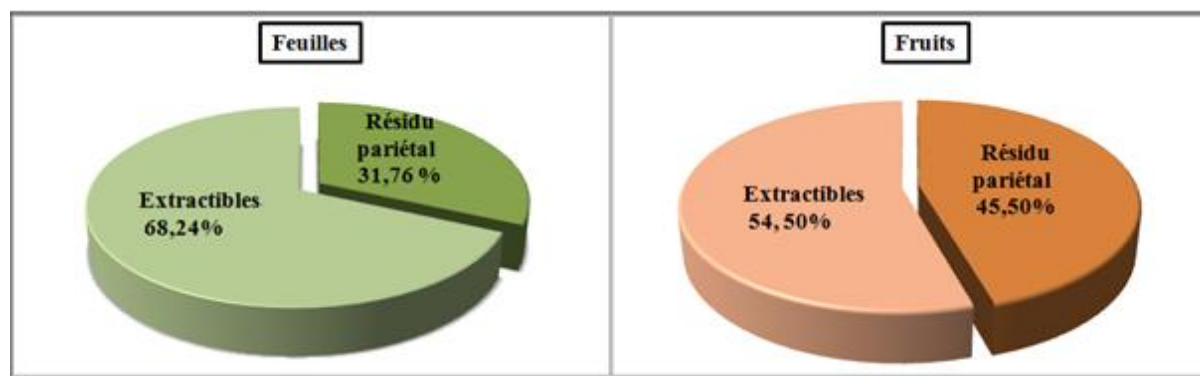


Figure 40 : Pourcentages moyens en résidu pariétal et extractibles dans les feuilles et fruits de *C. monogyna*.

L'élimination successive des extractibles par les solvants organiques (éthanol-toluène) offre un pourcentage d'extractibles de 68.24 % chez les feuilles et 54.50 % chez les fruits. Alors que 31.76 % et 45.50 % de résidu pariétal (paroi cellulaire) sont notés respectivement dans les feuilles et les fruits.

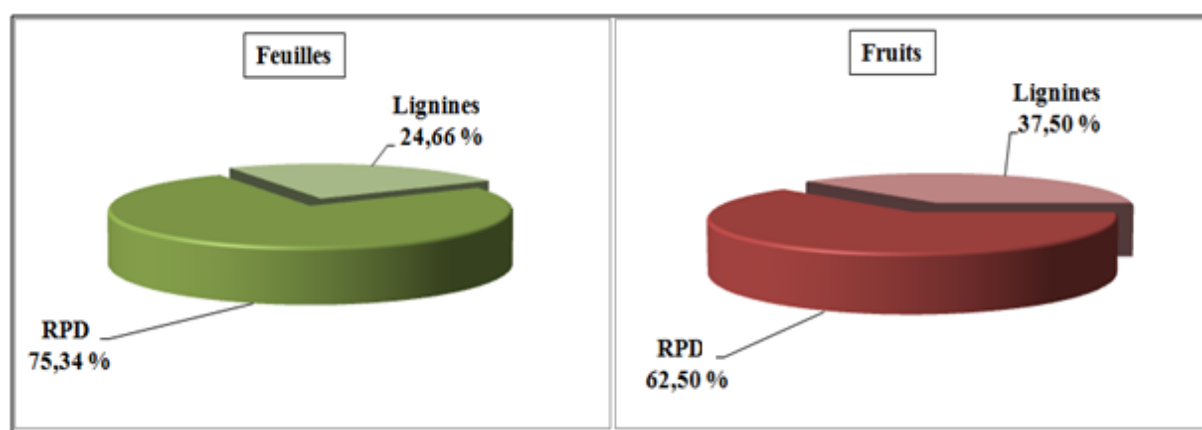


Figure 41 : Pourcentages moyens en résidu pariétal délignifié et en lignines dans les feuilles et fruits de *C. monogyna*

RDP : résidu pariétal délignifié.

La délignification des résidus pariétaux obtenus des feuilles et des fruits de *C. monogyna*., fait ressortir des pourcentages importants en résidu pariétal délignifié, soit 75.34% chez les feuilles et 62.50% chez

les fruits. Cependant, les lignines présentent un pourcentage de 24.66% dans les feuilles et 37.50 % dans fruits.

IV.2. Teneurs moyennes en cellulose, hémicelluloses, pectines hautement méthylées et pectines faiblement méthylées des feuilles et des fruits de *C. monogyna* Jacq.

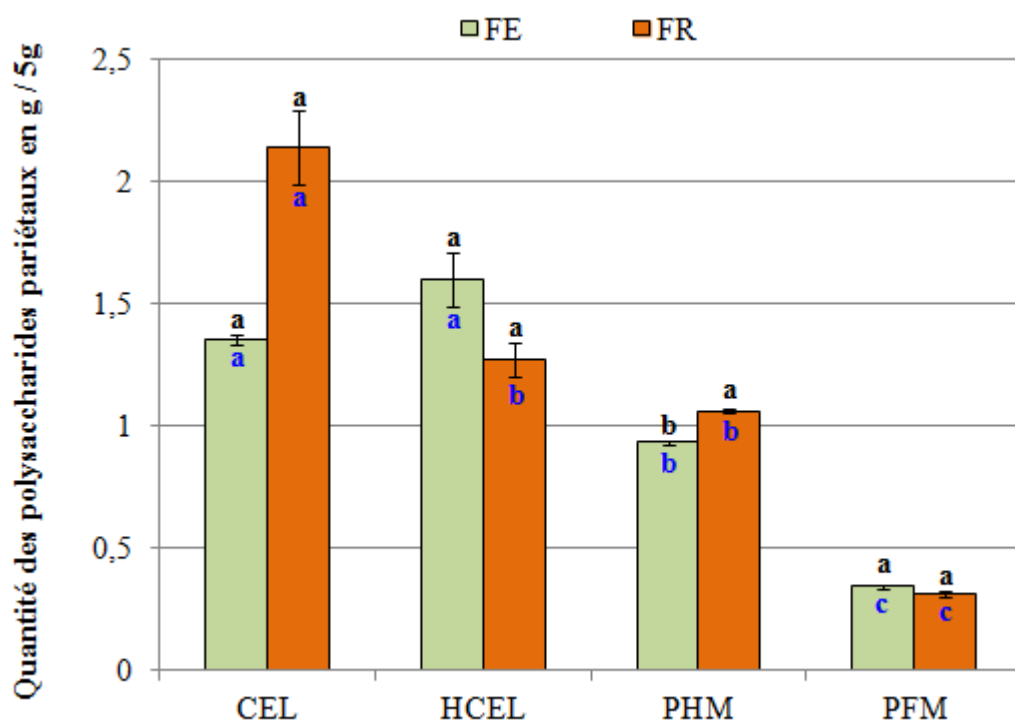
Les teneurs moyennes en cellulose, hémicelluloses, pectines hautement méthylées et pectines faiblement méthylées extraites à partir du résidu pariétal délignifié des feuilles et des fruits de *C. monogyna* Jacq., (fig. 43) sont notées dans le tableau n° 09 et représentées par la figure n°42.

Tableau 09 : Teneurs moyennes en cellulose, hémicelluloses, pectines hautement méthylées et pectines faiblement méthylées dans les feuilles et fruits de *C. monogyna*, dans 5g de résidu pariétal délignifié (RPD).

	Polysaccharides pariétaux en g / 5g de RPD		Analyse de la variance
	Feuilles	fruits	
CEL	^a 01.53 ± 0.02 ^a	^a 02.14 ± 0.15 ^a	—
HCEL	^a 01.60 ± 0.11 ^a	^b 01.27 ± 0.07 ^a	—
PHM	^b 00.93 ± 0.01 ^b	^b 01.06 ± 0.01 ^a	+
PFM	^c 00.34 ± 0.01 ^a	^c 00.31 ± 0.01 ^a	—
Analyse de la variance	+	+	

CEL : cellulose, **HCEL** : hémicellulose, **PHM** : pectines hautement méthylés, **PFM** : pectines faiblement méthylés, **RPD** : résidu pariétal délignifié. + : Différence significative au seuil de 5% ($P < 0.05$). — : Différence non significative au seuil de 5% ($P > 0.05$).

Les lettres différentes indiquent une différence significative entre les polysaccharides analysés (lettres en bleu) dans le même organe et entre les organes pour chaque polysaccharide analysé (lettres en noir) (test de Tukey ; $P < 0.05$).



Figure

42 : Teneurs moyennes en cellulose, hémicelluloses, pectines hautement méthylées et pectines faiblement méthylées dans les feuilles et fruits de *C. monogyna* dans 5g de RPD.

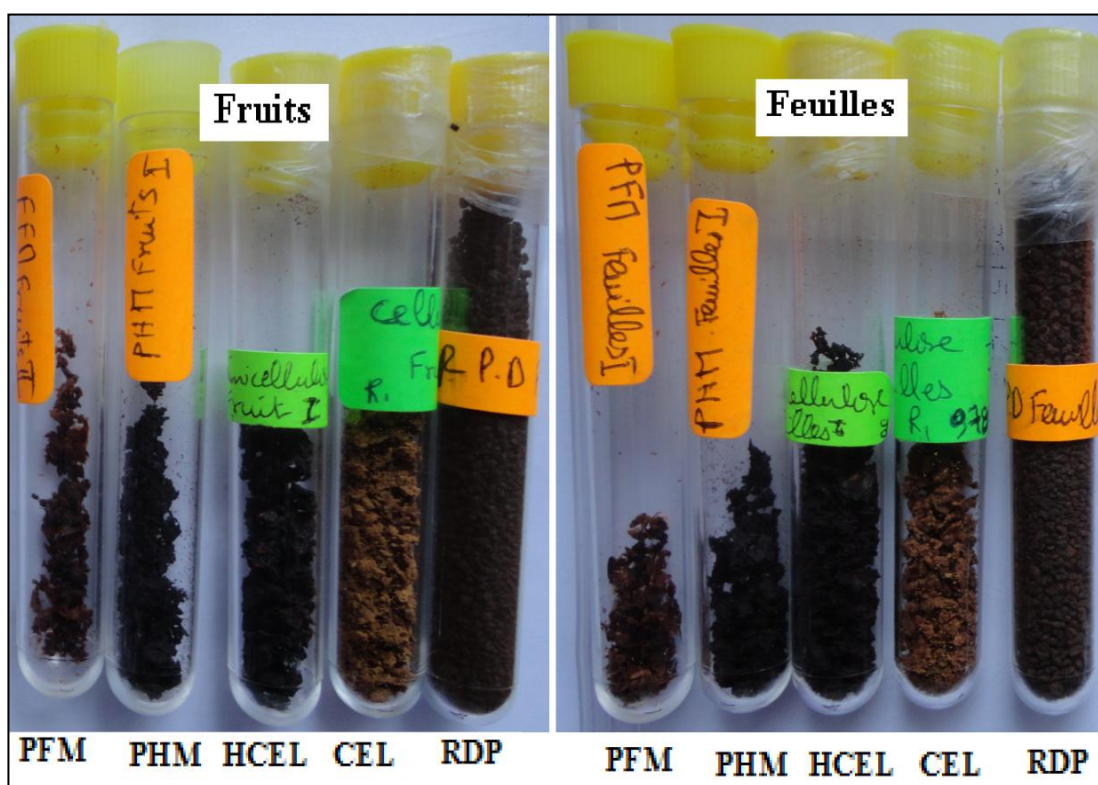


Figure 43 : Les différentes fractions polysaccharidiques extraites à partir des feuilles et fruits de *C. monogyna* (cliché Hamdaoui, 2016).

L'analyse de la variance a fait ressortir, au niveau des feuilles ou des fruits, des différences significatives entre les teneurs moyennes des différentes fractions polysaccharidiques extraites (cellulose, hémicelluloses, pectines hautement méthylées et pectines faiblement méthylées) ($p < 0,05$). Par contre, cette différence n'est pas significative ($P > 0,05$) entre les deux organes suscités et ce quelle que soit la fraction polysaccharidique, sauf pour les pectines hautement méthylées.

Les résultats obtenus montrent que pour les fruits, la cellulose représente la moitié des composés dosés, soit environ 2.14 ± 0.15 g/5g de RDP. Ce n'est pas le cas pour les feuilles qui sont riches en hémicelluloses, soit 1.60 ± 0.11 g/5g de RDP.

Les feuilles et les fruits présentent des teneurs différentes en pectines hautement méthylées, soit 0.93 ± 0.01 g/5g et 1.06 ± 0.01 g/5g respectivement, et des teneurs comparables en pectines faiblement méthylées, environ 0.34 ± 0.01 g/5g dans les feuilles et 0.31 ± 0.01 g/5g dans les fruits.

Dans des travaux réalisés dans le même contexte et sur la même espèce, il est signalé des teneurs différentes en polysaccharides pariétaux. Saadoudi (2007), sur la partie charnue des fruits de *C. monogyna* poussant dans la région de Batna, a obtenu 11.40 ± 0.91 g de cellulose et 1.60 ± 0.91 g de pectines dans 100g de matière sèche ; alors qu'en Turquie, Ozcan *et al.*, (2005) évalue la cellulose à 4,67 %.

Cette différence entre les résultats au sein d'une même espèce est en relation certainement avec la méthode d'extraction adoptée, des solvants utilisés, de la situation géographique, de la période de collection et du le degré de maturité, etc.

IV.3. Caractérisation qualitative des polysaccharides pariétaux par chromatographie sur couche mince (CCM).

L'hydrolyse acide totale et pariétale avec l'acide sulfurique 1 M à 100 °C pendant 4 heures (Harche *et al.*, 1991), des polysaccharides pariétaux (cellulose, hémicellulose, pectines hautement méthylées et pectines faiblement méthylées) des feuilles et des fruits de *C. monogyna.*, montre une dépolymérisation relative de ces macromolécules.

Dans nos conditions expérimentales, nous avons utilisé un révélateur à base de déphénylamine et d'aniline qui sont couramment utilisés pour détecter simultanément tous les oses utilisés pour la gamme étalon avec des teintes vives et différenciées (fig. 44) :

- les hexoses (glucose, galactose, mannose et fructose) en marron,
- les pentoses (arabinose et xylose) en rouge sombre,
- les méthylpentoses (Rhamnose) en orange.

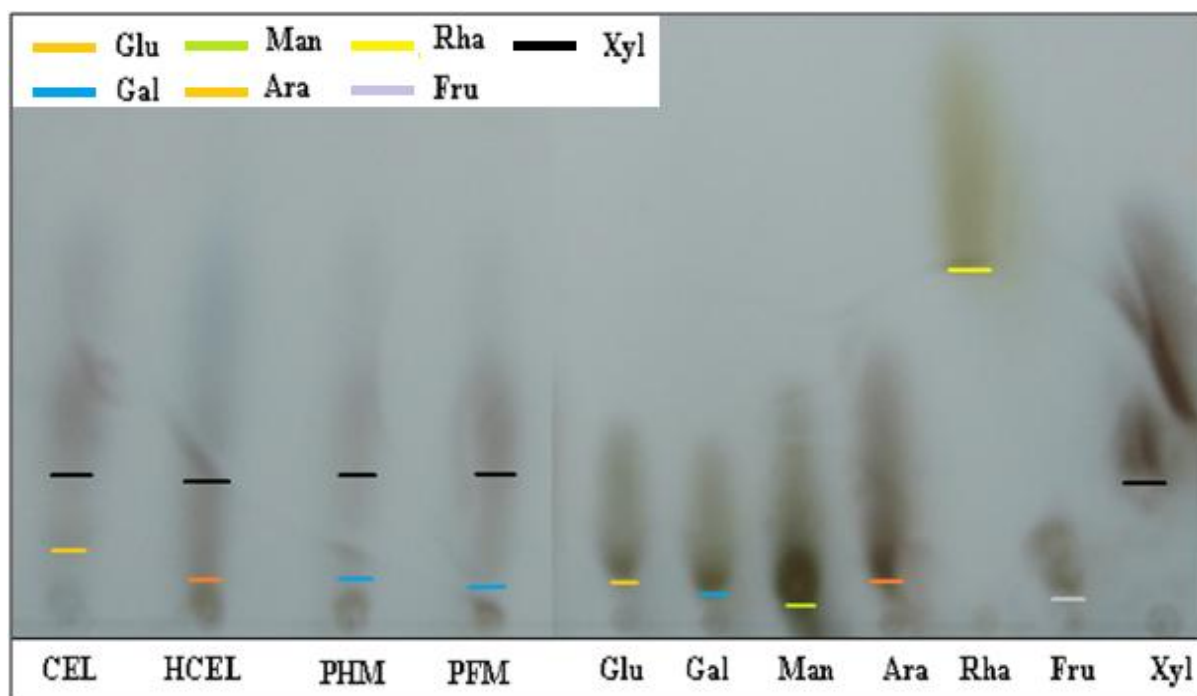
En effet, les monosaccharides contenus dans les hydrolysats des polysaccharides pariétaux étudiés donnent des couleurs indifférenciées, mais qui se décolorent rapidement (fig. 45 et 46).

Les profils chromatographiques des différents hydrolysats montrent des spots avec des rapports frontaux (R_f) variables, mais l'identification des monosaccharides est un peu compliquée parce que les chromatogrammes laissent des traces entre les spots pendant leur parcours. Nous notons aussi que l'éluant (Acétate d'éthyle, acide acétique, eau) utilisé a permis la séparation des monosaccharides de manière moins efficace, aboutissant à des rapports frontaux (R_f) quasi identiques, comme le glucose, le galactose, l'arabinose et le fructose ; alors que cet éluant sépare bien les autres oses tels que le xylose et le Rhamnose.



Figure 44 : Chromatographie sur couche mince de la gamme étalon utilisée

Glu: glucose, **Gal:** galactose, **Man:** mannose, **Ara:** arabinose, **Rha:** rhamnose, **Fru:** fructose,
Xyl: xylose.



Figures 45 : Caractérisation qualitative des monosaccharides des hydrolysats des polysaccharides pariétaux des feuilles de *C. monogyna*. par chromatographie sur couche mince.

CEL : cellulose, **HCEL :** hémicellulose, **PHM :** pectines hautement méthylés, **PFM :** pectines faiblement méthylés.

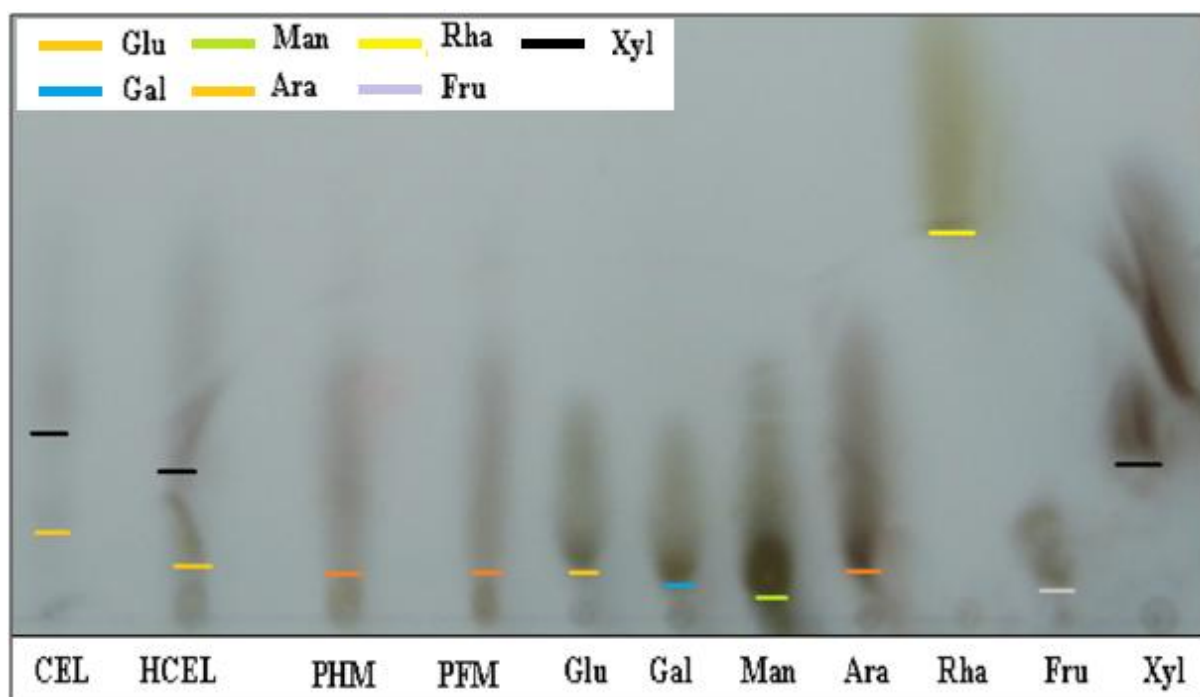


Figure 46 : Caractérisation qualitative des monosaccharides des hydrolysats des polysaccharides pariétaux des fruits de *C. monogyna* par chromatographie sur couche mince.

Le calcul des rapports frontaux et la couleur des spots sont les critères utilisés pour identifier les monosaccharides des différents hydrolysats.

Le premier spot (R_f varie entre 0,005 et 0,008) dans tous les hydrolysats. Ces tâches semblent correspondre à un ose hors de la gamme étalon utilisée, ou bien un fragment d'oligosaccharide dépolymérisé suite à l'hydrolyse qui peut suivre leur migration avec le temps jusqu'à disparition totale.

Hormis le premier spot, pour les feuilles de *C. monogyna*, nous avons enregistré deux spots de R_f égales à 0,039 et 0,096 pour l'hydrolysate de la cellulose, et 0,025 et 0,084 pour l'hydrolysate des hémicelluloses. Cependant, pour les pectines, nous notons deux spots de R_f égale 0,022 et 0,081 pour les pectines hautement méthylées, et 0,019 et 0,079 pour les pectines faiblement méthylées. Parallèlement, le parcours des hydrolysats des polysaccharides pariétaux du fruit sur la plaque est marqué par deux spots avec des R_f égales à 0,045 et 0,112 pour la cellulose, et 0,028 et 0,081 pour les hémicelluloses. Alors qu'un seul spot de $R_f = 0,025$ est noté pour les pectines hautement méthylées et ainsi pour les pectines faiblement méthylées.

La comparaison des différents rapports frontaux (R_f) obtenus avec les monosaccharides de la gamme étalon utilisée, est représentée sur le tableau n° 10.

Tableau 10 : Caractérisation qualitative en monosaccharides des polysaccharides pariétaux (cellulose, hémicellulose, pectines hautement méthylées et pectines faiblement méthylées) des feuilles et fruits de *C.monogyna* Jacq., par chromatographie sur couche mince.

Monosaccharides témoins	Rapport frontal (R_f)	Feuilles				Fruits			
		CEL	HCEL	PHM	PFM	CEL	HCEL	PHM	PFM
D.(+) Glucose (Glu)	0.028	X	-	<u>X</u>	<u>X</u>	X	X	-	-
D. Galactose (Gal)	0.019	-	-	<u>X</u>	<u>X</u>	-	-	-	-
D. Mannose (Man)	0.011	-	-	-	-	-	-	-	-
D. Arabinose (Ara)	0.025	-	X	-	-	-	-	X	X
L. Rhamnose (Rha)	0.225	-	-	-	-	-	-	-	-
D. Fructose (Fru)	0.016	-	-	-	-	-	-	-	-
D. Xylose (Xyl)	0.090	X	X	X	X	X	X	-	-

X : présence du sucre, - : absence du sucre. X : présence probable.

D'après le tableau ci-dessus, il ressort une hétérogénéité monosacharidiques entre les différents hydrolysats.

Les résultats de la chromatographie sur couche mince après une hydrolyse acide totale de la cellulose ont révélé que la cellulose des feuilles et des fruits de *C. monogyna*. est constituée de glucose et de xylose. La cellulose est normalement une macromolécule tendue constituée uniquement de monomère de glucose relié en β (1-4) (Guignard, 2000). Ces résultats montrent l'impureté de la cellulose, puisque les résidus de xylose caractéristiques des hémicelluloses restent liés à la cellulose. Ceci signifie que le xylose est lié de façon covalente à la chaîne glucosidique. D'après Jean (2011), le xylose est le deuxième sucre le plus abondant dans la biosphère.

L'hydrolyse acide pariétale montre la présence de xylose et probablement d'arabinose dans les hémicellulose des feuilles, donc nous pouvons admettre que les hémicelluloses sont type xylanes (hétéroxylanes). Les hétéroxylanes sont les hémicelluloses les plus répandues, qui s'adsorbent à la cellulose et s'associent entre eux par des liaisons d'hydrogènes en formant des liaisons covalentes avec les lignines (Thomson, 1993). Aussi, la présence du glucose et du xylose dans les hémicelluloses des fruits, indique la présence d'hémicelluloses de type xyloglucanes. Selon Jean (2011), les xyloglucanes constituent la famille prédominante des hémicelluloses chez les dicotylédones, ils sont largement décrits comme des régulateurs biologiques actifs sur des mécanismes tels que la croissance, le développement cellulaire, la symbiose et les réactions de défense (Aldington & Fry, 1993). Valent & Albersheim (1974) montrent que les liaisons hydrogènes entre les microfibrilles de cellulose et les xyloglucanes étaient renforcées plutôt qu'amoindries en condition de pH acide.

Pour les pectines hautement méthylées et les pectines faiblement méthylées, nous notons la présence de xylose et de galactose ou bien de glucose dans les feuilles et la présence d'arabinose dans les fruits, c'est-à-dire des chaînes latérales de types galactanes dans les feuilles et arabinanes dans les fruits. D'après la littérature, la structure principale des pectines est formée de chaînes linéaires faiblement polymérisées d'acides galacturoniques liés en $\alpha(1\rightarrow4)$, sur lesquelles s'insèrent des résidus de L-rhamnose, des chaînes latérales de natures diverses, arabinanes, galactanes et arabinogalactanes sont aussi greffées sur le squelette rhamnogalacturonique (Véronique, 2007). Dans le cas des polysaccharides contenant des acides uroniques comme l'acide glucuronique et l'acide galacturoniques, la stabilité de la liaison uronosidyle rend souvent délicate l'application des méthodes classiquement utilisées en chimie des sucres (Véronique, 2007). Selon Kamerling *et al.* (2007), les liaisons uronosidyles sont extrêmement stables. En effet, la solubilité des substances pectiques dépend de leur masse moléculaire, de la présence des chaînes latérales, mais aussi et surtout du degré de méthylestérification et de la distribution de ces groupements méthyles (Véronique, 2007). Les pectines sont très utilisées dans l'industrie agro-alimentaire (Pilnik, 1990a), sont considérées comme des additifs alimentaires sous le n° E440, leurs propriétés biologiques tant dans le domaine thérapeutique en santé humaine que dans celui de l'organisation et de l'évolution des structures pariétales en physiologie végétale (Véronique, 2007).

Des études antérieures montrent que les feuilles, fruits et fleurs de *C. monogyna*. contiennent 17.0 à 24.0 mg/g de sucres réducteurs et 53.0 à 55.0 mg/g de sucres totaux (Bahri *et al.*, 2009b). Selon Saadoudi (2007), la partie charnue de *C. monogyna* contient 11.45 g/100g de sucres solubles, 7.86 g/100g de sucres réducteurs et 3.59 g/100g de saccharose. Alors que Pengzhan (2012) montre que le saccharose est identifié uniquement dans *C. pinnatifida* var. *major* et *C. scabrifolia*.

D'après Jennifer (2012), le fructose est le sucre le plus abondant dans les fruits des aubépines, alors que le glucose, sucrose et la xylose sont significativement moins abondant. Le sorbitol (Sucre alcoolique) a une importance particulière dans les fruits des aubépines et le principal sucre de translocation (Urbonaviciute *et al.*, 2006). D'autre part, le fructose, glucose, sucrose, sorbitol et le myo-inositol sont les sucres et les alcools les plus répandus dans les fruits du genre *Crataegus* (Pengzhan, 2012).

Petereit et Nahstedt (2005) montrent que les aglycones et les glycosides de flavonols dans *C. monogyna*, *C. laevigata*, *C. pentagyna*, *C. nigra*, and *C. azarolus* sont représentés par l'hyperoside (quercetin-3-O-galactoside), le crataegide (quercetin-3'-O-arabinoside), spiraeoside (quercetin-4'-O-glucoside), la rutine (quercetin-3-O-rutinoside), la quercetin-3-O-rhamnosylgalactoside, sexangularetin-3-O-glucoside, sexangularetin-3-O-neohesperidoside and sexangularetin-3-O-(6"-O-malonyl)- β -D-glucoside, c'est-à-dire la présence du glucose, galactose et arabinose dans *C. monogyna*., ce qui est en accord avec nos résultats.

Les données sur la caractérisation qualitative en monosaccharides des polysaccharides des parois cellulaires des feuilles et des fruits de *C. monogyna*, reste préliminaire en tenant en considération plusieurs facteurs qui s'impliquent dans la complexité d'identification des sucres : - premièrement l'impureté des oligosaccharides due au protocole d'extraction qui induit l'apparition de spots qui chevauchent entre les hydrolysats ; - la méthode d'hydrolyse qui entraîne la libération d'unités osidiques ; - le système de la phase mobile utilisé qui influe sur la migration des molécules ; - la durée de migration et le réactif de révélation, etc.

Dans notre étude, nous avons pu séparer un nombre limité de sucres contenus dans les feuilles et les fruits de *C. monogyna*., c'est-à-dire il y a la possibilité de la présence d'autres résidus osidiques impliqués dans les spots. Donc, il est indispensable d'essayer d'autres méthodes d'extraction, d'hydrolyse et de choix d'éluant et de révélateur appropriés pour identifier d'autres oses. Il serait également souhaitable d'utiliser des techniques de pointe comme l'HPLC pour ce type d'investigation.

Donc, nous pouvons conclure que les feuilles et les fruits de *C. monogyna* renferment des quantités très importantes en polysaccharides pariétaux (cellulose, hémicelluloses, pectines hautement et faiblement méthyles) avec une diversité monosaccharidique (glucose, galactose, arabinose et xylose), en ajoutant que les diamètres des spots peuvent donner des renseignements sur la quantité des oses dans les

hydrolysats, c'est-à-dire la chromatographie sur couche mince permet de caractériser les oses d'un côté qualitative et quantitative; le xylose et présente en quantité très importante dans les feuilles par rapport aux fruits qui sont riche en arabinose qui caractérise les composées pectiques.

Il faut cependant reconnaître que si la chromatographie sur couche mince reste une méthode à laquelle on a souvent recours, son usage ne permet de séparer qu'un nombre limité de sucres à la fois, les temps d'élution sont extrêmement différentes et les spots parfois difficilement interprétables. Par ailleurs, l'hydrolyse par une concentration en acide plus élevé comme 4 M par rapport à 1 M libère des oses simples impliqués dans des spots d'oses simples déjà existant. Ruiz (2005) en raison de la grande labilité des polysaccharides et le risque d'une altération des oses simples libérés, il est indispensable de suivre la cinétique de leur hydrolyse dans des conditions plus douces. En effet, la chromatographie sur couche mince n'est pas suffisante pour identifier un produit mais elle apporte des renseignements susceptibles d'orienter vers une hypothèse de structures (Villars, 1971).

Au cours de ces dernières décennies, les voies de dépolymérisation des polysaccharides ont été les plus décrites pour générer des familles oligosaccharidiques originales et variées (Boual, 2013). Les espèces sources sont, en effet, soumises à des aléas climatiques et écologiques qui jouent de manière significative sur la quantité et la qualité des polysaccharides qu'elles produisent. L'intérêt de ces macromolécules polysaccharidique ne se limite pas à leurs propriétés rhéologiques : le rôle biologique de certains d'entre eux les désigne comme des molécules à activités pharmaceutique ou dermo-cosmétologique (Véronique, 2007) et aussi comme une source d'énergies renouvelables et dans la production du bioéthanol (Ogier *et al.*, 1999).

V. Effet des traitements physiques et chimiques sur la germination des graines de *C. monogyna*

Les graines de *C. monogyna* présente une dormance complexe représentée par une inhibition tégumentaire et une dormance embryonnaire. Dans les conditions naturelles, la germination des graines peut étendre à deux ans (Éthel *et al.*, 1997 ; Pierre, 2004). Dans le cadre de ce volet de recherche, nous avons appliqué aux graines quelques traitements physico-chimiques afin d'améliorer les conditions de germination de cette espèce et ce dans un but de conservation.

V.1. Capacité de germination

À 20 °C et 25 °C aucune capacité de germination n'a été observée pour les graines témoin (graines n'ayant subi aucun traitement).

Les capacités moyennes de germination enregistrées à 20 °C et à 25 °C des graines traitées sont représentées respectivement sur les tableaux 11 et 12.

Tableau 11: Capacités de germination moyennes à 20 °C.

T	CG à 20 °C				Analyse de la variance
	Ech 1	Ech 2	Ech 3	Ech 4	
T I	^a 40 ± 3.16 ^a	^a 55 ± 6.22 ^a	^a 53 ± 5.36 ^{a b}	^b 34 ± 5.74 ^b	—
T II	^a 40 ± 2.82 ^b	^{a b} 48 ± 3.16 ^{a b}	^a 53 ± 4.33 ^a	^{a b} 37 ± 3.84 ^b	—
T III	^b 26 ± 2.23 ^b	^{a b} 49 ± 7.12 ^a	^a 57 ± 1.65 ^a	^a 52 ± 3.16 ^a	+
T IV	^{a b} 36 ± 3.16	^{a b} 49 ± 5.17 ^{a b}	^a 52 ± 2.00 ^a	^{a b} 47 ± 3.70 ^{a b}	—
T V	^a 40 ± 5.47 ^a	^{a b} 52 ± 4.47 ^a	^a 48 ± 3.74 ^a	^{a b} 46 ± 7.81 ^a	—
T VI	^b 24 ± 5.09 ^a	^b 34 ± 7.68 ^a	^a 44 ± 7.07 ^a	^{a b} 43 ± 2.17 ^a	—
Analyse de la variance	+	—	—	—	

CG : Capacité de germination. **T** : Traitement.

+: Différence significative au seuil de 5% ($P < 0.05$), — : Différence non significative au seuil de 5 % ($P > 0.05$).

Les lettres différentes indiquent une différence significative entre les essais (test de Fisher: $P < 0.05$).

Ech 1: graines non scarifiées par l'acide sulfurique (98%).

Ech 2: graines scarifiées par l'acide sulfurique pendant 30 mn.

Ech 3: graines scarifiées par l'acide sulfurique pendant 60 mn.

Ech 4: graines scarifiées par l'acide sulfurique pendant 90 mn.

TI : Stratification chaude à 20 °C pendant 4 semaines, suivie par une stratification froide à 4°C pendant 10 semaines.

T II : Stratification chaude à 25 °C pendant 4 semaines, suivie par une stratification froide à 4°C pendant 10 semaines.

TIII : Stratification chaude à 30 °C pendant 4 semaines, suivie par une stratification froide à 4°C pendant 10 semaines.

TIV: Stratification alternée : chaude à 25 °C pendant 4 semaines, suivie par une stratification froide à 4°C pendant 4 semaines, suivie par une stratification chaude à 25°C pendant 4 semaines.

TV : Stratification chaude à 25°C pendant 12 semaines, suivie par une stratification froide à 4°C pendant 4 semaines.

TVI : Stratification froide à 4°C pendant 16 semaines.

L'analyse de la variance a fait ressortir une différence significative entre les capacités moyennes de germination à 20 °C, notées au niveau des différents traitements pour les graines non scarifiées (Ech 1) ainsi qu'entre les différents échantillons ayant subi une stratification chaude à 30 °C pendant quatre semaines suivie d'une stratification froide à 4°C pendant dix semaines (T III). La capacité de germination maximale (57 ± 1.65 %) est obtenue avec les graines de l'échantillon (Ech 3) ayant subi le traitement T III, alors que la capacité de germination la plus faible (24 ± 5.09 %) caractérise les graines non scarifiées ayant subi le traitement VI, c'est-à-dire les graines non scarifiées et stratifiées à 4°C pendant 16 semaines. Globalement et quel que soit le traitement, les graines des échantillons 2 et 3 ont enregistré les meilleures capacités de germination.

Tableau 12: Capacités de germination moyennes à 25 °C.

T	CG à 25 °C				Analyse de la variance
	Ech1	Ech 2	Ech 3	Ech 4	
T I	45 ± 4.97^a	45 ± 8.98^a	47 ± 5.89^a	47 ± 4.97^a	—
T II	46 ± 4.12^a	53 ± 6.98^a	56 ± 7.07^a	41 ± 2.95^a	—
T III	46 ± 4.12^a	57 ± 2.59^a	56 ± 1.41^a	40 ± 3.74^b	+
T IV	48 ± 2.44^a	56 ± 1.41^a	49 ± 3.57^a	36 ± 7.87^b	—
T V	42 ± 3.00^a	53 ± 3.33^a	49 ± 6.68^a	45 ± 4.97^a	—
T VI	25 ± 0.86^c	45 ± 5.72^b	62 ± 5.38^a	45 ± 2.95^b	+
Analyse de la variance	+	—	—	—	

L'analyse de la variance des capacités moyennes de germination obtenues à 25°C a fait ressortir également une différence significative entre les capacités de germination notées au niveau des différents traitements pour les graines non scarifiées ainsi qu'entre les différents échantillons ayant subi une stratification chaude à 30°C pendant quatre semaines suivie d'une stratification froide à 4°C pendant dix semaines (T III) et une stratification froide à 4°C pendant 16 semaines (T VI). La capacité de

germination maximale ($62 \pm 5.38 \%$) est obtenue avec les graines de l'échantillon 3 (Ech 3) ayant subi le traitement T VI alors que la capacité de germination la plus faible ($25 \pm 0.86 \%$) caractérise les graines non scarifiées ayant subi le traitement VI. Globalement et quel que soit le traitement, les graines des échantillons 2 et 3 ont enregistré les meilleures capacités de germination.

V.2. Coefficient de vélocité

Les valeurs moyennes des coefficients de vélocité évaluées à 20 et 25 °C sont représentées respectivement sur les tableaux 13 et 14.

Tableau 13: Pourcentages des coefficients de vélocité moyens à 20 °C.

T	CV en % à 20 °C				Analyse de la variance
	Ech 1	Ech 2	Ech 3	Ech 4	
T I	^a 13.80 ± 2.30 ^b	^{a,b} 19.40 ± 01.90 ^{a,b}	^a 27.70 ± 5.10 ^a	^a 22.20 ± 0.40 ^{a,b}	—
T II	^{a,b} 09.80 ± 0.50 ^b	^{a,b} 20.00 ± 01.80 ^{a,b}	^{a,b} 25.80 ± 5.10 ^a	^a 19.90 ± 3.30 ^{a,b}	—
T III	^b 07.60 ± 1.10 ^b	^a 23.50 ± 03.90 ^a	^{a,b} 22.60 ± 1.50 ^a	^a 22.60 ± 6.10 ^a	—
T IV	^b 08.00 ± 1.00 ^b	^{b,c} 13.60 ± 2.00 ^a	^{a,b} 16.20 ± 1.30 ^a	^a 17.60 ± 1.20 ^a	+
T V	^b 07.90 ± 0.40 ^b	^{a,b,c} 18.70 ± 2.70 ^a	^{a,b} 20.30 ± 1.30 ^a	^a 17.10 ± 3.00 ^a	+
T VI	^b 06.20 ± 0.30 ^c	^c 10.50 ± 2.20 ^{b,c}	^b 15.70 ± 2.60 ^{a,b}	^a 20.10 ± 2.30 ^a	+
Analyse de la variance	+	—	—	—	

CV : Coefficient de vélocité.

À 20 °C, les coefficients de vélocité varient selon les traitements utilisés pour les graines non scarifiées ($p < 0,05$) ainsi qu'entre les échantillons pour les graines ayant subies les traitements IV, V et VI. Nous constatons aussi que la valeur du coefficient de vélocité est faible chez les graines non scarifiées, elle s'améliore chez les graines scarifiées pendant 30 et 60 mn. Ce coefficient commence à diminuer quand la durée de la scarification dépasse 90 mn.

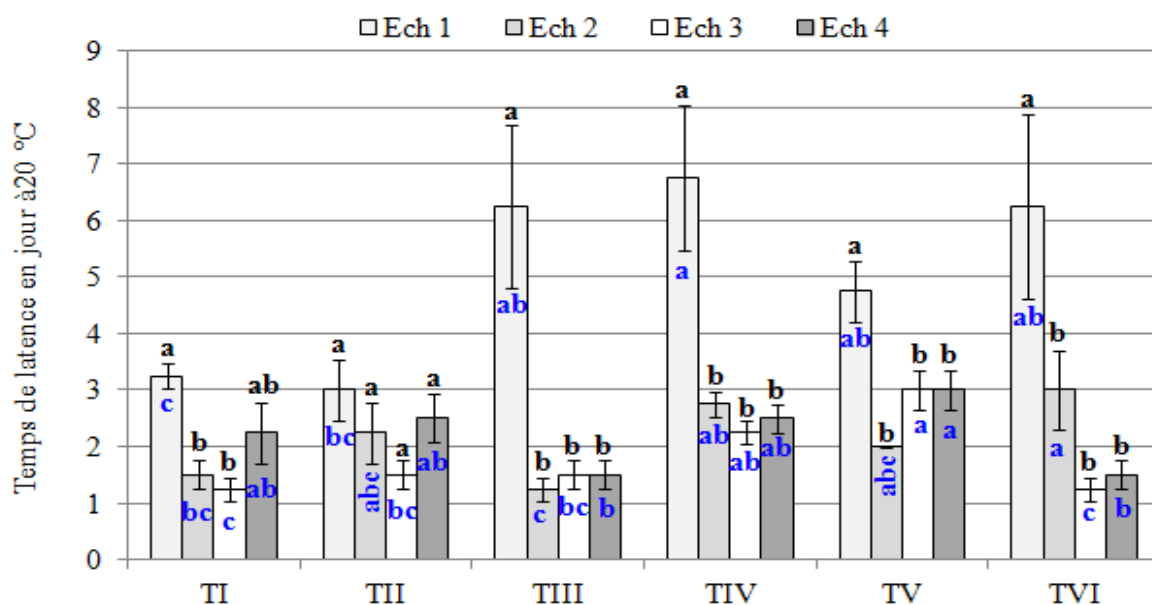
Tableau 14: Coefficients de vitesse moyens à 25 °C.

T	CV en % à 25 °C				Analyse de la variance
	Ech 1	Ech 2	Ech 3	Ech 4	
T I	^a 09.90 ± 1.50 ^b	^{a,b} 21.20 ± 4.40 ^{a,b}	^a 20.60 ± 4.70 ^{a,b}	^a 27.90 ± 4.40 ^a	—
T II	^a 11.60 ± 1.90 ^b	^{a,b} 18.70 ± 2.70 ^{a,b}	^a 28.40 ± 5.00 ^a	^{a,b} 19.70 ± 2.30 ^{a,b}	—
T III	^a 08.40 ± 1.30 ^b	^a 25.50 ± 4.20 ^a	^a 27.20 ± 1.90 ^a	^{a,b} 24.30 ± 4.20 ^a	+
T IV	^a 09.90 ± 1.50 ^b	^b 12.40 ± 0.40 ^b	^a 20.20 ± 3.00 ^a	^{a,b} 22.90 ± 1.70 ^a	+
T V	^a 13.30 ± 1.70 ^a	^b 15.60 ± 1.60 ^a	^a 17.10 ± 2.30 ^a	^{a,b} 20.20 ± 1.90 ^a	—
T VI	^a 08.50 ± 0.40 ^c	^{a,b} 17.20 ± 1.30 ^{a,b}	^a 22.90 ± 2.90 ^a	^b 15.20 ± 2.20 ^{b,c}	+
Analyse de la variance	—	—	—	—	

À 25 °C, la variabilité entre les coefficients de vitesse n'est pas significative entre les traitements utilisés ($p > 0,05$) ainsi qu'entre les échantillons, sauf pour les graines ayant subies les traitements III, IV et VI. Nous remarquons aussi, que la valeur du coefficient de vitesse est faible chez les graines non traitées avec l'acide sulfurique, elle s'améliore chez les graines scarifiées pendant 30 et 60 mn. Ce coefficient commence à diminuer quand la durée de la scarification dépasse 90 mn, à l'exception du traitement I, IV et VI.

V.3. Temps de latence

Les temps moyens de latence estimés à 20 et 25 °C sont représentés respectivement par les figures 47 et 48 .

**Figure 47:** Temps de latence moyens à 20 °C.

Les lettres différentes indiquant une différence significative (test de Fisher ; $P < 0.05$) entre les traitements (lettres en bleu) et entre les échantillons (lettres en noire).

La différence entre les temps moyens de latence des graines mises à germer à 20°C est significative ($P < 0, 05$) entre les traitements de l'Ech 3 et entre les échantillons des traitements TIII, TIV, TV, TVI. Comparativement aux graines non scarifiées, celles scarifiées germent plus rapidement. En effet, pour les graines non scarifiées, le temps de latence peut atteindre 7 jours, alors qu'il ne dépasse pas 3 jours pour les graines scarifiées.

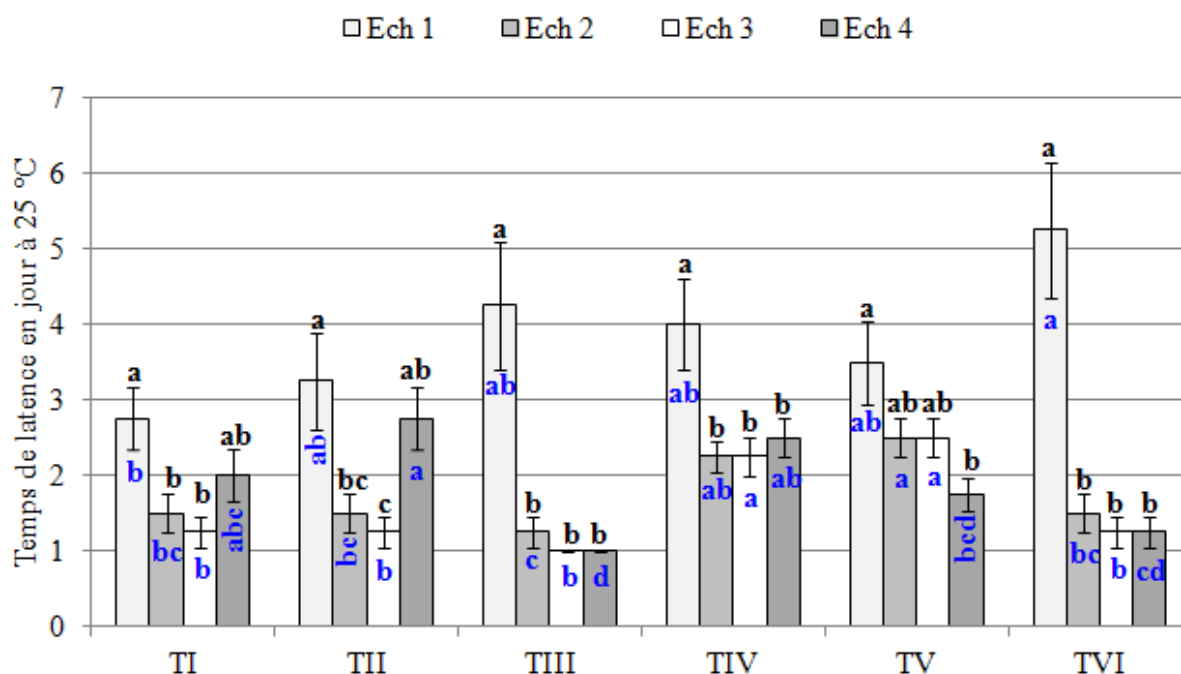


Figure 48: Temps de latence moyens à 25°C.

Les lettres différentes indiquant une différence significative entre les essais (test de Fisher ; $P < 0.05$).

La différence entre les temps moyens de latence des graines mises à germer à 25°C est significative ($P < 0, 05$) entre les traitements de l'Ech 2, Ech 3 et Ech 4 et entre les échantillons des traitements TII, TIII, TIV et TVI. Les temps de latences enregistrées à 25 °C sont inférieurs à ceux obtenus avec les graines mis à germer à 20 °C. Comparativement aux graines non scarifiées, celles scarifiées germent plus rapidement. En effet, le temps de latence pour les graines non traités avec l'acide sulfurique peut s'étendre à 6 jours, alors que les graines scarifiées peuvent germer au bout du 1^{er} ou 2^{ème} jour et ce, quels que soient le traitement et la durée de scarification.

Les aubépines indigènes aux climats tempérés chauds possèdent seulement une dormance de l'endocarpe, tandis que les espèces indigènes aux régions de climats plus froids possèdent à la

fois une dormance embryonnaire et une dormance d'endocarpe. Dans la nature, la germination de *C. monogyna* se produit pendant la deuxième saison suivant la dispersion, donc le déclenchement de la germination chez les graines nécessite deux saisons afin de surmonter les dormances complexes (Phipps, 1998a). En effet, durant l'été la résistance mécanique des téguments sera surmontée par l'action de la température et des bactéries, cependant le froid d'hiver suivant sert à permettre la maturation de l'embryon (Éthel *et al.*, 1997 ; Beti & Anna, 2001).

À 20 °C et 25 °C, les résultats obtenus permettent de faire ressortir les points suivants :

- comparativement aux graines non traitées avec l'acide sulfurique, tous les différents prétraitements employés ont permis, notamment à 25 °C, d'améliorer le pouvoir germinatif des graines.
- plus la durée de la scarification chimique avec l'acide sulfurique (H_2SO_4 à 98%) est importante, essentiellement 30 mn et 60 mn, plus la capacité de germination et le coefficient de vélocité sont meilleurs. Cependant, au-delà de 60 mn, ces deux paramètres commencent à s'affaiblir. En effet, les graines scarifiées pendant 90 mn fermentent ce qui explique le faible taux de germination enregistré. Cette évolution s'inverse pour le temps de latence.
- Les graines de *C. monogyna* doivent être subir une stratification chaud-froid, pour lever leurs dormance combinée. En effet la différence entre les durées de stratification des graines au chaud et au froid entre les traitements influe sur les paramètres analysées: le temps de latence est plus court pour les traitements I, II et III et le coefficient de vélocité est faible pour les traitements IV, V et VI; Alors que les graines stratifiées seulement au froid (T VI) donnent des teneurs des capacités moyennes de germination faibles par rapport aux autres traitements. Les traitements de pré-germination se composent habituellement d'une scarification acide suivi d'une période de stratification froide (Brinkman, 1974 ; Hartmann *et al.*, 1997). Quelques auteurs proposent la scarification avec l'acide sulfurique de 30 mn à 2 h pour *C. monogyna*., suivi de 4 semaines de stratification chaude et de 12 semaines de stratification froide (Beti & Anna, 2001). Conformément à nos résultats, il ressort que la combinaison d'une stratification chaude et froide agit favorablement sur la germination des graines de *C. monogyna*. Brinkman (1974) a noté que toutes les graines des aubépines sont exposées à la dormance embryonnaire, donc exigeant la stratification froide pour la lever. En outre, d'autres auteurs comme John (1982), Dirr & Heuser (1987), Young & Young (1992) et Morgenson (1999) recommandent des périodes de stratification chaude pour quelques espèces d'aubépines. Cependant, Barbara (2002) a mentionnée que la période idéale pour récolter les fruits de *C. monogyna* est le mois d'octobre, quand ils sont bien mûrs.

Nos résultats sont encourageants et ce contrairement à certains d'autres comme ceux de Éthel *et al.* (1997) en Gaestienne (Europe) qui n'ont observé aucune germination chez les graines de *C. monogyna* après stratification froide à 5°C pendant 1, 2, 3 et 5 mois, ou après une stratification alternée chaud-froid à 25°C et 5 °C. Au contraire, Barbara (2002) a obtenu chez *C. monogyna* de Pologne une capacité de germination de 51% et 60 % à 20 °C respectivement après une stratification chaude à 25°C et 30 °C pendant 8~16 semaines, suivie d'une stratification froide à 3°C pendant 15 ~18 semaines. Ces valeurs dépassent celles obtenues dans notre travail chez les graines non scarifiées, soit 40 % et 26 % ; alors que des valeurs comparables sont obtenues avec les graines scarifiées pendant 60 minutes, soit 53% et 57%, respectivement après une stratification chaude à 25°C et 30°C pendant 4 semaines, suivie d'une stratification froide à 4°C pendant 10 semaines. Ce même auteur note aussi une capacité de germination de 17 % après une stratification froide à 3 °C pendant 18 semaines. Ce taux reste inférieur à celui que nous avons obtenu chez les graines non scarifiées soit 24% après une stratification froide à 4°C pendant 16 semaines. Selon Deno (1993), l'utilisation alternée des périodes de trois mois de stratification chaude à 21°C et de stratification froide à 4 °C, les graines de *C. monogyna* ont germées avec un pourcentage de 31% après un cycle chaud-froid et 55% après un cycle froid-chaud-froid-chaud-froid. Pour *C. monogyna*, ISTA (1993) prescrit 3 mois d'incubation à 25 °C, suivis de 9 mois de refroidissement à 3°C ou à 5 °C, et la germination doit être examinée en sable à 20 °C et 30 °C pendant 28 jours. Cette différence dans les pourcentages de germination selon les travaux réalisés sur la même espèce s'explique par l'origine géographique, le substrat, et surtout la période de collection des fruits. En effet, il est connu que les fruits du prunellier, de l'aubépine et de l'églantier ayant atteint leur coloration "fruit mûr" ne sont pas pour autant mûrs physiologiquement (Sorensen, 1981).

Conclusion générale

Conclusion générale

L'étude biochimique de *Crataegus monogyna* Jacq. a permis de faire ressortir les points suivants :

L'organe le plus riche en eau correspond aux fleurs, qui renferment la quantité la plus faible en matière sèche, en cendres totales et un taux appréciable de matière organique. Alors que les paramètres suscités présentent dans les feuilles et les fleurs des quantités comparables.

La teneur la plus élevée du rendement en extrait brut des extraits aqueux, éthanoliques et méthanoliques des feuilles, fruits et fleurs de *C. monogyna* caractérise les extraits aqueux suivie par les extraits éthanoliques. Alors que les teneurs les plus faibles sont enregistrées dans les extraits méthanoliques. Concernant les trois organes, il ressort que les meilleurs rendements sont obtenus avec les feuilles pour l'extrait aqueux et l'extrait méthanolique, et les fruits pour l'extrait éthanolique. Donc, l'eau présente une capacité d'extraction élevée par rapport aux solvants organiques (éthanol et méthanol). Cette différence entre le rendement des organes étudiés dépend de la polarité de chaque solvant utilisé.

Les différentes concentrations préparées à base des extraits méthanoliques, éthanoliques et aqueux des feuilles, fruits et fleurs de *C. monogyna* ont agit de façon différente sur la croissance des souches bactériennes et fongiques, en y induisant différents diamètres d'inhibition sur la zone de croissance.

Nous notons que la souche fongique *Candida albicans* est la plus sensible aux extraits de tous les organes avec une forte inhibition induite par les extraits méthanoliques et ce quelle que soit la concentration de l'extrait. Donc, le méthanol permet d'extraire les molécules bioactives dans les organes étudiés de *C. monogyna*, ayant un pouvoir inhibiteur sur la croissance de *C. albicans* et qui sont mieux représentées dans les fruits et les fleurs, et moyennement dans les feuilles.

Les extraits aqueux et éthanoliques des feuilles, fruits et fleurs exercent également une capacité inhibitrice important sur la croissance de la souche *C. albicans*.

La souche bactérienne *Proteus mirabilis* est très sensible à l'extrait méthanolique des fleurs. Cependant l'extrait méthanolique des feuilles et des fruits y présente une faible capacité inhibitrice. Cette sensibilité a été également détectée vis-à-vis de l'extrait éthanolique et de l'extrait aqueux des fleurs qui ont engendré sur la souche suscitée une zone d'inhibition important.

En ce qui concerne *Escherichia coli*, cette souche est très sensible au extrait éthanolique des fruits et moyennement sensible aux extraits méthanoliques des trois organes.

Pour la souche *Bacillus cereus*, aucune zone d'inhibition de croissance n'a été constatée autour des disques, à l'exception de la concentration mère de l'extrait méthanolique des feuilles. Ces constatations dénotent la résistance de cette souche bactérienne vis-à-vis des extraits testés.

Les extraits aqueux et organiques des feuilles, fruits et fleurs de *C. monogyna* se sont révélés inefficaces sur *Aspergillus brasiliensis*, dans la mesure où aucune activité inhibitrice n'a été décelée. Ceci pourrait

être expliqué par l'absence dans ces extraits de substances à activité antifongique sur cette souche. Cependant, nos extraits exercent une activité antibactérienne et antifongique importante sur les souches étudiées, dans la mesure où ils ne sont pas des produits purs comme les produits antibiotiques ou antimycotiques standards commercialisés mais des extraits bruts c'est-à-dire un mélange des substances bioactives.

Comparativement aux antibiotiques et aux antimycotiques standards, l'activité inhibitrice des extraits aqueux et organiques des feuilles, fruits et fleurs de *C. monogyna* reste très faible, à l'exception des extraits méthanoliques des feuilles, des fruits et des fleurs et l'extrait éthanolique des fruits qui ont inhibé la croissance d'*Escherichia coli* et l'extrait méthanolique des feuilles qui inhibe la croissance de *Bacillus cereus* à certaines concentrations. Ces deux souches résistent à l'antibiotique standard (Ceftazidime CAZ (30)). Ces observations reflètent l'importance de l'activité antibactérienne de ces extraits.

Les résultats auxquels nous avons aboutis confirment aussi l'importance de la méthode de dilution des extraits qui réside dans la séparation des molécules bioactives qui peuvent être masquées par d'autres molécules inactives ; ceci s'est traduit par la formation de zones d'inhibition très importantes, induites par les différentes dilutions de la solution mère. Cependant, il serait intéressant d'établir des tests antibactériens et antifongiques avec la méthode de fractionnement des extraits afin d'avoir des résultats plus efficace et plus objectifs.

La comparaison des extraits selon leurs activités antioxydantes a fait ressortir que les extraits méthanoliques sont les plus efficaces pour les trois organes (le méthanol s'est révélé le solvant le plus efficace pour extraire les substances bioactives qui sont capables de capter les radicaux libres présents dans les feuilles, fruits et fleurs de *C. monogyna*). Tandis que les extraits éthanoliques présentent une activité antioxydante moyenne. Les extraits suscités manifestent une activité antiradicalaire très importante. Alors que les extraits aqueux des trois organes manifestent une faible activité antioxydante et une faible activité antiradicalaire. C'est à dire que les molécules responsables de l'activité antioxydante des feuilles, fleurs et fruits sont mieux représentées dans les solvants organiques (l'éthanol et le méthanol) et ce contrairement dans l'eau.

En comparaison avec le BHT, tous nos extraits s'avèrent moins actifs, dans la mesure où ils ne sont pas des produits purs mais des extraits bruts.

La différence entre l'activité antioxydante des extraits est probablement liée à leurs polarités et leur contenu en composés phénoliques qui sont mieux représentées dans les feuilles et les fleurs par rapport aux fruits.

Les résultats obtenus montrent aussi que les fruits de *C. monogyna* sont riches en cellulose. Ce n'est pas le cas pour les feuilles qui sont riches en hémicelluloses. Concernant les pectines les feuilles et les fruits présentent des teneurs différentes en pectines hautement méthylées, et des teneurs comparables en pectines faiblement méthylées. Globalement il ressort que les feuilles et les fruits de *C. monogyna* renferment des quantités importantes en polysaccharides pariétaux.

La détermination des monosaccharides contenant dans les polysaccharides pariétaux (cellulose, hémicellulose, pectines hautement méthylées et pectines faiblement méthylées) montre une diversité osidique dans les hydrolysats.

La cellulose des feuilles et des fruits de *C. monogyna* est constituée de glucose et de xylose. Ces résultats montrent l'impureté de la cellulose, puisque les résidus de xylose caractéristiques des hémicelluloses restent liés à la cellulose. Alors que les hémicellulose des feuilles sont de type xylanes (hétéroxylanes) et de type xyloglucanes dans les fruits.

Pour les pectines hautement méthylées et les pectines faiblement méthylées, nous notons la présence de xylose et de galactose ou bien de glucose dans les feuilles et la présence d'arabinose dans les fruits. C'est-à-dire des chaînes latérales de types galactanes dans les feuilles et arabinanes dans les fruits sont greffées sur le squelette linéaire qui est principalement constitué d'un enchaînement d'unités d'acide α -D-galacturonique.

La chromatographie sur couche mince nous a permis de séparer un nombre limité des sucres c'est-à-dire il y a la possibilité de la présence d'autres résidus osidiques impliqués dans les spots. Donc, il est très important d'utiliser des techniques plus performantes comme l'HPLC pour affiner la composition oligosaccharidique des polysaccharides pariétaux des feuilles et des fruits de *C. monogyna*.

Ces macromolécules et les sucres issus de leurs dépolymérisations ont un intérêt important dans divers domaines industriels, pharmaceutique due à leurs propriétés immunomodulatrices et immunostimulantes, anti-tumorales, anti-virales, dermocosmétologique, etc. Ces résultats reflètent que l'espèce étudiée est une véritable source en substances bioactives pouvant être valorisé dans divers domaines (pharmaceutique, diététique, agroalimentaire, et cosmétique etc.).

L'étude de la germination des graines de *Crataegus monogyna* Jacq. à des températures continues de 20 et 25°C, à l'obscurité, a montré que ces dernières sont atteintes d'une dormance complexe. Celle-ci a pu être levée par les différents prétraitements combinés que nous y avons appliqués. Les meilleurs taux de germination sont obtenus à 25 °C.

En effet, les meilleures capacités de germination, coefficients de vélocité et les temps de latence les plus courts sont obtenus avec les graines scarifiées par l'acide sulfurique (H_2SO_4 à 98%) pendant 30 mn et 60 mn et suivi par une stratification chaude-froide 25°C / 4°C et 30°C /4°C.

Alors que, une scarification par l'acide sulfurique (H_2SO_4 à 98%) pendant 90 mn, suivie par une stratification chaude-froide provoque la fermentation des graines et entraînant une diminution de la capacité de germination et du coefficient de vélocité pour certains traitements.

Les graines non scarifiées par l'acide sulfurique sont caractérisées par de faibles capacités de germination, coefficients de vélocité et avec des temps de latence trop longs. Nous constatons que le pourcentage de germination augmente avec la durée de scarification (30 mn), ce qui dénote que l'utilisation de la scarification chimique peut accélérer et améliorer la germination de *C. monogyna*.

D'après nos résultats, nous pouvons conclure que les graines de *C. monogyna* exigent à la fois une stratification (chaude-froide) et une scarification chimique pour pouvoir germer.

Ces données restent toutefois préliminaires car il serait souhaitable de les approfondir par exemple en essayant d'autres protocoles, de transplanter les graines germées et suivre la croissance des plantules ou bien tester la germination directement *in situ* pour bien comprendre la complexité de la dormance chez cette espèce.

Références bibliographiques

Références Bibliographiques

A

- Aldington, S., et Fry, S., 1993. "Oligosaccharins". *Adv. Bot. Res.*, 19: 1-101.
- Ali, Sh. M. S., Yaghmour, R.M.R., Faïdi, Y.R., Salem, K., Al Nuri, M.A., 1998."Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area".
Journal of Ethnopharmacology, 60: 265-271.
- Ali, N.A.A., Julish, W.D., Kusunick, C., Lindesquist, U., 2001. "Screening of yamani medicinal plant for antibacterial and cytotoxic activities". *J. Enthnopharmacology*, 74: 173-179.
- Alibert, G., Ranjeva, R., Boudet, M .A ., 1977. "Organisation subcellulaire des voies de synthèse des composés phénoliques". *Physiol. Veg.*, 15: 279-301.
- Amic, D., Davidovic, A.D., Beslo, D., Trinajstic, N., 2003. "Structure radical scavenging activity relationships of flavonoïdes". *Croatica Chemical Acta*, 76: 55-61.
- Anderson, C.M., Hallberg, A., Hogberg, T., 1996. "Advances in the developpement of pharmaceutical antioxidant drug". *Food Chem*, 28: 65-180.
- Antsyshkina, A.M., Barabanov, E.I., Samylina, I.A., Kaverina, N.V., 1990."On the pharmacological activity of hawthorn preparations". *Farmatsiya*, 39: 63-65.
- Attala, R.H. and Hackney, J.M., Uhlin, I., Thompson, N.S., 1993. "Hemicelluloses as structure regulators in the aggregation of native cellulose". *Int. J. Biol. Macromol.* 15: 109- 112.
- Atalla, R. H., Brady, J. W., Matthews, J. F., Ding, S.Y., Himmel, M. E., 2008. "Structures of plant cell wall cellulose. In "Biomass Recalcitrance: deconstructing the plant cell wall for bioenergy", Himmel, M. E." *J. Blackwell Publishing*. Oxford. UK.
- Atwal, R.2003. "In vitro antimicrobial Activity Assessment of Zymox Otic Solution Against a Broad Range of microbial Organisms". *Int. J. Res. Veterinary Medicine*. Rancho Dominguez California.
- Audigié C., Figarella J., Zonszain F., "Manipulation d'analyse biochimique". Doin (Éd). 1978. Paris. 247p.
- Aurélie, M., "Étude de la composition minérale et organique des liqueurs de thé et de leurs caractéristiques organoleptiques : Influence des paramètres physico-chimiques de l'eau". Mémoire de Doctorat. Université de Toulouse. (2007). 213p.
- Aymonin, G.G., "Guide des arbres et des arbustes". Sélection du reader's Digest (Éd). 1993. Paris. 351p.

B

- Backous, N., Delporte, C., Andrad, C., 1997. "Phytochemical and biological study of *Radalia lomatia hirsuta* (Proteaceae)". *J. Enthnopharmacology*, 57: 81-83.

- Bahorun, T., Troitin, F., Pommery, J., Vasseur, J., Pinkas, M., 1994. "Antioxidant activities of *Crataegus monogyna* extracts". *Planta Med.*, 60: 323-328.
- Bahorun. T., Gressier, B., Troitin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., Vasseur, J., Cazin, M., Cazin, J.C., Pinkas, M., 1996. "Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations". *Arzneimittel Forschung*, 46: 1086-1089.
- Bahorun, T., "Substances naturelles actives: La flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle". Food and Agricultural Research Council. AMAS (Éd). 1997. Mauritius. 84p.
- Bahri, S., R., Ammar, S., Grec, S., Harzallah-Skhiri, F., 2009b. "Chemical characterisation of *Crataegus azarolus* L. fruit from 14 genotypes found in Tunisia". *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 84: 23-28.
- Balansard, G., M., Pellegrini, C., Cavalli, D.P., Timon, M., Gasquet et G., Boudon, 1983. "Analyse critique des protocoles pharmacologiques utilisés pour la recherche d'extraits et de substances pures d'origine végétale a propriétés antibactérienne ou antiparasitaire". *Ann. Pharm.*, 41: 1-77.
- Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S. 2006. "Phenolic compounds in plants and agri industrial by- products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. Analytical, Nutritional and Clinical Methods". *Food Chemistry*, 99: 191-203.
- Barbara, B.B., 2002. "Breaking of seed dormancy, germination and seedling emergence of the common hawthorn (*Crataegus monogyna* Jacq.) ". *Dendrobiology*. 47: 61–70.
- Bartošíková, L., Necas, J., Suchy, V., Kubinova, R., 2003. "Antioxydative effects of morine in ischemia, reperfusion of kidney in the laboratory" . *J. Drug and Chemical Toxicology*, 72: 87-94.
- Belhamri, R., "Extraction des macromolécules pariétales des eaux de presse de betteraves sucrières - Etude de leur composition, de leurs propriétés physico-chimiques et de leur effet sur le process sucrier". Thèse de doctorat. Université de Reims Champagne. Ardenne. (2005). 245p.
- Bernays, E. A., Cooper-Driver, G., Bilgener, M., 1989. "Herbivores and plant tannins". *Advances in ecological research*, 19: 263-302.
- Besle, J.M., Lamaison, J.L., Pradel, P., Fraisse, D., Viala, D., Martin, B., 2004. "Les flavonoïdes, des fourrages au lait". *Renc. Rech . Ruminants*, 11: 67-70.
- Beta, T., Nam, S., Pexter, J.E., Sapirstein, H.D., 2005. "Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and roller milled fractions". *J. Cereal Chem.*, 82 (4): 390-393.
- Beti, P., et Anna, D.N., 2001. "Seed propagation of Mediterranean trees and shrubs". (APAT: Agency for the protection of the environment and for technical services)". Via Vitaliano Brancati, 48 – 00144 Roma – Italy, 25.
- Booth, N.L., Dejan, N., Richard, B., Stoci, E., 2004. "New lanthanide complexes of 4 methyl 7 hydroxy coumarin and their pharmacological activity". *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 50: 120-123.

- Boual, Z., "Contribution à l'étude des polysaccharides de quelques plantes spontanées à caractère médicinal de la région de Ghardaïa (Sahara septentrional Est Algérien)". Mémoire de magister. Université kasdi merbah. Ouargla. (2009). 24-38 p.
- Boual, Z, A., Kemassi, A.H., Oudjana, P., Michaud et O.E.H.M., Didi, 2013. "Caractérisation partielle des polysaccharides hydrosolubles des feuilles de *malva parviflora* L., (malvaceae): activité prébiotique". *Lebanese Science Journal*, 14: 41-51.
- Bourgaud, F., Gravot, A., Milesi, S., Gontier, E. 2001. "Production of plant secondary metabolites: a historical perspective". *Plant Science*, 161: 839-851.
- Bouزيد, W., "Etude de l'Activité Biologique des Extraits du Fruit de *Crataegus monogyna* Jacq". Mémoire de Magister en Biologie. Université El Hadj Lakhdar. Batna. (2009). 88p.
- Bravo, L., 1998. "Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance". *Nutrition Reviews*, 56 (11): 317-333.
- Brett, C., Waldron, K., "Physiology and Biochemistry of plant cell walls". Chapman & Hall (ÉD). 1996. London.
- Brinkman, K.A., 1974. "*Crataegus* L., hawthorn". In: Schopmeyer, C.S., tech. coord. "Seeds of woody plants in the United States". Agric. Handbk. 450. Washington, DC: USDA Forest Service: 356-360.
- Brouillard, R., Figueiredo, P., Elhabiri, M., Dangles, O., "Molecular interactions of phenolic compounds in relation to the colour of fruits and vegetables". In: Phytochemistry of fruit and vegetables Proceedings of the Phytochemical Society of Europe. UK: Clarendon Press (ÉD). 1997. Oxford. 30-49p
- Brown, S. A., 1964. "Lignin and tannin biosynthesis". *J. Biochemistry of phenolic compounds*, (ÉD) par Harborne, J. B., London and New York : *Academic Press*, 361-398.
- Bruneton, J., " Pharmacognosie et phytochimie. Plantes médicinales". Lavoisier (ÉD). 1993. Paris. 278-279 p.
- Bruneton, J., "Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales". 2^{ème} édition. Tec et Doc (ÉD). 1993. Paris. 914p.
- Bruneton, J., "Pharmacology, phytochemistry, medicinal plants". Lavoisier (ÉD). 1995. Paris.
- Bruneton, J., "Pharmacognosie : Phytochimie, plantes médicinales". Tec et Doc (ÉD). 1999. Paris. 3-119p.
- Bruneton, J., "Pharmacognosie. Phytochimie. Plantes médicinales". 4^{ème} édition. Lavoisier (ÉD). 2009. 87-91p.
- Burke, H.R., 1976. "Bionomics of the anthonomine weevils". *J. Entomology* (21): 283-303.
- Burnichon, N., Texier, A., " L'antibiogramme : la détermination des sensibilités aux antibiotiques". Mémoire D.E.S en Bactériologie. (2003).

- Cavin, A.L., 2007. "Contribution à la connaissance taxonomique et chimique de fruits africains du genre *Detarium* (Fabaceae-Caesalpinioideae) : *D. microcarpum* Guill. Et Perr. Et des formes comestibles et toxiques de *D. seneegalense* J.F.Gmel". Thèse de doctorat. Genève, 277p.
- Chanda, S.K., Hirst, E.L., Jones, J.K.N., et Percivale, E.G.V., 1950. "The construction of xylan from esparto grass (*Stipa tenacissima* L.)". *J. Chem. Soc.*, 1289-1297.
- Chang, Q., Zuo, Z., Harrisson, F., chow, M.S., 2002. "Hawthorn". *J. Clin. Pharmacol.*, 42: 604-612.
- Chanliaud, E., "Extraction, caractérisation et propriétés fonctionnelles des hétéroxylanes de son de maïs". Thèse de Doctorat de l'Université de Paris VII, Paris IX, et E.N.S.I.A. (1995). 129 p.
- Charlotte, M., "Extraction, caractérisation structurale et valorisation d'une famille d'hémicelluloses du bois (obtention de matériaux plastiques par modification des xylanes)". Thèse de Doctorat. Université de Limoges. (2005). 284p.
- Chavez, M.R.A., Caractérisation de mutants et transformants d'a -L-arabinofuranosidase chez *Arabidopsis thaliana*. Thèse de doctorat, l'Université Toulouse III - Paul Sabatier. (2008).
- Chebil, L., "Acylation des flavonoïdes par les lipases de *Candida antarctica* et de *Pseudomonas cepacia*: études cinétiques, structural et conformationnelle". Thèse de doctorat de l'Institut National Polytechnique de Lorraine. Lorraine. (2006).
- Chen, J.D., Wu, Y.Z., Tao, Z.L., Chen, Z.M., Liu, X.P., 1995. "Hawthorn (shan zha) drink and its lowering effect on blood lipid levels in humans and rats". *World Review of Nutrition & Dietetics*, 77: 147-154.
- Chevallier A., "Encyclopedia of Medicinal plants". Dorling Kindersley pty Limited (Éd). 1996. St Leonards, NSW.
- Chopra, R.N., Nayar, S.L., et Chopra, I.C., "Glossary of Indian medicinal plants (Including the supplement). *Council of Scientific and Industrial Research*. 1986. New Delhi.
- Ciulei I., "Methodology for analysis of vegetable drugs". Parnaris (Éd). 1982. Bucharest. 67p.
- Côme, D., "Les obstacles à la germination". Masson et Cie (Éd).1970. 162 p.
- Complex Carbohydrate Research Center, The University of Georgia, "Plant Cell Walls, Hemicelluloses", 2007 dans <http://www.ccruc.uga.edu/~mao/xyloglc/Xtext.htm>.
- Cosio M.S., S., Buratti, S., Mannino et Benedetti, S., 2006. "Use of an electrochemical method to evaluate the antioxidant activity of herbs extracts from the Labiatea family". *Food Chemistry*, 97: 725-731.
- Cottiglia, F., Loy, G.,Garan, D., Floris, C., Casu, M., Pompei, R., Bonsignore, L., 2001. "Antimicrobial evaluation of coumarins and flavonoïds from the stems of *Daphne gnidium* L.". *Phytomedicine*, 8(4): 302-305.
- Couplan, F., 1998. "Guide nutritionnel des plantes sauvages et cultivées". Nestlé (Éd). Paris.

255p.

Cui, T., Li, J., Kayahara, H., Ma, L., Wu, L. et Nakamura, K., 2006a. "Quantification of the polyphenols and triterpene acids in chinese hawthorn fruit by high-performance liquid chromatography". *J. of Agricultural and Food Chemistry*, 54(13): 4574-4581.

Cui, T., Nakamura, K., Tian, S., Kayahara, H. et Tian, Y., 2006b. "Polyphenolic content and physiological activities of Chinese hawthorn extracts". *Bioscience*, 70(12): 2948-2956.

Cunha, P. L. R., De Paula, R.C. M., et Feitosa, J. P. A., 2007. "Purification of guar gum for biological applications". *International journal of biological macromolecules*, 41: 324-331.

D

Dai, Y., Gao, C.M., Tian, Q.L., Lin, Y., 1987. "Effect of extracts of some medicinal plants on superoxide dismutase activity in mice". *Planta Med.*, 53: 309-310.

Dauguet, J., Bert, M., Dolley, J., Bekaert, A. et Lewin, G., 1993. "8-Methoxykaempferol 3-neohesperidoside and other flavonoids from bee pollen of *Crataegus monogyna*". *Phytochemistry*, 33(6): 1503-1505.

Davies, J.R., "Hawthorn". Element Books Limited (Éd). 2000. Boston. MA.

Davin, L. B., Patten, A. M., Jourdes, M., Lewis, N. G., 2008. "Lignins: A twenty-first century challenge". In: "Biomass Recalcitrance", Himmel, M. E., J. Blackwell Publishing. Oxford. UK.

Deina, M., Rosa, A., Casu, V., Cottiglia, F., Bonsignore, L., 2003. "Natural product: their chemistry and biological significance". *Journal of the American Oil Chemistry Society*, 80: 65-70.

Delattre, C., "Stratégie d'obtention d'oligosaccharides anioniques par dégradation enzymatique de glucuronanes". Thèse de doctorat de l'université de Picardie Jules Verne, Valois Santerre, (2005). 5-10p.

Deno, N.C., "Seed germination theory and practice". 2 ème édition. State College PA. (Éd). 1993. 242 p.

Diallo, A.M., "Etude des plantes médicinales de niafunke (region Tombouctou) Phytochimie et pharmacologie de *Maerua crassifolia* Forsk. (Capparidacée)". Thèse de Doctorat. Université de Bamako. (2005). 125p.

Dirr, M.A., Heuser, Jr.C.W., "The reference manual of woody plant propagation: from seed to tissue culture". Athens, GA: Varsity Press (ÉD). 1987. 239 p.

Djahra, A.B., "Etude phytochimique et activité antimicrobienne, antioxydante, antihépatotoxique du Marrube blanc ou *Marrubium vulgare* L". Thèse de Doctorat, Université d'Annaba. (2014).

Dubois, G., E., Grosby, G.A., Saffron, P., 1977. "Non nutritive Sweeteners: Taste structure Relationships with for some new simple dihydrochalcones". *J. Science*, 195: 397-399.

E

- Edin, H., et Nimmo, M., "Contrôle des denrées alimentaires". Laboratoire CANTONAL (Éd). 1999. Paris. 66p.
- Elias, R, Diaz Lanza, A.M., Vidal-Ollivier, E., Maillard, C., Crespín, F., Balansard, G., Boudon, G., 1991. "Influence du procédé de séchage et du degré alcoolique sur l'extraction de l'Hederasaponine C et de l'Alpha-Hederine à partir des feuilles de *Hedera helix* L. *Journal de pharmacie de Belgique*, 46 (3): 177-181.
- Ericsson, H.M.A., et Sherris, J.C., 1971. "Antibiotic sensitivity testing, Report of an International Collaborative Study". *Acta path Microbiol Scand*, B Suppl., 217, 90.
- Éthel, D., F. D., Jean et M., François, 1997. "Aspects de l'ornithochorie et de la germination des semences des arbustes en fruticée calcicole de Calesienne". *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 1(4): 264-270.
- Eva, R., "Extraction et étude des propriétés physiques et mécaniques des fibres d'Alfa (*Esparto grass*) en vue d'applications textiles". Université Haute-Alsace. (2010). 84p.

F

- Fang, J. M., Sun, R. C., Fowler, P., Tomkinson, J., Hill, C. A. S., 1999. "Esterification of wheat straw hemicelluloses in the N, N-dimethylformamide/ lithium chloride homogeneous system". *J. Applied Polymer Science*, 74: 2301–2311.
- Farhat, R., 2007. "Étude de la fraction lipidique et la composition en acides gras des huiles des fruits de : *Celtis australis* L., *Crataegus azarolus* L., *Crataegus monogyna* Jacq., *Elaeagnus angustifolia* L., et *Ziziphus lotus* L.". Mémoire de magister (Agronomie), Université El Hadj Lakhdar. Batna. pp.109.
- Faucher, J.L., Avril, J.L., "Bactériologie générale et médicale". Tome I. Ellipses (Éd). 2002. Paris, 214p.
- Fenger, D., 1994. "Fascinated by a chain molecule". *Makromolecular Chemie, Macromolecular Symposium*, 83: 311-323.
- Fiorucci, S., "Activités biologiques de composés de la famille de flavonoïdes : approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire". Thèse de doctorat. Nice. (2006). 211p.
- Fleuriet, A., Macheix, J.J., 1977. "Effet des blessures sur les composés phénoliques des fruits de tomates " cerises " (*Lycopersicon esculentum* var *cerasiforme*)". *Phys. Veg.*, 15: 239-250.
- Foley, W. J., Iason, G. R., et McArthur, C., 1999. "Role of plant secondary metabolites in the nutritional ecology of mammalian herbivores: how far have we come in 25 years". *Nutritional Ecology of Herbivores*, (Éd) par Jung, H. J. G., Fahey, G.S., Savoy. Illinois. USA: *American Society of Animal Science*, 130-209.

- Fong H.H.S., et J.L., Bouman, 2002. "Hawthorn". *J. Cardiovascular Nursing*, 16 (4): 1-8.
- Ford, R.A., Hawkins, D.R., Mayo, B.C., Api, A.M., 2001. "The *in vitro* dermal absorption and metabolism of coumarin by rats and by human volunteers under simulated conditions of use in fragrances". *Food and Chemical Toxicology*, 39: 153-162.
- Fry, S. C., 1989. "The structure and functions of xyloglucan". *J. Exp. Bot.*, 40: 1-11.

G

- Gabrielli, I., P., Gatenholm, W.G., Glasser, R.K., Jain et L., Kenne, 2000. "Separation, characterization and hydrogel - formation of hemicellulose from aspen wood". *Carbohydrate Polymers*, 43: 367-374.
- Gandini, A., Belgacem, M.N., 1996. "Polymeric Materials Encyclopedia". J. Salamone. CRC. Press. Inc. Boca Rota, 11: 8518.
- Gao, P., Li, L., Peng, Y., Li, F., Niu, C., Huang, X., Ming, M., et Song, S., 2010. "Monoterpene and lignan glycosides in the leaves of *Crataegus pinnatifida*". *Biochemical Systematics and Ecology*, 38(5): 988-992.
- Garcia-Castello, E., Cassano, A., Criscuoli, A., Conidi, C., Drioli, E., 2010. "Recovery and concentration of polyphenols from olive mill wastewaters by integrated membrane system". *Water Res*, 44(13): 92-3883.
- Gatenholm, P., et Tenkanen, M., "Hemicelluloses: Science and Technology". Washington DC (Éd) (ACS Symposium #864). 2003.
- Ghestem, A., Seguin, E., Paris, M., Orecchioni, A.M., "Le préparateur en pharmacie. Dossier 2. Botanique-Pharmacognosie-Phytothérapie-homeopathie". Tec et Doc (Éd). 2001. 272p.
- Girre, L., "Les plantes médicinales". Ouest-France (Éd). 2000. Rennes. 30p.
- Grieve, M., "A Modern Herbal: The Medicinal, Culinary, Cosmetic and Economic Properties, Cultivation and Folklore of Herbs, Grasses, Fungi, Shrubs and Trees with All their Modern Scientific Uses". Jonathan Cape Limited (Éd). 1931. London.
- Grundhöfer, P., Gross, G. G., 2001. "Immunocytochemical studies on the origin and deposition sites of hydrolyzable tannins". *Plant Science*, 160: 987-995.
- Gu. F.F., Ren, F. L., et Wu, M. L., 2006. "Adsorption of ursolic acid with macro-porous resins". *Guangzhou Chemistry* (in Chinese), 31(2): 23-27.
- Guérien, F.V., et Carrot G., 1999. "L'antibiogramme : principes, méthodologie, intérêt et limites". Journées nationales GTV- INRA. 5-12p.
- Guignard J.L., "Biochimie végétale". Masson (Éd). 1996. Paris. 95-152p.
- Guignard, J.L., "Botanique". 10^{ème} (Éd). 1996. Paris. 144-145p.
- Guignard, J.L., "Abrégé de botanique". Masson (Éd). 1998. Paris. 212p.

Guignard, J.L., "Biochimie végétale". 2ème édition, préface de pierre Potier. Dunod (Éd). 2000. Paris. 274p.

H

Hadi, M., "La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres ; études et applications thérapeutiques". Thèse de doctorat. Université Louis pasteur Domaine : pharmacochimie. (2004). 155p.

Hager, T., Howard, L., 2009. "Berryfruit phytochemicals". In: "Berry Fruit, Value-Added Products for Health Promotion". 1st edition. Zhao, Y., CRC Press: Boca (ÉD).

Hale, A.L., "Screening Potato genotypes for antioxidant Activity, Identification of the Responsible Compounds, and Differentiating Russet Norkotah Strains Using Aflp and Microsatellite Marker Analysis". Office of Graduate Studies of Texas A & M University. Genetics. 2003. 260p.

Hamdaoui, M., Mehdadi Z., et Chalane, F., 2015. "Evaluation quantitative de quelques polysaccharides pariétaux et polyphénols chez l'aubépine monogyne (*Crataegus monogyna* Jacq.) du Mont de Tessala (Algérie Occidentale)". *European Journal of Scientific Research*, 128: 233-244.

Handford, M.G., Baldwin, T.C., Goubet, F., Prime, T.A., Miles, J., Xiaolan, Y., et Dupree, P., 2003. "Localisation and characterisation of cell wall mannan polysaccharides in *Arabidopsis thaliana*". *Planta*, 218: 27-36.

Harborne, J.B., "Methods in plant biochemistry" In: "Plant phenolics". Academic press (Éd). 1989. London. UK.

Harche, M., M.T. Tollier, B., Monties et A.M., Catesson, 1991. "Caractérisation comparée des constituants (polyosides, lignines et acides phénoliques) des parois cellulaires de trois Graminées subdésertiques pérennes: *Stipa tenacissima* L., *Lygeum spartum* L. et *Aristida pungens* L." *Cellulose. Chem. Technol*, 25: 11-17.

Harikrichna, D., Appa, Rao, A.V.N. et Prabhakar, M.C., 2004. "Pharmacological investigation of prunin-6''-O-p- coumarate : A flavonoid glycoside". *Indian J. Pharmacol*, 36 (4): 244-250.

Hartmann, H.T., Kester, D.E., Davies, Jr. F.T., Geneve, R.L., "Plant propagation: principles and practices". 6th edition. Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall (ÉD). 1997. 770p.

Haslam, E., 1966. "Chemistry of Vegetable Tannins". *Academic Press*. London and New York: 475-523.

Haslam, S.C., Ketley, J.M., Mitchell, T.J., Stephen, J., Burdon, D.W., Candy, D.C., 1986. "Growth of *Clostridium difficile* and production of toxins A and B in complex and defined media". *J. Med. Microbiol.*, 21(4): 7-293.

Hatano, T., Kusuda, M., Inada, K., Ogawa, T.O., Shiota, S., Tsuchiya, T., Yoshida, T., 2005.

"Health": review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 38 (6): 421- 464.

Herrera, C.M., 1984. "Seed dispersal and fitness determinants" In: Wild rose: "combined effects of

Hawthorn , birds , mice and browsing ungulates". Spain, 63: 386-393.

Hobbs, C., Foster, S., 1990. "Hawthorn: a literature review". *Herbal Gram*, 22: 19-33.

Hoffmann L., Etude du métabolisme des phénylpropanoïdes ; analyse de l'interaction de la caféoyl-coenzym A 3-O-méthyltransférase (CCoAOMT) avec son substrat et caractérisation fonctionnelle d'une nouvelle acyltransférase, l'HydroxyCinnamoyl-COA : shikimate/quinate hydroxycinnamoyl Transférase (HCT). Thèse Doc. Université Strasbourg. (2003). 166p.

Hsu, H. Y., Yang, J. J., et Lin, C. C., 1997. " Effects of oleanolic acid and ursolic acid on inhibiting tumor growth and enhancing the recovery of hematopoietic system postirradiation in mice ". *Cancer Letters*, 111(1): 7-13.

Huang, M.T., Ferraw T., 1991. "Phenolic coumpoud in food and cancer prevention. Phenolic inischemia, reperfusion of kidney in the laboratory". *J. Drug and Chemical Toxicology*, 72: 87-94.

Hu, S.G., Li, L., He, X.W., 2005. "Solid-phase extraction of esculetin from the ash bark of chineese traditional medicine by using molecularly imprinted polymers". *J. Chromatography A.*, 1062: 31-37.

I

Ignat, I., Volf, I., Popa, I.V., 2011. "A critical review of methods for characterization of polyphenolic compounds in fruits and vegetables". *Food chemistry*, 126: 1821-1835.

I.S.T.A (International Seed Testing Association), 1993. "Rules for testing seeds: rules 1993". *Seed Science and Technology*. Suppl., 21: 1-259.

Iwamoto, M., Sato, T., Ishizaki, T., 1981. "The clinical effect of *Crataegutt* in heart disease of ischemic or hypertensive origin: a multicenter double-blind study". *Planta Med.*, 42: 1-16.

J

Jean, L.W. 2011. "Les hémicelluloses". *Document Val Biom* (valorisation de la biomasse asbl) – *Gembloux Agro-Bio Tech*. DGO3/4. Université de Liège. 3-16p.

Jennifer, E.E., B., Paula, T., Nadia, A., Timothy, T., Dickinson, R.S., Paul, 2012. "A review of the chemistry of the genus *Crataegus*". *Phytochemistry*, 79: 5-26.

Jérémie, B., "Relation structure / réactivité en conversion hydrothermale des macromolécules de lignocellulose". Thèse de Doctorat. Université Bordeaux 1. Bordeaux. (2010). 313p.

Joffin, J.N., et G., Leyral, "Microbiologie techniques. 1 Dictionnaire des techniques. Collection Biological Techniques". 3^{ème} édition. CNDP (ÉD) 2001. 312p.

John, St. S., 1982. "Acid treatment of seeds of *Crataegus monogyna* and other *Crataegus* species". *Combined Proceedings of the International Plant Propagators Society*, 32: 203-205.

Jokić, S., Velić, D., Bilić, M., Bucić-kojić, A., Planinić, M., Tomas, S., 2010 "Modelling of the process of solid-liquid extraction of total polyphenols from soybeans". *Czech J Food Sci.*, 28: 206-212.

K

- Kamerling, G.L., G.L., Boons, Y.C., Lee, A., Suzuki, N., Taniguchi et Voragen, A., "Comprehensive glycoscience". Elsevier (Éd). Vol (2). 2007. Paris.654-681p.
- Kao, H.Y., Hiipakko, R.A., Liao, S., 2002. "Modulation of endocrine system and food intake by green tea epigallocatechin gallate". *J. Endocrinology*, 141: 3980-3987.
- Kar, K.N., Sokme, M., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M., Sokmen, A., 2007. "Investigation of the antioxidant properties of *Ferula orientalis* L.using a suitable extraction procedure". *Food Chemistry*, 100: 584-589.
- Kasaai, M.R., 2002, "Comparison of various solvents for determination of intrinsic viscosity and viscometric constants for cellulose". *J. Appl. Polym. Sci.* 86: 2189–2193.
- Khan, I., Kulkari, M.V., Gopal, M., Shahabuddin, 2005. "Synthesis and biological evaluation of novel angularly fused polycyclic coumarins. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 15: 3584-3587.
- Kim, S.H., Kang, K.W., Kim, K.W., Kim, N.D., 2000: "Procyanidins in *Crataegus* extract evoke endothelium-dependent vasorelaxation in rat aorta". *Life Sci.*, 67: 121-131.
- Klervi, L.L., 2005. "Connaissance chimio-taxonomique du genre *Turbinaria* et étude des composés de défense de différents espèces de Sargassacées des Iles Salmon (Pacific sud) ". 210p.
- Knežević, S.V., Blazekwic, B., Stefan, M.B., Babac, M. "Plant polyphenols as antioxidants influencing the human health". In "Phytochemicals as nutraceuticals-global approaches to their role in nutrition and health". *Venketeshwer Rao* (Éd). 2012. 155 -180p.

L

- Laure, F., "Etude de la composition chimique et de la biodiversité du *Calophyllum urophyllum* de Polynésie française". Thèse de doctorat. Nice. (2005). 373p.
- Leung, A.Y., Foster, S. "Encyclopedia of Common Natural Ingredients: Used in Food, Drugs, and Cosmetics". 2^{ème} (ÉD). 1996. John Wiley, New York.
- Li, H.R., Vasil'ev, A.V., Orekhov, V.V., Tutel'yan, V.A., 1988. "Antiatherosclerotic properties of medicinal plants". *Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal*, 22: 1236-1241.
- Li, H.B., Cheng, K.W., Wong, C.C., Fan, K.W., Chen, F., Tian, Y., 2007. "Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fraction of selected microalgae". *J. Food Chimestry*, 102: 771-776.
- Lin, Q.S., Chen, J.D., 2000. "Molecular mechanism of hawthorn and its flavonoids in prevention on lipid metabolism disorder in rats". *Yingyang Xuebao*, 22: 131-136.
- Liu, J., 1995. " Pharmacology of oleanolic acid and ursolic acid ". *J. of Ethnopharmacology*, 49(2): 57-68.

- Liu, P., Yang, B., et Kallio, H., 2010b. "Characterization of phenolic compounds in Chinese hawthorn (*Crataegus pinnatifida* Bge. var. *major*) fruit by high performance liquid chromatography–electrospray ionization mass spectrometry". *Food Chemistry*, 121(4): 1188-1197.
- Liu, P., Yang, B. et Kallio, H., 2011a. "Phenolic Compounds in hawthorn (*Crataegus grayana*) fruits and leaves and changes during fruit ripening". *J. of Agricultural and Food Chemistry*, 59 (20): 11141–11149.
- Liu, P., Kallio, H., Lü, D., Zhou, C. et Yang, B., 2011b. "Quantitative analysis of phenolic compounds in Chinese hawthorn (*Crataegus* spp.) fruits by high performance liquid chromatography–electrospray ionisation mass spectrometry". *Food Chemistry*, 127(3): 1370-1377.
- Lugasi, A., Hovari, J., Sagi, K.V., Biro, L., 2003. "The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases". *J. Acta Biologica Szegediensis*, 47 (1- 4): 119-125.
- Luthria, D.L., Mukahapadhyay, S., 2006. "Influence of sample preparation on Assay of phenolic acids from eggplant". *J. Agric .Food. Chem.*, 54: 41- 47.

M

- Ma, M., et Gu, Z., 2003. "Chemical composition of water-soluble parts of *Crataegus cuneata* ". *China Pharmaceuticals*, 12(12): 35-35.
- Ma, G., Jiang, X. H., Chen, Z., Ren, J., Li, C. R. et Liu, T. M., 2007. "Simultaneous determination of vitexin-4''-O-glucoside and vitexin-2''-O-rhamnoside from Hawthorn leaves flavonoids in rat plasma by HPLC method and its application to pharmacokinetic studies". *J. of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 44(1): 243-249.
- Maataoui B.S., Hunyeur A., Hilalis., 2006. "Activités antiradicalaires d'extraits de jus de fruits du Figuier de Barbarie (*Opuntia Ficus Indica*) ". *Lebanese Science Journal*, 7(1): 3-8.
- Macheix, J.J., Fleuriet, A., Chritian, J.A. "Composés phénoliques dans la plante- structure, biosynthèse, répartition et rôles : In « les polyphénols en agroalimentaire ». Lavoisier (Éd). 2006. 1-27p.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Remesy, C. et Jimenez, L. 2004. "Polyphenols: food sources and bioavailability". *Am. J. Clin. Nutr.*, 79(5): 727-747.
- Mansouri, A., G., Embarek, E., Kokkalou, et P., kefalas, 2005. "Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date fruit (*phonix dactylifera*) ". *Food Chemistry*, (89): 411-420.
- Marfak, A., "Radiolyse Gamma des flavonoides. Etude de leur reactivité avec les radicaux issus des alcools : formation de depsides". Thèse de doctorat. (2003). 220p.
- Meng, Q. J. et Wang, G. Q., 2005. "Studies on the composition of fruit nutrition matters and make use of resources in hawthorn germplasm". *J. of Agricultural University of Hebei*, 28(1): 21–23.
- Merghem, R., 2000. "Rôle des polyphénols et tanins condensés dans l'alimentation". Institut des Sciences de la Nature et de la Vie. Université de Constantine. 3: 113-118.

- Marvelys, L., Maritza, M., Lilian, S., De Pinto gladys, L. et Julio, H., 2006" Structural elucidation of the polysaccharide from *Sterculia apetala* gum by a combination of chemical methods and NMR spectroscopy. *Food hydrocolloids*, 20: 908-913.
- MetaCyc Pathway., 2008. "Xylan biosynthesis". In: <http://metacyc.org/META/newimage?type=PATHWAY&object=PWY-5800>.
- McCaleb, R.S., Leigh, E., Morien, K., 2000."The Encyclopedia of Popular Herbs: Your Complete Guide to the Leading Medicinal Plants". Roseville, CA: Prima Health.
- McNeil, M., Darvill, A.G., Fry, S.C., Albersheim, P., 1984. "Structure and function of the primary cell walls of plants". *Ann. Rev. Biochem*, 53: 625-663.
- Meyer, A.S., Yi, O.S., 1997. "Inhibit of human low density lipoprotein oxidation in relation to composition of phenolic antioxydants in grapes". *J. food, Agriculture*, 45: 1638-1643.
- Milane, H., "La quercetine et ses dérivés : molécule à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres, étude et applications thérapeutique". Thèse de doctorat. Paris. (2004). 155p.
- Milne, T. A., Chum, H. L., Agblevor, F., Johnson, D. K., 1992. "Standardized analytical methods". *Biomass and Bioenergy*, 2: 341-366.
- Mitchetti, A., "Tous les arbres de nos forets". Bordas (Éd). 1992. Belgique. 414p.
- Mohammadifar, M. A., Musavi, S. M., Kiumarsi, A., et Williams, P.A., 2006. "Solution properties of targacanthin (water-soluble part of gum tragacanth exudate from *Astragalus gossypinus*)". *International journal of biological macromolecules*, 38: 31-39.
- Mohammedi, Z., "Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen". Mémoire de Magister en Biologie. Université Abu Bakr Belkaid. Tlemcen. (2006). 155p.
- Mohammedi, Z., et Atik, F., 2011. "Impact of Solvent Extraction Type on Total Polyphenols Content and Biological Activity from *Tamarix aphylla* L. Karst". *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 2 : 609-615.
- Mohand A.Y., "Plantes médicinales de Kabylie (préface du docteur Jean-Philippe Brette)." Ibis Press (Éd). 2006. Paris. 99-102p.
- Molyneux, P., 2004. "The use of the stable radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity". *Songklanakarin J-Sci.Technol*, (26): 211-219.
- Mollet, J.C., "La paroi primaire végétale". *Habilitation à Diriger les Recherches*. Université d'Artois, 2006, 121p.
- Monties, B., "Les lignines". In : "les polymères végétaux". Gautier Villars (Éd).1980. Paris. 122-155p.
- Morgenson, G.. 1999. "Effects of cold stratification, warm-cold stratification, and acid scarification on seed germination of three *Crataegus* species". *Tree Planters Notes*, 49 (3): 72-74.

Muller, A., et al., 1999. "Crataegus extract blocks potassium currents in guinea pig ventricular cardiac myocytes". *Planta Med.*, 65(4): 9-335.

N

Narayana, K.R., Reddy, M.S., Chaluvadi, M.R., Krishna, D.R., 2001. "Bioflavonoïds: Classification, Pharmacological, Biochemical, Effects and Therapeutic Potential". *Indian. J. Pharmacology*, 33: 2-16.

Nasa, Y., et al., 1993. "Protective effect of *crataegus* extract on the cardiac mechanical dysfunction in isolated perfused working rat heart". *Arzneim.-Forsch./Drug Res*, 43(9): 9-945.

Nemecz G., 2001. "Hawthorn". *Communication January /February*. 10-13p.

Nitsch, J.P., Nitsch, C., 1961. "Synergistes naturels des auxines et des giberellines". *Bull. Soc. Fr.*, 26: 2237- 2240.

O

Occhiuto, F., Circosta, C., Costa, R., Briguglio, F., Tommasini, A., 1986 "Comparative study of the cardiovascular activity of the young shoots, leaves and flowers of *Crataegus oxyacantha*, II. Action of extracts and isolated pure active principles on the isolated rabbit heart". *Plantes Medicinales et Phytotherapie*, 20: 52-63.

Ochocka, R.J., Rajzer, D., Kowalski., Lamparczyk, H., 1995. "Determination of coumarins from *Chrysanthemum segetum* L., By capillary electrophoresis". *Journal of Chromatography A*, 709: 197-202.

Oh, I., Whang, W., et Kim, I., 1994. "Constituents of *Crataegus pinnatifida* var. *psilosa* leaves (II)-Flavonoids from BuOH fraction". *Archives of Pharmacal Research*, 17(5): 314-317.

Okuda, T., Kimura, Y., Yoshida, T., Hatanv, T., 1983. "Studies on the activities of tannins and related compounds from medicinal plant and drugs. Inhibition effects of lipid peroxidation in mitochondria and microsome of liver". *Chem. pharm . Bull.*, (31): 1625-1631.

Ordaz-Ortiz, J.J., Marcus, S.E., et Knox, J.P., 2009. "Cell wall microstructure analysis implicates hemicellulose polysaccharides in cell adhesion in tomato fruit pericarp parenchyma". *Mol. Plant.*, 2(5): 21-910.

Ozcan, M., Hacisefroglu H., Marakoglu, T., Arslan, D., 2005. "Hawthorn (*Crataegus spp*) fruit: some physical and chemical properties". *J. Food Engineering*, 69: 409-413.

P

Paris, M., et Hurabielle M., "Matière médicale (pharmacognosie)". Tome I. Masson (Éd).1981. Paris. 26-67p.

Paris, M., 1983. "L'Aubépine *crataegus oxyacantha* L.". *Phytotherapy*.

Panovska, T.K., 2005. "In vitro antioxydant activity of some *Tencrium* species (Lamiaceae)". *Acta Pharm*, 55: 207-214.

- Paul, S.F., "Guide des plantes médicinales (Analyse description et utilisation de 400 plantes)". Delachaux et Niestlé (Éd). 2006. Paris. 112-113p.
- Pengzhan, L., 2012. "Composition of hawthorn (*Crataegus* spp.) fruits and leaves and Emblic leafflower (*Phyllanthus emblica*) fruits". University of turku. Painosalama Oy. Finland. 77- 85p.
- Pérez, S., Rodriguez-Carjaval, M.A., Doco, T., 2003. "A complex plant cell wall polysaccharide : rhamnogalacturonan II. A structure in quest of a function". *Biochimie*, 85: 109-121.
- Peronny, S., "La perception gustative et la consommation des tannins chez le maki (*Lemur catta*)". Thèse de doctorat. Muséum National D'histoire Naturelle. (2005). 154p.
- Petereit, F., et Nahstedt, A., 2005. "Crataegus from the analytical viewpoint: official contents of hawthorn drugs". *Pharmazie in Unserer Zeit* (in German), 34(1): 22–26.
- Petkov, E., Nikolov, N., Uzunov, P., 1981. "Inhibitory effect of some flavonoïds and flavonoïd mixtures on cyclic AMP phosphodiesterase activity of rat heart". *Planta Med*, 43: 183-186.
- Phipps, J.B., 1983. "Biogeographic, taxonomic, and cladistic relationships between east Asiatic and North American *Crataegus*". *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 70: 667-700.
- Phipps, J.B., 1998a. "Synopsis of *Crataegus* series Apiifoliae, Cordatae, Microcarpae, and Brevispinae (Rosaceae subfam. Maloideae)". *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 85: 475-491.
- Phyllis, 2003. "Database for biomass and waste". *Energy Reserach Center of the Natherlands*, on line: www.ecn.nl/phyllis.
- Pierre, P., Biochimie végétale, 2^{ème} édition. Dunod (Éd). 2000. Paris. 161p.
- Pierre, L., "Le livre des arbres, arbustes & Arbrisseaux". Actes Sud (Éd). 2004. 212- 221p.
- Pierre, S., "Arbre et arbustes de montagne". Libris (Éd). 2006. Paris. 251p.
- Pilnik W., "Pectin, a many spendoured thing". G.O. Philips, P.A. Williams & D.J. Wedlock (Ed), In : "Gums and stabilizers for the food industry". Oxford University Press (Ed). 1990. 313-262p.
- Pittler, M. H., Schmidt, K., et Ernst, E., 2003. "Hawthorn extract for treating chronic heart failure: Meta-analysis of randomized trials". *American Journal of Medicine*, 114(8): 665-674.
- Pizarro, C.M., "Sinopsis de la Flora Chilena". Ediciones de la Universidad de Chile. 1966. Santiago.
- Popper, Z.A., et Tuohy M.G., 2010. "Beyond the green: understanding the evolutionary puzzle of plant and algal cell walls". *Plant Physiol.*, 153(2): 83-373.
- Popping, S., et al., 1995. "Effect of a hawthorn extract on contraction and energy turnover of isolated rat cardiomyocytes". *Arzneim.-Forsch./Drug Res*, 45(11): 1157-61.

Postová, J., Lasovsky, J., Vicar, J., 2003. "Metal-chelating Properties, Electrochemical Behavior, Scavenging And Cytoprotective Activities Of Six natural phenolics". *J. Biomed. Papers*, 147 (2): 147-153.

Prakash, D., Upadhyay, G., Brahma N., et Single, H.B., 2007. "Single antioxidant and free radicalscavenging activities of seeds and agri-wastes of some varieties of Soybean (glycine max)." *Food Chemistry*, 104: 783-790.

Prinz, S., Ringl, A., Huefner, A., Pemp, E. et Kopp, B., 2007. "4''-Acetylvitexin-2''-O-rhamnoside, isoorientin, orientin, and 8-methoxykaempferol-3- O-glucoside as markers for the differentiation of *Crataegus monogyna* and *Crataegus pentagyna* from *Crataegus laevigata* (Rosaceae)". *Chemistry & Biodiversity*, 4(12): 2920-2931.

Q

Quezel, P., Santa, S., "Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales". Tome II. C.N.R.S. Éd. 1963. Paris. 261- 458p.

R

Rajendran, S., Deepalakshmi, P.D., Parasakthy, k., Devaraj, H., Niranjali D, S., 1996. "Effect of tincture of *Crataegus* on the LDL-receptor activity of hepatic plasma membrane of rats fed an atherogenic diet". *J. Atherosclerosis*. 123 (1-2): 235-241.

Randerath, K., "Alcaloïdes, amines et autres composés basiques dans la chromatographie sur couches minces". 2ème édition. Gauthier villars (Éd). 1971. 87-109p.

Rees, S.B., Harborne, J.B., 1985. "The role of sesquiterpene lactones and phenolics in the chemical defence of the chicory plant". *Phytochem.*, 24: 2225-2231.

Redoyal, L.M., Beltram, M., Saicho, R., Olmedo, D.A., 2005. "Bioorganic and medicinal chemistry Letters". *Fitoterapia*, 15: 4447-4450.

Repcak M., Imrich, J., Fanekova, M., 2001. "Umbelliferone, a stress metabolite of *Chamomilla recutita* (L) Rauschert". *Plant Physiol*, 158: 1085-1087.

Ridley, B.L., O'Neill, M.A., Mohnen, D., 2001. "Pectins: structure, biosynthesis, and oligogalacturonide-related signaling". *Phytochemistry*, 57: 929-967.

Ringl, A., Prinz, S., Huefner, A., Kurzmann, M. et Kopp, B., 2007. "Chemosystematic value of flavonoids from *Crataegus x macrocarpa* (Rosaceae) with special emphasis on (R) - and (S)-eriodictyol-7-O-glucuronide and luteolin-7- O-glucuronide". *Chemistry & Biodiversity*, 4(2): 154-162.

Robert, D., Roland, J.C., "Biologie végétale: Organisation cellulaire". Vol (1). Doin (Éd). 1998. Paris. 367p.

Röder, T., Morgenstern, B., Schelosky, N., Glatter, O., 2001. "Solutions of cellulose in O, N-Dimethylacetamide/ Lithium chloride studied by light scattering methods" *Polymer*, (42): 6765-6773.

Roger, H., "La Gemmothérapie ou l'embryothérapie végétale (La santé par les bourgeons) ". Trajectoire (Éd). 2005. Paris. 26-27p.

Roland, J.C., "Visualisation des polysaccharides au niveau ultrastructural. Dans : Les Polymères Végétaux. Polymères Pariétaux et Alimentaires non azotés". Gauthier-Villars (Éd). 1980. Paris. 30- 45p.

Rose, J., et Treadway, S., 1999. "Herbal Support for a healthy Cardiovascular system". *Adv. Nutrition Pub. Inc.*, 6 (16): 6.

Ruiz, G. "Extraction, détermination structurale et valorisation chimique de phycocolloïdes d'algues rouges". Thèse de doctorat de l'université de Limoges. (2005). 36-38p.

S

Saadoudi M., "Etude de la fraction glucidique des fruits de : *Celtis australis* L., *Crataegus azarolus* L., *Crataegus monogyna* Jacq., *Elaeagnus angustifolia* L. et *Ziziphus lotus* L.", Mémoire de magister. Département d'agronomie. Université el hadj Lakhdar. Batna. (2007). 80p.

Saake, B., Lehn R., 2007. "Lignin" In: "Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry" John, W., et Sons, on line: www.interscience.wiley.com/ullmanns.

Salunkhe, D. K., 1990. "Dietary tannins: consequences and remedies". Boca Raton. Florida: "screening and determination of flavonoids in *Secamone afzeli* (Asclepiadaceae) extracts". *African J. Pure and Applied Chemistry*, 2 (8): 80-82.

Samuelsen, A. B., Paulsen, B. S., Wold, J. K., Knutsen, S. H. et Yamada, H., 1998. "Characterization of a biologically active arabinogalactan from the leaves of *Plantago major* L". *Carbohydrate polymers*, 35: 145-153.

Sanogo, R., Diallo, D., Diarra, S., Ekoumon, C., et Bougoudougou, F., 2006. "Activité antibactérienne et antalgique des deux recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et la cystite au Mali". *Mali Medical*, (1): 18-24

Sederoff, R., Campbell, M., O'Malley, D.M., Whetten, R., "Genetic regulation of lignin biosynthesis and the potential modification of wood by genetic engineering in loblolly pine". In: "Genetic engineering of plant secondary metabolism". Ellis, B.E., Kuroki, G.W., Stafford, H.A., New York. Etats-Unis. Plenum Press (ÉD). 1994. 313-355p.

Scheller, H.V., et Ulvskov, P., 2010. "Hemicelluloses". *Ann. Rev. Plant Biol.*, 61: 89-263. -Schmidt, U., Kuhn, U., Ploch, M., Hubner, W.D., 1994. "Efficacy of the hawthorn (*Crataegus*) preparation LI 132 in 78 patients with chronic congestive heart failure defined as NYHA functional class II". *Phytomedicine*, 1: 17-24.

Schorderet, M., 1992. "Pharmacologie: des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques". OPU. Alger, 918p.

- Schroder, D., Weiser, M., Klein, P., 2003. "Efficacy of a homeopathic *Crataegus* preparation compared with usual therapy for mild (NYHA II) cardiac insufficiency: results of an observational cohort study". *Eur. J. Heart. Fail.*, 5: 319-26.
- Schussler, M., Holzl, J., Fricke, U., 1995. "Myocardial effects of flavonoïds from *Crataegus* species". *Arzneimittel Forschung*, 45: 842-845.
- Shanthi, R., Parasakthy, K., Deepalakshmi, P.D., Niranjali, D.S., 1996. "Protective effect of tincture of *Crataegus* on oxidative stress in experimental atherosclerosis in rats". *J. Clin Biochem Nutr*, 20: 211-223.
- Shrauder, P.A., 1977. "Hawthorns; *Crataegus spp*". In: Halls, LK, (Ed). "Southern fruit-producing woody plants used by wildlife". Gen.Tech.Rep.SO-16. New Orleans: *USDA Forest Service Southern Forest Experiment Station*, 12-18.
- Sims, I.M., 2003. "Structural diversity of fructans from members of the order Asparagales in New Zealand". *Phytochemistry*, 63: 351-359.
- Singh, B., 2007."Psyllium as therapeutic and drug delivery agent". *International journal of pharmaceutics*, 334: 1-14.
- Smara, N. "Etude ethnobotanique et chimique d'*Euphorbia guyoniana* boiss". Et Reut. Thèse de doctorat. University d'Annaba. (2014).
- Sokol, L.A., J., Oszmiansk, et wojdylo, A., 2007. "Antioxydant activity of the phenolic compounds of Hawthorn, pine and skullcap." *Food chemistry*, 103: 853-859.
- Somerville, C., Bauer, S., Brininstool, G., Facette, M., Hamann, T., Milne J., Osborne, E., Paredes, A., Persson, S., Raab, T., Vorwerk, S., Youngs, H., 2004. "Toward a systems approach to understanding plant cell walls". *Science*, 306 (5705): 11-2206.
- Sorensen, A.E., 1981. "Interactions between birds and fruit in a temperate woodland." *Oecologia*, 50: 242-249.
- Spiridon, L., Popa, V.I., "Hemicelluloses : major sources, properties and applications". In: Belgacem, M.N., Gandini, A., (Éd). "Monomers, Polymers and Composites from Renewable Resources". (2008). 289-304p.
- Sqalli, H., A., El ouarti, A., Ennabili, et al., 2007. " Evaluation de l'effet antimycobacterien de plantes du centre - nord du Maroc". *Bull soc pharm. Bordeaux* (146): 271-88.
- Stefanova, T., Nikolova, N., Michailova, A., Mitov, I., Iancovi, I., Zlabinger, g.I., Neychev, H., 2007. "Enhanced resistance to *Salmonella enteric* sero var typhimurium infection in mice after coumarin treatment". *Microbes and infection*, 9: 7-14.
- Sripad, G., Prakash, V., et Narasinga Rao, M. S., 1982. "Extractability of polyphenols of sunflower seed in various solvents". *J.of Biosciences*, 4 (2): 145-152.

- Stanković, M, Radojević, I, Ćurčić, M, Vasić, S, Topuzović, M, Ćomić, L, *et al.*, 2012. "Evaluation of biological activities of goldmoss stonecrop (*Sedum acre* L.). Turk.". *J. Biol.*, 36: 580-588.
- Sugiyama, J., Vuong, R., Chanzy, H., 1991. "Electron diffraction study on the two crystalline phases occurring in native cellulose from an algal cell wall". *Macromolecules*, American Chemical Society, version 1: 4168-4175.
- Svedström, U., Vuorela, H., Kostianen, R., Huovinen, K., Laakso, I., *et* Hiltunen, R., 2002a. " High-performance liquid chromatographic determination of oligomeric procyanidins from dimers up to the hexamer in hawthorn ". *J. of Chromatography A*, 968(1-2): 53-60.
- Svedström, U., Vuorela, H., Kostianen, R., Tuominen, J., Kokkonen, J., Rauha, J., Laakso, I., *et* Hiltunen, R., 2002b. "Isolation and identification of oligomeric procyanidins from *Crataegus* leaves and flowers". *Phytochemistry*, 60(8): 821-825.
- Svedström, U., Vuorela, H., Kostianen, R., Laakso, I., *et* Hiltunen, R., 2006. "Fractionation of polyphenols in hawthorn into polymeric procyanidins, phenolic acids and flavonoids prior to high-performance liquid chromatographic analysis". *J. of Chromatography A*, 1112(1-2): 103-111.
- Swain, T., 1979. "Tannins and lignins. Herbivores, their interaction with secondary plant Metabolites". (Éd) par Rosenthal, G. A., *et* Janzen, D. H., New York: *Academic Press*. 637-682.

T

- Taguchi, G., Fujikawa, S., Yazawa, T., Kodaira, R., Hayashida, N., Shimosaka, M., Okazaki, M., 2000 . "Scopoletin uptake from culture medium and accumulation in the vacuoles after conversion to scopolin in 2.4-D-treated tobacco cells". *Plant Science*, 151: 153-161.
- Tauchert, M., Ploch, M., Hubner, W.D., 1994. "Effectiveness of hawthorn extract LI 132 compared with the ACE inhibitor coptopril: multicentre double-blind study with 132 NYHA stage II heart failure patients. *Munchener Medizinische Wochenschrift*, 136: 27-33.
- The Pharmacopoeia Commission of PRC., 1997. " Pharmacopoeia of the People's Republic of China ". Beijing: English (ÉD). *Chemical Industry Press*, Vol (1).
- Thomson, J.A., 1993. "Molecular biology of xylan degradation". *FEMS Microbiology Reviews*, 104: 65-92.
- Touitou, Y., "Biochimie : structure des glucides et lipides". Faculté de médecine (Pierre et Marie Curie). Université Paris-VI. (2006). 5p.
- Tutin, T.G., 1976. "Flora Europea". Cambridge. *J. Cambridge University Press*. (4).
- Twaij, H.A.A., Ker'y, A.A., Jeboory, A.A., Hammad, M.N., 1987. "*Crataegus azarolus* Linn; pharmacology and phytochemistry: Part I. Pharmacology". *J. of Biological Sciences Research*, 18: 105-126.

Tyler, V.E., "The Honest Herbal: A Sensible Guide to the Use of Herbs and Related Remedies". 3^{ème} édition. Pharmaceutical Products Press (ÉD).1993. New York.

U

Urbonaviciute, A., Jakstas V.,, Kornygova O.,, Janulis,V., Maruska,A., 2006. " Capillary electrophoretic analysis of flavonoids in single-styled hawthorn (*Crataegus monogyna* Jacq.) ethanolic extracts". *J. Chromatogr.*, A1112: 339-344.

V

Valent, B.S., et P., Albersheim, 1974. "The structure of plant cell walls. V. On the binding of xyloglucan to cellulose fibers". *Plant Physiol.*, 54: 105-108.

Valls, J., Millan, S., Marti, M.P., Borrás, E., Arola, L. 2009. "Advanced separation methods of food anthocyanins, isoflavones and flavanols". *Journal of chromatography A.*, 1216: 7143-7172.

Van Den Ende, W., De Coninck, B., et Van Laere, A., 2004. "Plant fructan exohydrolases: a role in signaling and defense". *Trends Plant science*, 9: 523-528.

Vassilev, S. V., Baxter, D., Andersen, L. K., Vassileva, C. G., 2010. "An overview of the chemical composition of biomass". *Fuel.*, 89: 913-933.

Veselovskaya, M.V., Garzed, M.M., vinogradova, V.I., Khilia, P.V., 2006. "Modified coumarins furocoumarin derivatives of cytisin". *Chemistry of Natural Compound*, 42(3): 277-280.

Veveris, M., et al., 2004. "*Crataegus special* extract WS®,1442 improves cardiac function and reduces infarct size in a rat model of prolonged coronary ischemia and reperfusion". *Life Science*, 74: 55-1945.

Villars, G., "Chromatographie sur couche minces". Tec et Doc (Éd). 1971. Paris, 370p.

Véronique, B., 2007. "Extraction, modification enzymatique et caractérisation chimique de nouvelles structures pectiques. Application de la relation structure / activité à la dermocosmétique". Thèse de doctorat (Ecole Doctorale n° 258 Sciences-Technologie-Santé). Université de Limoges.

W

Wack, M., et Blaschek, W., 2006. "Determination of the structure and degree of polymerisation of fructans from *Echinacea purpurea* roots". *Carbohydrate research.*, 341: 1147-1153.

Waghorn, G. C., McNabb, W. C., 2003. "Consequences of plant phenolic compounds for productivity and health of ruminants". *Proceedings of the Nutrition Society*, (62): 383-392.

Walker, A.F., et al., 2002. "Promising hypotensive effect of hawthorn, extract: a randomized double blind pilot study of mild, essential hypertension". *Phytotherapy Research*, 16: 48-54.

Wang, J., et Mazza, G., 2002. "Effects of Anthocyanins and Other Phenolic Compounds on the production of Tumor Necrosis Factor alfa in LPS/IFN-γ-Activated RAW 264.7 Macrophages". *J. Agric. Food Chem.*, 50: 4183-4189.

- Wang, J., Ho, L., Zhao, W., Ono, K., Rosensweig, C., Chen, L., *et al.* 2008. "Grape-derived polyphenolics prevent Abeta oligomerization and attenuate cognitive deterioration in a mouse model of Alzheimer's disease". *J. Neurosci.*, 28 : 6388-6392.
- Warrand, J., "Etude structurale et propriétés en solution des polysaccharides constitutifs de mucilage de lin (*Linum usitatissimum*)". Thèse de doctorat. Université de Picardie Jules Verne. (2004). 238 p.
- Waterman, P. G., 1984. "Food acquisition and processing as a function of plant chemistry". In: "Food acquisition and processing in Primates" (Éd) par Chivers, D. J., Woods, B.A. Bils, A., New York and London: *Plenum Press*, 177-211.
- Weikl, V.A., Assmus, K.D., Neukum, S. A., Schmitz, J., Zapfe, G., Noh, H.S., Siegrist, J., 1996. "Crataegus Special Extract WS1442: assessment of objective effectiveness in patients with heart failure (NYHA II)". *Fortschritte der Medizin*, 114: 291-296.
- Weissburger, J.M., 1997. "Tea and health: a historical perspective". *Cancer let.*, 114: 315-317.
- Wichtl, M., et Anton, R., "Plantes thérapeutiques. Tradition, pratique officinale, Science et thérapeutique". 3^{ème} édition. Tec et Doc (Éd). 1999. 42-138p.
- Willats, W.G., McCartney, L., Mackie, W., Knox, J.P., 2001. "Pectin: cell biology and prospects for functional analysis". *J. Plant Mol. Biol.*, 47 (1-2): 9-27.
- Willats, W. G., Knox, J. P., Mikkelsen, J. D., 2006. "Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel". *J. Trends Food Sci. Technol.*, 17 (3): 97-104.
- Wilson, J.D., Hamilton, J.K., 1986. "Wood Cellulose as a Chemical Feed stock for the Cellulose Esters Industry". *J. Chem. Educ.* 63 (1): 49 - 53.
- Wu, Y., Cui, S. W., Tang, J., Wang, Q. et Gu, X., 2007. "Preparation, partial characterization and bioactivity of water-soluble polysaccharides from boat-fruited sterculia seeds". *Carbohydrate polymers*, 70: 437- 443.

Y

- Yameogo, N., "Etude de la contribution de l'aviculture traditionnelle urbaine et periurbaine dans la lutte contre les pathologies aviaires au Burkina Faso". CRDI. Université de Ouagadougou. (2003).
- Yoo, K.M., Lee, H.C., Lee, H., Moon, B., et Lee, C.Y., 2008. "Relative antioxidant and cytoprotective activities of common herbs". *Food Chemistry*, 106: 929-936.
- Young, J.A, et Young, C.G., "Seeds of woody plants in North America": revised and enlarged. OR: Dioscorides Press (Éd). 1992. Portland. 407 p.
- Yves, M.A., "Les arbustes (les pratiques du jardinage) ". Larousse (Éd). 1988. Paris. 52p.

Z

- Zabri, H., Kodjo, C., Beni, A., Marnyrbekova, B., Ko, J., Bekro, Y.A., 2008. "Phytochemical screening and determination of flavonoïds in *Secamone afzeli* (Asclepiadaceae) extracts". *African. J. Pure and Applied Chemistry*, 2 (8): 80-82.
- Zapfe, G., 2001. "Clinical efficacy of *Crataegus* extracts ws 1442 in congestive heart failure NYHA class II". *Phytomedicine*, 8(4): 262-6.
- Zhang, Z.S., Chang, Q., Zhu, M., Huang, Y., Ho, W.K.K., Chen, Z.Y., 2001. "Characterization of antioxidants present in hawthorn fruits". *J. Nutr. Biochem*, 12: 144-152.
- Zhang, P., et Xu, S., 2001a. "Chemical constituents from the leaves of *Crataegus pinnatifida* Bge. var. *major* N.E.Br". *Acta Pharmaceutica Sinica*, 36 (10): 4-4.
- Zhang, Z., Chang, Q., Zhu, M., Huang, Y., Ho, W. K. K., et Chen, Z., 2001d. "Characterization of antioxidants present in hawthorn fruits". *J of Nutritional Biochemistry*, 12(3): 144–152.
- Zhang, P. C., et Xu, S. X., 2003a. "C-glucoside flavonoids from the leaves of *Crataegus pinnatifida* Bge. var. *major* N.E.Br". *J. of Asian Natural Products Research*, 5(2): 131-136.
- Zhang, Z., Hoa, K.K., Huang, Y., Cena Z. Y., 2006. "Hypocholesterolemic activity of hawthorn fruit in mediated by regulation of cholesterol-7- hydroxylase and acyl coa: cholesterol acyl transferase". *J. Food Research*, (35): 885-891.
- Zakzeski, J., Bruijninx, P. C. A., Jongerius, A. L., Weckhuysen, B. M., 2010. "The Catalytic Valorization of Lignin for the Production of Renewable Chemicals". *J.Chemical*, 110: 3552-3599.
- Zeitoun, R., "Procédés de fractionnement de la matière végétale-Application à la production des polysaccharides du son et de la paille de blé". Mémoire de doctorat. Université de Toulouse. (2011). 291p.
- Zhao, H. C., et Tian, B. F., "China Fruit-Plant Monograph, Hawthorn Flora". Zhongguo Lin Ye Press (Éd). 1996. Beijing, China.
- Zhongguo, Y., et al., "Zhong Yao Zhi". Vol (3), 2^{ème} édition. 1984. Beijing: Ren min wei sheng chu ban she.
- Zou, S. Q., et Chen, W., 2006. "Determination of two components in *Crataegus cuneata* Sieb. et Zucc. by HPLC-PAD". *Food Science* (in Chinese), 27(11): 438-440.
- Zucker, W. V., 1983. "Tannins: does structure determine function, an ecological perspective". *American Naturalist*, 121 (3): 335-365.

Référence bibliographique sur internet

- [Web master 1]: www.srpv-paysdelaloire.com.
- [Web master 2] - fr.wikipedia.org/wiki/Lignine.
- [Web master 3] - www.fmrc.fr.
- [Web master 4] - www.naturwaren.fr.