



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العلمي والبحث العالي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE BLIDA 01 جامعة البليدة 1

FACULTE DES SCIENCES كلية العلوم

DEPARTEMENT DE CHIMIE قسم الكيمياء

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master (LMD)

Domaine : Science de la matière

Filière : Chimie

Option : Chimie des Produits Naturels

Titre :

**Étude qualitative des composés phénoliques par HPLC/UV-Visible  
de l'espèce *Genista aspalathoides* Lamk.**

Présenté et soutenu par :

Le 29/09/2020

**Benattallah Ikhlas**

**Benyoucef Nadia**

**Devant le jury :**

<b>Y.Daghbouche</b>	Pr	Présidente	Université Blida 1
<b>A.Mezrag</b>	MCB	Examineur	Université Blida 1
<b>R.Boukaabache</b>	MCB	Promotrice	Université Blida 1

**Année universitaire**

2019/2020



## ***REMERCIEMENT***

Avant tout nous remercions Dieu tout-puissant de nous avoir guidés durant toutes ces années et de nous donner le courage, la volonté et la patience pour réaliser ce travail.

Nos sincères remerciements et notre profonde gratitude à notre promotrice estimée Dr. BOUKAABACHE RABIA, pour nous avoir encadrées et suivies et également pour son aide, ces orientations, sa patience et sa correction sérieuse de ce travail.

Nous remercions sincèrement MADAME TOUAFK, responsable de master de produits naturels pour son aide et ses conseils aussi

Nous sommes reconnaissantes aussi envers nos enseignants et nos camarades de promotion

Enfin, nous remercions aussi toutes les personnes qui nous ont aidées de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.

A decorative border surrounds the page, featuring pink flowers and butterflies. The border is composed of a central horizontal line with floral and butterfly motifs at the corners and ends. The background is a soft, light pink color with subtle floral patterns.

## *Dédicace*

Avec toute notre estime et notre amour, nous dédions ce travail à nos chers parents pour leurs sacrifices et leurs encouragements durant toutes nos études.

A nos frères et nos sœurs

A nos familles

A tout ce qui nous connaît

A nos amies

Nous ne pouvons conclure ce mémoire sans montrer nos sincères gratitude et grand remerciement à notre promotrice : Dr. BOUKAABACHE RABIA pour son dévouement exemplaire et ses conseils constructifs, pour sa modestie, sa générosité et son encouragement.

Nous adressons également nos remerciements à tous les professeurs, intervenants et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé nos réflexions et ont accepté de répondre à nos questions durant nos recherches.

**Nadia-Ikhlal**



# *ABBREVIATIONS*

**APG** : l'Angiosperm Phylogeny Group.

**ICBN** : International Code of Botanical Nomenclature.

**ICBN** : International Code of Botanical Nomenclature.

**CoA** : Coenzyme A.

**CHS** : Chalcone synthetase.

**CHI** : Chalcone-isomerase.

**CHR** : Chalcone-réductase.

**IFS** : Isoflavone-synthase.

**AUS** : Aurone-synthase.

**FHT** : Flavanone-3-hydroxylase.

**DFR** : Dihydroflavonol-réductase.

**ANS** : Anthocyanine-synthase.

**FLS** : Flavonol-synthase.

**FSI** : Flavone-synthase.

**UV** : Ultraviolet

**HPLC** : Chromatographie Liquide à Haute Performance.

**tr** : temps de rétention.

**$\lambda$  max** : Longueur d'onde maximale d'absorbance.

**V/V** : Volume par Volume.

**EtOH** : Ethanol.

**H<sub>2</sub>O** : Eau.

**T°** : Température.

**Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** : Sulfate de sodium.

**CHCl<sub>3</sub>** : Chloroforme.

**AcOEt** : Acétate d'éthyle.

**MeOH** : Méthanol.

**ACN** : Acétonitrile.

**CRAPC** : Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-chimiques

# LISTE DES FIGURES

<b>Figure I.1 :</b> Carte de répartition de la famille des <i>Fabaceae</i> dans le monde.....	4
<b>Figure I.2 :</b> Espèce <i>Genista numidica</i> Spach.....	7
<b>Figure I.3 :</b> Trois espèces de genre <i>Genista</i> ( <i>G.tenera</i> , <i>G.anglica</i> , <i>G.germanica</i> ).....	8
<b>Figure I.4 :</b> Photo des tiges de <i>G. aspalathoides</i> Lamk.ssp.erinaceoides (Lois.).....	10
<b>Figure I.5 :</b> Photo les fleurs de <i>G. aspalathoides</i> Lamk.....	10
<b>Figure I.6 :</b> Photo petit arbrisseau de <i>G. aspalathoides</i> Lamk.....	10
<b>Figure I.7 :</b> Organigramme récapitulatif des étapes d'extraction de l'espèce <i>G. aspalathoides</i> Lamk.....	13
<b>Figure I.8 :</b> Les produits isolés de <i>G. aspalathoides</i> Lamk. ssp. erinaceoides (Lois.).....	15
<b>Figure II.1 :</b> Structure d'unité de base des polyphénols.....	16
<b>Figure II.2 :</b> Dérivés d'acides phénoliques.....	20
<b>Figure II.3 :</b> Les types de coumarines les plus fréquents.....	21
<b>Figure II.4 :</b> Quelques exemples des structures chimiques des stilbènes.....	21
<b>Figure II.5 :</b> Squelette de base des flavonoïdes.....	22
<b>Figure II.6 :</b> Différentes positions du cycle B sur l'hétérocycle C.....	23
<b>Figure II.7 :</b> Voie biosynthétique conduisant aux chalcones.....	26
<b>Figure II.8 :</b> Voies de biosynthèse des flavonoïdes.....	27
<b>Figure II.9 :</b> Structures des différentes sous-classes d'isoflavonoïdes.....	29
<b>Figure II.10 :</b> Le mécanisme réactionnel de la biosynthèse de la génistéine par catalyse enzymatique.....	30
<b>Figure II.11 :</b> Ion flavylum (2-phényl-benzopyrilium).....	31
<b>Figure II.12 :</b> Structure chimique des acides gallique (A) et acide ellagique (B).....	32
<b>Figure II.13 :</b> Structure de base des tanins condensés.....	32
<b>Figure II.14 :</b> Quelques exemples de quinones (les plus importants).....	33
<b>Figure II.15 :</b> Structure dephénylpropane (1) et des lignanes (2).....	33
<b>Figure II.16 :</b> Structure des alcools formant les lignines.....	34
<b>Figure II.17:</b> Structures des composés phénoliques identifiés de la famille Fabaceae avec les HPLC-UV.....	38
<b>Figure III.1 :</b> Schéma d'une installation de CLHP.....	40
<b>Figure III.2 :</b> L'appareillage de la CLHP.....	41
<b>Figure III.3 :</b> Principe de fonctionnement d'une pompe à deux têtes en série.....	42

<b>Figure III.4:</b> Vanne d'injection pour CLHP et boucles assorties.....	42
<b>Figure III.5 :</b> Injection avec une boucle.....	43
<b>Figure III.6 :</b> Colonne standard et précolonne de CLHP.....	44
<b>Figure IV.1:</b> L'appareil CLHP utilisé dans cette analyse.....	47
<b>Figure IV.2 :</b> La boucle d'injection utilisé dans l'analyse de l'échantillon.....	48
<b>Figure IV.3 :</b> Chromatogramme CLHP de l'étalon catéchine.....	50
<b>Figure IV.4 :</b> Chromatogramme CLHP de l'étalon épicatechine.....	50
<b>Figure IV.5 :</b> Chromatogramme CLHP de l'étalon robinine.....	51
<b>Figure IV.6 :</b> Chromatogramme CLHP de l'étalons rutine et malvine chloride.....	51
<b>Figure IV.7 :</b> Chromatogramme CLHP de l'étalon Myricétine .....	51
<b>Figure IV.8 :</b> Chromatogramme CLHP de l'étalon naringénine.....	52
<b>Figure IV.9 :</b> Chromatogramme CLHP de l'étalons syringique et Kaempférol.....	52
<b>Figure IV.10 :</b> Chromatogramme CLHP de l'étalon apigénine.....	52
<b>Figure IV.11:</b> Chromatogramme CLHP de l'étalon 3-hydroxy-flavone.....	53
<b>Figure IV.12 :</b> Chromatogramme CLHP de l'étalon berbérine.....	53
<b>Figure IV.13 :</b> Chromatogramme CLHP de l'étalon acide ascorbique.....	53
<b>Figure IV.14 :</b> Chromatogramme CLHP de l'étalon acide gallique.....	54
<b>Figure IV.15 :</b> Chromatogramme CLHP de l'étalon acide caféique.....	54
<b>Figure IV.16 :</b> Chromatogramme CLHP de l'étalon acide -p-coumarique.....	54
<b>Figure IV.17 :</b> Chromatogramme CLHP de l'étalon acide vanillique.....	55
<b>Figure IV.18 :</b> Chromatogramme CLHP de l'étalon acide tans cinnamique.....	55
<b>Figure IV.19 :</b> Chromatogramme CLHP de l'étalon acide férulique.....	55
<b>Figure IV.20 :</b> Chromatogramme CLHP de l'étalon acide-3-hydroxy-4-métoxy cinnamiqu...56	56
<b>Figure IV.21 :</b> Chromatogramme CLHP de l'étalon indol-3-carboxylique.....	56
<b>Figure IV.22 :</b> Chromatogramme CLHP de l'étalon acide salicylique.....	56
<b>Figure IV.23 :</b> Chromatogramme CLHP de l'étalon acide m-annisique.....	57
<b>Figure IV.24 :</b> Chromatogramme CLHP de l'étalon acide trans 2,4-diméthoxy cinnamique...57	57
<b>Figure IV.25:</b> Chromatogramme HPLC de l'étalon acide oxalique.....	57
<b>Figure IV.26 :</b> Chromatogramme HPLC de l'étalon anthrone.....	58
<b>Figure IV.27 :</b> Chromatogramme HPLC de l'étalon scopolétine.....	58
<b>Figure IV.28 :</b> Profil chromatographique CLHP /UV à 254 nm de l'extrait acétate éthyle....60	60
<b>Figure IV.29 :</b> Profil chromatographique CLHP /UV à 254 nm de l'extrait n-butanol.....60	60

**Figure IV.30** : Les structures des composés phénoliques présents chez l'espèce *Genista aspalathoides* Lamk (l'extrait acétate éthyle et l'extrait n-butanol).....63

# LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau I.1 :</b> Position systématique de la famille <i>Fabaceae</i> selon l'approche phylogénétique ou morphologique (APGIII (2009)).....	3
<b>Tableau I.2 :</b> Les tests de caractérisation phytochimique réalisés sur les différentes substances chimiques.....	11
<b>Tableau I.3 :</b> Résultats globaux de la recherche de groupe de substances naturelles identifiées dans la plante <i>Genista aspalathoides Lamk.ssp.erinaceoides</i> (Lois).....	12
<b>Tableau II.1:</b> Principales classes de composés phénoliques.....	18
<b>Tableau II.1:</b> Principales classes de composés phénoliques (suite).....	19
<b>Tableau II.2 :</b> Les différentes classes de flavonoïdes.....	24
<b>Tableau II.3 :</b> La distribution nutritionnelle de certains flavonoïdes.....	25
<b>Tableau II.4 :</b> Liste des enzymes.....	27
<b>Tableau II.5 :</b> Les Composés phénoliques identifiés de la famille <i>Fabaceae</i> avec les HPLC-UV [254 nm et 280 nm].....	36
<b>Tableau II.5 :</b> Les Composés phénoliques isolés de la famille <i>Fabaceae</i> avec les HPLC-UV [254 nm et 280 nm] (suite).....	37
<b>Tableau IV.1:</b> Gradients et utilisés pour les analyses CLHP .....	48
<b>Tableau IV.2:</b> Temps de rétention des flavonoïdes standards.....	49
<b>Tableau IV.3:</b> Temps de rétention d'anthocyane et la coumarine standard.....	50
<b>Tableau IV.4:</b> Les acides phénoliques et flavonoïdes identifiés dans les extraits de <i>G. aspalathoides Lamk. ssp.erinaceoides</i> (Lois) par CLHP à longueur d'onde 254nm.....	59



# SOMMAIRE

Remerciements

Dédicaces

Liste des abréviations

Listes des figures

Liste des tableaux

INTRODUCTION GÉNÉRALE.....1

## CHAPITRE I : Aperçu bibliographique

I.A. La famille des Fabacées et le genre *Genista*

I.A.1. La famille *Fabaceae*.....3

I.A.1.1. Classification systématique et aspects botaniques.....3

I.A.1.2. Distribution géographique.....4

I.A.1.3. Intérêts écologiques et économiques.....4

I.A.1.4. Toxicité des Fabacées et aspect pharmacologique.....5

I.A.1.5. Études chimiques antérieures.....6

I.A.2. Présentation du genre *Genista*.....7

I.A.2.1. Généralités.....7

I.A.2.2. Description du Genre *Genista*.....7

I.A.2.3. Distribution et aire géographique.....8

I.A.2.4. Principaux métabolites secondaires du Genre *Genista*.....8

I.A.2.5. Utilisation en médecine traditionnelle.....8

I.B. Étude chimique de l'espèce *G. aspalathoides* Lamk. ssp. *erinaceoides* (Lois).

I.B.1. Étude bibliographique.....9

I.B.2. Place dans la systématique.....9

I.B.3. Description botanique.....9

I.B.4. Répartition géographique.....10

I.B.5. Screening Chimique.....11

I.B.6. Extraction de *Genista aspalathoides*.....12

I.B.7. Les produits isolés de *G. aspalathoides* Lamk. ssp. *erinaceoides* (Lois.).....14

## CHAPITRE II : Les composés phénoliques

II.1. Généralités.....	16
II.2. Biosynthèse.....	16
II.2.1. La voie de l'acide shikimique.....	16
II.2.2. La voie de l'acétate/malonate.....	17
II.3. Classification des composés phénoliques .....	17
II.3.1. Les acides phénoliques simples.....	20
II.3.1.1. Acides hydroxycinnamiques.....	20
II.3.1.2. Acides hydroxybenzoïques.....	20
II.3.1.3. Coumarines.....	21
II.3.2. Stilbènes.....	21
II.3.3. Flavonoïdes et isoflavonoïdes.....	21
II.3.3.1. Les flavonoïdes.....	21
II.3.3.1.1. Historique.....	22
II.3.3.1.2. Définition.....	22
II.3.3.1.3. Classification des flavonoïdes.....	23
II.3.3.1.4. Distribution et localisation.....	25
II.3.3.1.5. La Biosynthèse des flavonoïdes.....	26
II.3.3.2. Les Isoflavonoïdes.....	28
II.3.3.2.1. Définition.....	28
II.3.3.2.2. Classification des isoflavonoïdes.....	28
II.3.3.2.3. Distribution.....	29
II.3.3.2.4. Biosynthèse.....	29
II.3.3.3. Le rôle des flavonoïdes dans les plantes.....	30
II.3.4.4. Les activités biologiques des flavonoïdes.....	31
II.3.4. Les anthocyanes.....	31
II.3.5. Les Tanins.....	31
II.3.5.1. Les tannins hydrolysables.....	32
II.3.5.2. Les tannins condensés.....	32
II.3.6. Quinones.....	33
II.3.7. Lignanes et Lignines.....	33
II.3.7.1. Lignanes.....	33
II.3.7.2. Lignine.....	33

II.4. Rôle physiologique des composés phénoliques.....	34
II.5. Les Composés phénoliques identifiés de la famille Fabaceae.....	35

### **CHAPITRE III : Chromatographie liquide haute performance**

III.1. Introduction.....	39
III.2. Historique.....	39
III.3. L'origine de la CLHP.....	39
III.4. Principe.....	40
III.5. Conception générale d'un appareil de CLHP.....	40
III.5.1. La Pompe.....	41
III.5.2. Les injecteurs.....	42
III.5.3. Les colonnes.....	43
III.5.4. Les détecteurs.....	44
III.5.5. La phase stationnaire.....	44
III.5.6. La phase mobile.....	45
III.6. Notion de temps.....	45
III.7. Application de la technique.....	46

### **CHAPITRE IV : Partie expérimentale**

IV.1. Analyse qualitative des extraits.....	47
IV.1.1. Conditions opératoires.....	47
IV.1.2. Préparation des échantillons pour l'analyse CLHP -UV/VIS.....	48
IV.2. Résultats et discussions.....	49
IV.2.1. Etude qualitative de deux extraits de l'espèce <i>Genista aspalathoides</i> Lamk.....	49
IV.2.2. Tableau des temps de rétention des composés phénoliques standards.....	49
IV.2.3. Chromatogrammes des étalons.....	50
IV.2.4. Criblage phytochimique par CLHP des extraits.....	58
IV.2.5. Description des profils chromatographique de l' CLHP.....	60
IV.2.6. Conclusion.....	64
<b>CONCLUSION GENERALE.....</b>	<b>65</b>

#### **Références**

#### **Résumé**



**INTRODUCTION**

**GENERALE**

# INTRODUCTION GENERALE

## INTRODUCTION GENERALE

Depuis longue tempe, l'être humain utilise les plantes comme une source inépuisable de remède contre les maladies. On trouve des données sur les remèdes traditionnels à base de plante dans chaque culture. Les plantes médicinales ont été utilisées la première fois en mésopotamie à 5000 BC [1].

L'organisation mondiale de la santé (OMS) estime qu'environ 65 à 80% de la population mondiale dans les pays en développement dépendent essentiellement des plantes médicinales traditionnelles pour leurs soins de santé primaire.

Ces plantes ont l'aptitude de synthétiser de nombreux composés appelés métabolites secondaires, c'est le cas par exemple les composés phénoliques qui sont correspondent à une très large gamme de structure chimiques et utilisées en thérapeutiques comme antimicrobiens, antioxydants et antihémolitiques [2].

L'Algérie, pays connu pour sa biodiversité, dispose d'une flore particulièrement riche et variée. En Algérie il existe 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques dont 15% sont endémiques [3], parmi ces familles les fabacées qui constituent l'une des plus vastes du règne végétal. Ainsi, le genre *Genista* appartenant à cette famille fait l'objet d'une étude phytochimique et pharmacologique qui s'inscrit dans le cadre d'un projet de recherche lancé par équipe de recherche durant plusieurs années [4-7].

Notre étude porte un intérêt spécial à *Genista aspalathoides* Lamk. ssp. *erinaceoides* (Lois). Parmi les méthodes d'identification des composés organiques présents dans les plantes, la Chromatographie liquide haute performance couplée à la détection **UV-visible** est la plus appropriée, vu qu'elle est d'une grande précision, fiable et facile à mettre en œuvre.

L'objectif de ce travail est donc, l'identification des composées phénoliques à partir de *Genista aspalathoides* Lamk. ssp. *erinaceoides* (Lois).

Cette mémoire s'articule autour de quatre chapitres :

➤ Le premier chapitre est divisé en deux parties :

- La première partie concernant l'étude bibliographique comprenant une description botanique de la famille, et du Genre de notre plante.

## INTRODUCTION GENERALE

- La deuxième partie présente l'étude chimique de l'espèce *G. aspalathoides* Lamk. ssp. *erinaceoides* (Lois).

- Le deuxième chapitre s'intéressera sur l'étude des composés phénoliques tout en présentant leurs définitions classifications, biogénèses et propriétés biologiques.
- Le troisième chapitre présente définitions générales et le principe de Chromatographie liquide haute performance.
- Le quatrième chapitre est consacrée à la discussion des résultats d'analyse qualitative des composés phénoliques par HPLC/UV-VISIBLE.

Enfin une conclusion générale.





**Chapitre I**  
**Aperçu bibliographique**

## I.A : La famille des Fabacées et le genre *Genista*

### I.A.1. La famille *Fabaceae*

#### I.A.1.1. Classification systématique et aspects botaniques

Les *Fabaceae* (de faba, la fève) sont la famille la plus nombreuse des plantes, doit son unité à son fruit, appelé gousse ou légume, d'où l'autre dénomination de Légumineuses sous laquelle cette famille est plus connue. Elle appartient à l'ordre des Fabales. C'est une des plus importantes familles parmi les Dicotylédones [8].

Elle comprend plus de 730 genres répartis en 3 sous-familles (les Papilionoideae (Faboideae), les Caesalpinoideae et les Mimosoideae) selon le botaniste Hutchinson, et environ 19500 espèces dont 97% parmi les espèces testées sont ondulées [9-10]. Elle constitue la troisième famille des angiospermes de par le nombre de ses représentants. Les plantes de cet ordre se caractérisent par leur gynécée qui est formé soit d'un seul carpelle, soit de plusieurs carpelles mais généralement libres entre eux, et de fleurs souvent zygomorphes [8].

Le terme *Fabaceae* soit actuellement préféré dans la nouvelle classification systématique de l'Angiosperm Phylogeny Group (APG), le terme Leguminosae est encore couramment utilisé par certaines catégories de scientifiques (spécialistes des légumineuses). Ces deux termes sont considérés comme des synonymes par l'International Code of Botanical Nomenclature (ICBN) [9-11]. La position systématique des *Fabaceae* est présentée au (Tableau I.1) suivant :

**Tableau I .1** : Position systématique de la famille *Fabaceae* selon l'approche phylogénétique ou morphologique (APGIII (2009)) [9].

Classification	APGIII (2009)
Règne	Plantae
Embranchement	Spermatophyta
Sous Embranchement	Angiospermae
Classe	Eudicotyledonae
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Eurosidiae I = Fabidées
Sous-ordre	Fabales
Famille	Fabaceae = Leguminosae
Sous-famille	Faboideae, Mimosoideae, Caesalpinoideae

## I.A : La famille des Fabacées et le genre *Genista*

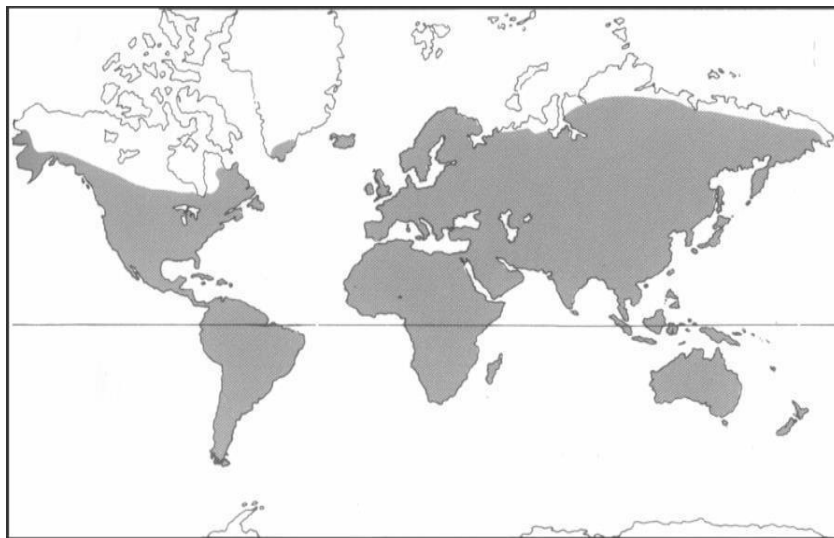
---

Les *Fabacées* sont des plantes herbacées, arbustes, arbres ou plantes grimpantes à lianes volubiles ou à vrilles. Elles possèdent un métabolisme azoté élevé et renferment des acides aminés non protéogéniques. Ces plantes sont souvent constituées de nodules racinaires contenant des bactéries fixatrices d'azote (*Rhizobium*) [12].

Les plantes de cette famille sont à feuilles simples ou composés ordinairement alternes et stipulées parfois plus ou moins entièrement transformées en vrilles, les fleurs sont généralement hermaphrodites régulières ou irrégulières, habituellement pentacyclique et pentamère sauf au niveau du gynécée qui est uniloculaire [13].

### I.A.1.2. Distribution géographique

La famille est en pleine extension, car elle est particulièrement concentrée dans les régions subtropicales et tempérées chaudes (**figure I.1**), comme en Afrique du sud ou sur le pourtour méditerranéen. Les régions tropicales abritent essentiellement des espèces ligneuses, tandis que les régions tempérées regorgent d'espèces herbacées [14-15].



**Figure I.1** : Carte de répartition de la famille des *Fabaceae* dans le monde.

### I.A.1.3. Intérêts écologiques et économiques

C'est une famille qui a une grande importance économique et écologique car elle a des applications industrielles, alimentaires ou encore ornementales [16]. L'intérêt agronomique des *fabacées* provient en premier lieu du fait de leur capacité à fixer l'azote atmosphérique grâce à leurs nodules racinaires contenant des bactéries fixatrices d'azotes (*rhizobiums*) [17]. Il s'ensuit une symbiose entre la plante infestée et la bactérie : celle-ci fixe l'azote

## I.A : La famille des Fabacées et le genre Genista

---

Atmosphérique en empruntant l'énergie nécessaire dans les sucres fournis par la plante, et en retour, la plante utilise l'ammoniac synthétisé par la bactérie [8].

L'intérêt alimentaire découle du fait que les *fabacées* constituent une source très importante de protéines et lipides et rentrent dans l'alimentation humaine : haricot (*Phaseolus*), pois (*Pisum sativum*), pois chiche (*Cicer arietinum*), fève (*Vicia faba*), soja (*glycine max*) et animale : trèfle (*Trifolium*), luzernes (*Medicago*), sainfoin (*Onobrychis*) [8], [18].

L'intérêt industriel résulte du fait que beaucoup d'espèces de cette famille fournissent des produits industriels tels que le Soja qui est utilisé à grande échelle dans l'élevage industriel, les *Derris* et les *Lonchocarpus* qui donnent les roténoïdes insecticides [19]. D'autres espèces produisent des substances colorantes, et d'autres sont utilisées en parfumerie comme *Pterocarpus santalinus* [20].

Certains *Dalbergia* spp d'Afrique, de Madagascar, d'Asie, produisent des bois précieux (ébène d'Afrique, palissandres, bois de rose). Alors que, certaines espèces (*Spartium junceum*, *Crotalaria juncea*, ou chanvre du Bengale) fournissent des fibres textiles [8].

### I.A.1.4. Toxicité des Fabacées et aspect pharmacologique

La présence de certains métabolites secondaires dans les *Fabacées* peut entraîner des intoxications de façon directe ou indirecte [8] :

- ❖ Certains acides aminés non constitutifs, nombreux dans les *Fabacées*, et qui sont fournis par les bactéries fixatrices d'azote, perturbent gravement les chaînes métaboliques, provoquant les troubles du lathyrisme, qui se produisent à la suite de la consommation d'espèces du genre *Lathyrus*. Cela se traduit chez l'homme par une paralysie progressive des muscles. De véritables « épidémies » ont eu lieu lors de périodes de famines en France en 1700-1701 puis en 1856, lorsque la farine de « Jarousse » (*Lathyrus sativus*) a remplacé la farine de blé.
- ❖ Des intoxications hépatiques et cardio-pulmonaires, dues à la présence d'alcaloïdes pyrrolizidiniques dans des espèces du genre *Crotalaria*, en particulier *Crotalaria retusa*, suite à la consommation de céréales contaminées par les graines, ou suite à l'utilisation de ces plantes pour soigner des troubles grippaux ou asthmatiques.
- ❖ Contamination suite à la présence de champignons du type *Aspergillus* développés sur les graines en cas d'humidité, et qui élaborent des aflatoxines cancérogènes.

## I.A : La famille des Fabacées et le genre *Genista*

---

- ❖ La principale allergie alimentaire est celle à l'arachide (*Arachis hypogaea*) à cause des allergènes présents dans les graines (cacahuètes), mais aussi dans l'huile et le beurre d'arachide.
- ❖ Maladie du favisme, maladie génétique, affectant les populations après absorption de fèves, graines de *Vicia faba*, se traduisant par des troubles neurologiques et hématologiques. Cela est dû au manque d'une enzyme, la glucose-6-phosphate-déshydrogénase qui joue un rôle de détoxification.
- ❖ La glycyrrhizine de la réglisse, présente une action minéralo-corticoïde, qui se traduit par une rétention de sodium et d'eau, accompagnée d'une perte de potassium. Cela provoque un œdème au niveau de la face, des anomalies cardiaques, d'où un risque d'hypertension.

D'autres espèces appartenant à la famille des *Fabacées* sont plutôt médicinales [8], [18] :

- ❖ Le baume de tolu du Pérou, élaboré dans les poches sécrétrices d'arbres sud-américains du genre *Myroxylon*, est utilisé comme antispasmodique, expectorant et antiseptique.
- ❖ La racine de la réglisse (*Glycyrrhiza glabra*), est utilisée comme expectorant, anti-inflammatoire, contre les coliques et les brûlures gastriques.
- ❖ Les tanins du cachou (*Acacia catechu*), utilisés comme anti-diarrhéique.
- ❖ Les gousses et feuilles du cassié (*Cassia angustifolia*), utilisées comme laxatif et purgatif.
- ❖ La gomme du tamarin (*Tamarindus indica*), riche en pectine, sucres simples ainsi qu'en acides organiques (tartrique, malique, citrique), est utilisée comme laxatif doux.
- ❖ Le mélilotoside (hétéroside) des feuilles de Mélilot (*Melilotus officinalis*), présente des propriétés sédatives et anti-inflammatoires oculaires.
- ❖ L'écorce de l'« Arbre de peau » ou Tepescohuite (*Mimosa tenuiflora*) est utilisée depuis la civilisation des Mayas au Mexique dans le traitement des affections dermatologiques, en particulier dans le cas de brûlures.

### I.A.1.5. Études chimiques antérieures

La recherche bibliographique montrée que la majorité des études phytochimiques réalisées sur de nombreux types de plantes de la famille des *Fabaceae* confirment la richesse et la diversité de leurs métabolites secondaires, tels que : Les alcaloïdes [18], [21], les coumarines [22], les composés phénoliques de type flavonique et isoflavonique [23-24], et en petites quantités les stéroïdes [25] et les saponosides [26].

### I.A.2. Présentation de genre *Genista*

#### I.A.2.1. Généralités

Le Genre *Genista* a été décrit pour la première fois par LINNE en 1753, il appartient à la famille des légumineuses, sous-famille des papilionacées et à la tribu des genistées [27].

Ce genre dont le nom paraît dériver de l'ancien mot Gaulois Gen, qui signifie arbuste. Parmi les 700 genres de la famille des *Fabaceae*, en Algérie on trouve environ 53 genres et 337 espèces [28]. Le genre *Genista* (*Fabaceae*) consistant en environ 100 espèces principalement réparties en méditerranée en Asie occidentale [29] est présente en Algérie avec 25 espèces et sous-espèces dont 11 sont endémiques [11].

#### I.A.2.2. Description du Genre *Genista*

Les plantes du genre *Genista*, sont des arbrisseaux épineux ou parfois inermes et junciformes, caractérisées par des feuilles mono à tri-foliolées, stipulées ou non. Le calice est à 5 segments, les 2 supérieurs libres ou soudés, les 3 inférieurs formant une lèvre à 3 dents profondes. Plus rarement, le calice est campanulé à 5 dents subégales. La carène est oblongue, dressée, biggibeuse latéralement. L'étendard est étroit. Les 10 étamines (5 longues et 5 courtes) sont monadelphes, en tube non fendu. Le stigmate est oblique. La gousse est déhiscente et variable. Les graines sont non arillées [13].



**Figure I.2 :** Espèce *Genista numidica* Spach.



### I.A.2.3. Distribution et aire géographique

Le genre *Genista* est largement distribué dans le bassin méditerranéen, en Europe et en Afrique du nord (Libye, Tunisie, Algérie et Maroc). En Algérie, il est localisé dans la région est et sud est et au grand Sahara [30]. Les espèces du genre ont une grande plasticité écologique, elles sont présentes dans des territoires soumis à des conditions bioclimatiques très différentes, depuis les zones semi-arides jusqu'aux zones très humides [31].

### I.A.2.4. Principaux métabolites secondaires du Genre *Genista*

D'après une recherche bibliographique réalisée sur les espèces du Genre *Genista*, permis qu'elles contiennent d'une variété de métabolites secondaires de divers types, les substances dominantes sont les alcaloïdes [32], les isoflavonoïdes [33-34] et les flavonoïdes [4-7], [35-36], et qui sont biologiquement actifs.

### I.A.2.5. Utilisation en médecine traditionnelle

Certaines espèces du genre *Genista* sont utilisées en médecine traditionnelle populaire pour guérir les nombreuses maladies, On citera par exemple :

*Genista tenera* : l'infusion des parties aériennes de cette espèce est utilisée dans la médecine traditionnelle Portugaise pour traiter le diabète [37].

*G. anglica* et *G. germanica* : ses deux plantes sont préconisées en tant que diurétiques pour le traitement de néphrolithiase et encore contre la goutte [38-39].



**Figures I.3 :** Trois espèces de genre *Genista* (*G.tenera*, *G.anglica*, *G.germanica*).

### **I.B.1. Etude bibliographique**

*Genista aspalathoides* Lamk. ssp. erinaceoides (Lois) est une espèce endémique présente dans la région sud est algérien [40].

### **I.B.2. Place dans la systématique**

La classification botanique de l'espèce étudiée est présentée comme suit :

**Règne :** Plantae

**Embranchement :** Spermaphytes

**Sous-embranchement :** Angiospermes

**Classe :** Dicotylédones

**Ordre :** Fabales

**Famille :** Fabacées

**Tribu :** Genisteae

**Genre :** *Genista*

**Espèce :** *Genista aspalathoides* Lamk. ssp. erinaceoides (Lois).

### **I.B.3. Description botanique**

▪ ***G. aspalathoides* Lamk. ssp. erinaceoides (Lois)**

C'est un petit arbrisseau, de 10 à 50 cm. à tiges très rameuses, tortueuses, et dont les rameaux portent des renflements sur les côtés, leur ensemble forme un buisson serré et épineux. On le trouve dans les fentes des rochers et sur les coteaux, les fleurs jaunes, stigmate unilatéral forment une lame sur la face [3]. On reconnaît cette espèce aux caractères suivants [28] : Les feuilles sont entières, c'est-à-dire réduites à une seule foliole, sans pétiole et sans stipules, relativement petites, étroites et poilues. Les fleurs sont isolées ou groupées par 2 à 4 ; l'étendard est à peu près de la même longueur que la carène, il est couvert de petits poils et la carène est velue. Le fruit mûr, d'environ 10 à 15 millimètres de longueur sur 3 à 4 de largeur, est brun et couvert de petits poils. (Assez souvent, les fleurs sont très poilues et à étamines libres, ce qui est dû à un parasite).

#### **I.B.4. Répartition géographique**

Les parties aériennes ont été collectées pendant la floraison en mai 2009 près de M'Sila dans le sud est Algérien [40], les **figure I.4; I.5** et **I.6** représentent des photos de cette plante :



**Figure I.4 :** Photo les tiges de *G. aspalathoides* Lamk. ssp. *erinaceoides* (Lois).



**Figure I.5 :** Photo les fleurs de *G. aspalathoides* Lamk.



**Figure I.6 :** Photo petit arbrisseau de *G. aspalathoides* Lamk.

### I.B.5. Screening Chimique

Est une analyse qualitative basée sur des réactions de précipitations et / ou de colorations. Ces dernières permettent de définir la présence ou non de métabolites secondaires tels que les coumarines, les saponines, les quinones, les flavonoïdes, les alcaloïdes, les anthocyanines et les tannins dans les différents organes (feuilles, tiges et fruits) de la plante [41].

**Tableau I.2 :** Les tests de caractérisation phytochimique réalisés sur les différentes substances chimiques.

Les Composés	Caractérisation
Alcaloïdes [42]	Réaction de précipitation
Coumarines [43]	Une fluorescence intense
Stérols [44]	- Un changement de couleur rapide a indiqué la présence de composés stéroïdiens saturés.  -L'apparition d'une couleur rouge cerise montre la présence des stérols insaturés.
Terpènes [44]	Couleur devenue verte foncée.
Triterpènes [45]	La formation d'un anneau marron
Tanins catéchiques [46]	L'apparition d'une coloration ou la formation d'un précipité
Tanins galliques [44]	La formation d'un précipité
Flavonoïdes [47]	Les colorations suivantes :  Rouge, jaune-rougeâtre, rouge à rouge violacé, rouge foncé ou violet ou bleu, jaune et rose peuvent être observés.
Leucoanthocyanes [47]	Coloration rouge
Saponines [48]	L'apparition d'une mousse persistante
Anthocyanes [49]	Coloration bleu-violacée
Quinones [50]	Coloration rouge –violet

## I.B : Etude chimique de l'espèce *G. aspalathoides* Lamk. ssp. *erinaceoides* (Lois)

Les résultats du screening phytochimique de *G. aspalathoides* Lamk. ssp. *erinaceoides* (Lois.) Sont consignés dans le **Tableau I.3**.

- Réaction positive : +
- Réaction négative : -

**Tableau I.3** : Résultats globaux de la recherche de groupe de substances naturelles identifiées dans la plante *Genista aspalathoides* Lamk. ssp. *erinaceoides* (Lois) [40].

Groupes chimiques	Tiges
Alcaloïdes	+
Coumarines	-
Stérols	+
Terpènes	+
Triterpènes	+
Tanins	-
Flavonoïdes	++
Leuco anthocyanes	-
Saponines	+
Anthocyanes	-
Quinones	-

On ne constate que les métabolites secondaires, tels que les flavonoïdes, alcaloïdes, Stérols, triterpènes, terpènes et saponines, sont présents dans cette espèce.

### I.B.6. Extraction de *Genista aspalathoides* Lamk

Les parties aériennes (2700g) desséchées ont été macérées à température ambiante par un Mélange hydroalcoolique (Ethanol/Eau : 80 : 20 V/V) pendant 3x48 heures, puis fractionnées par extraction liquide/liquide successives au chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol [40].

La **figure I.7** représente toutes les étapes suivies pour l'extraction de cette espèce.

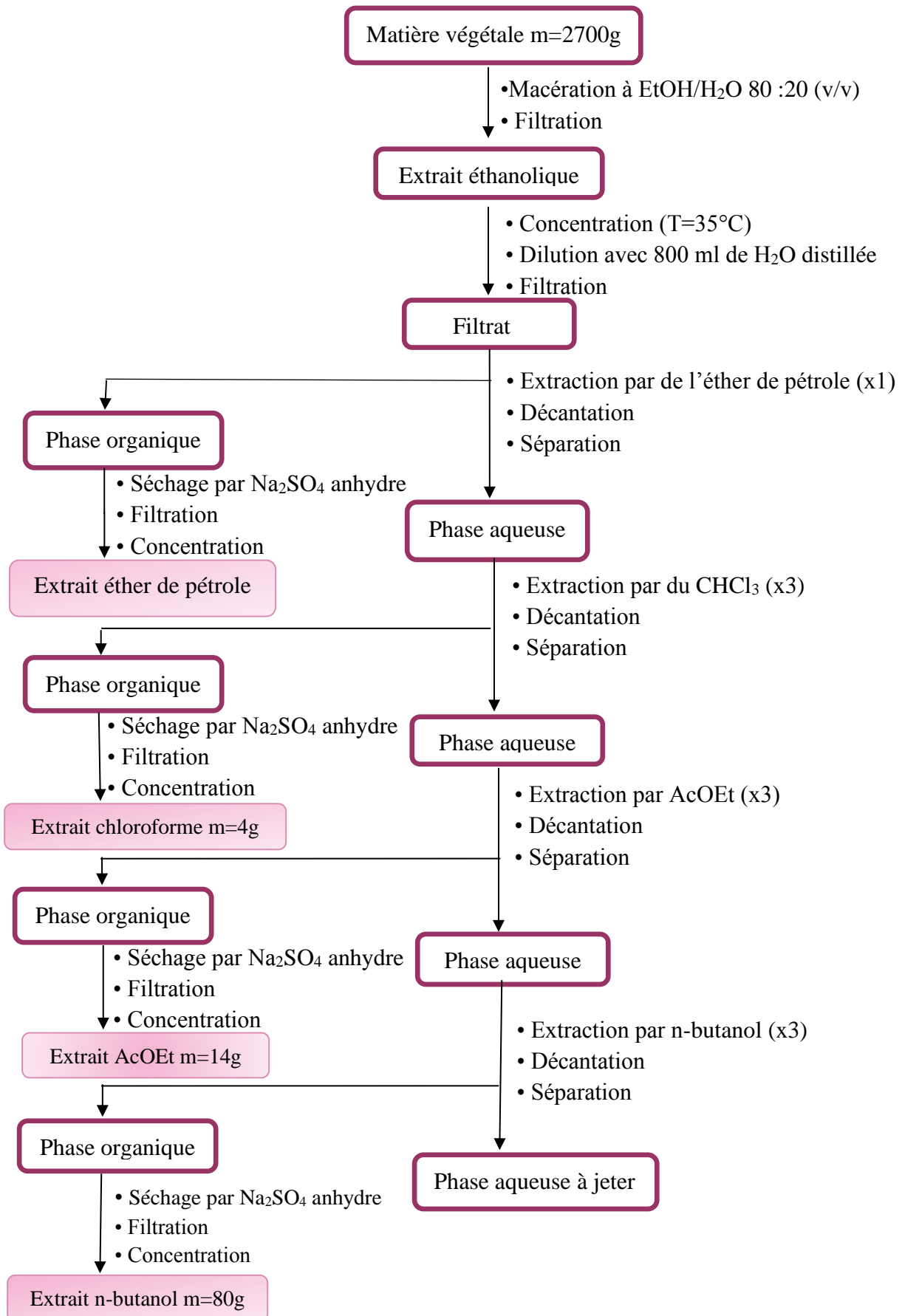


Figure I.7 : Organigramme récapitulatif des étapes d'extraction de l'espèce *G. aspalathoides* Lamk.

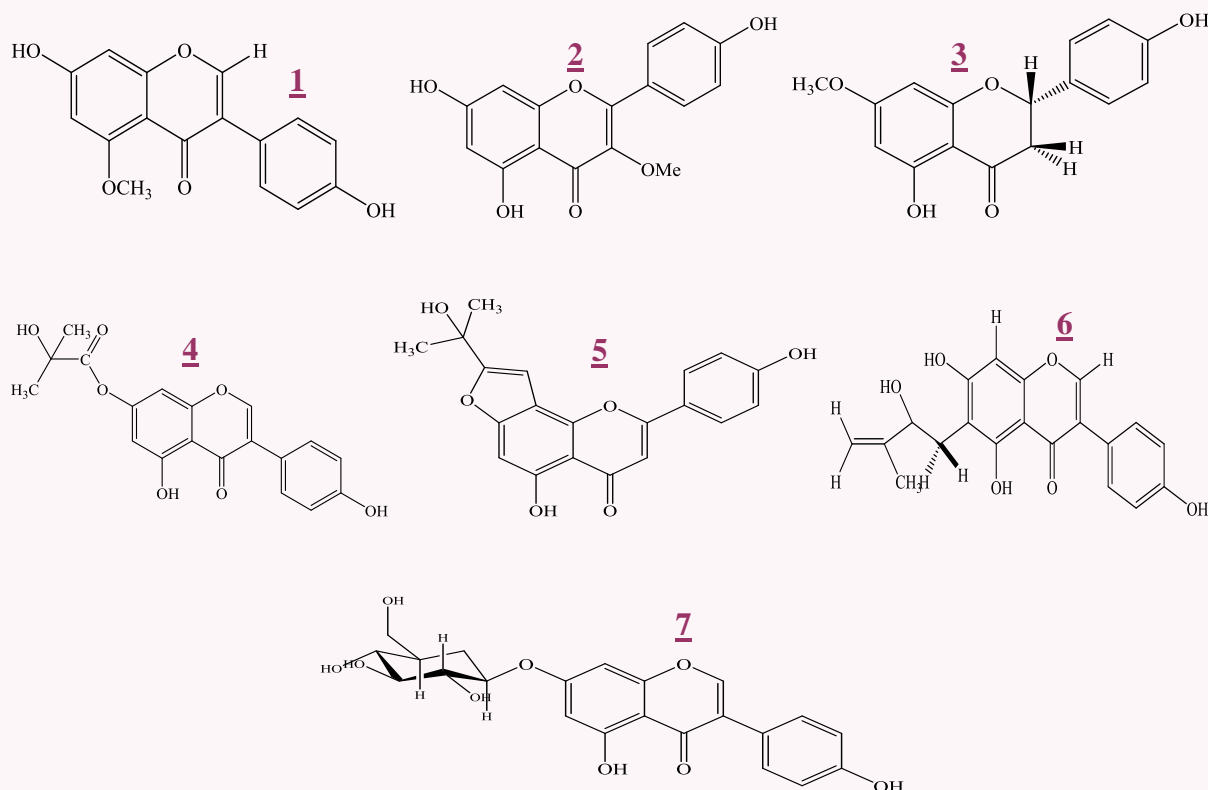


**I.B.7. Les produits isolés de *G. aspalathoides* Lamk. ssp. erinaceoides (Lois)**

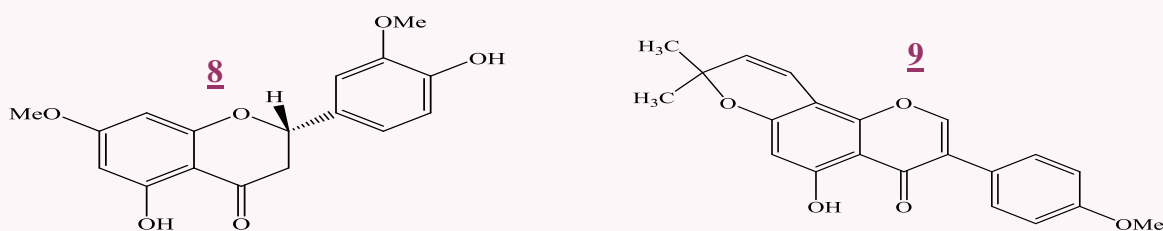
L'étude chromatographie de l'extrait Acétate d'éthyle et l'extrait Chloroforme de *Genista aspalathoides* Lamk. ssp. erinaceoides (Lois) a conduit à l'isolement de 09 produits notamment les isoflavones et les flavonoïdes sont une classe très répandue dans le genre *Genista* appartenant à la famille des fabacées.

La **figure I.8** représente les produits isolés de *Genista aspalathoides* Lamk. ssp. erinaceoides (Lois) de la phase Acétate d'éthyle et de la phase chloroformique [40]:

Les produits isolés de la phase acétate d'éthyle :



Les produits isolés de la phase chloroformique :



**1/** 5-O-Méthyl génisteine ou Isopruneite.

**2/** kaempferol 3 méthyle éther (Isokaempferide).

**3/5,** 4'-dihydroxy-7- méthoxyflavanone (sakuranetine).

**4/7-** 2-hydroxyisobutyrate (génistéine).

**5/** 5-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl) -8-isopropyl-4H-furo[2,3-h] chromen-4-one.

**6/** 5,7-dihydroxy-6-(2-hydroxy-3-methylbut-3-enyl)-3-(4-hydroxyphenyl)-4H-chromen-4-one (Laburnetine).

**7/** Génisteine -7-O-  $\beta$  – glucoside.

**8/** 5,4'-dihydroxy-7,3'-dimethoxyflavanone (Eriodictyol 7,3'-dimethyl ether).

**9/** 4'-O-Methylderrone.

**Figure I.8 :** Les produits isolés de *G. aspalathoides* Lamk. ssp. *erinaceoides* (Lois).



**Chapitre II**

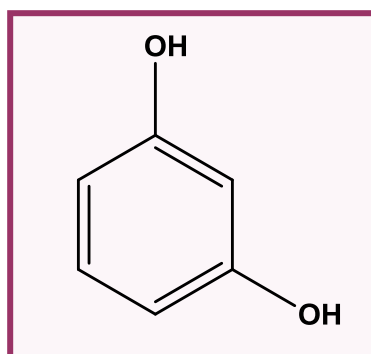
**Les composés phénoliques**

### II.1. Généralités

Le terme « polyphénols » est fréquemment utilisé dans le langage courant et même dans des articles scientifiques ou de vulgarisation pour désigner l'ensemble des composés phénoliques des végétaux [51].

Ces composés regroupent une multitude de molécules et représentent l'un des groupes les plus importants présents dans le règne végétal [52-54].

Dans la littérature il existe deux propositions pour définir les polyphénols. La première les définit comme étant une structure moléculaire qui porte plusieurs groupements phénoliques tandis que la deuxième indique la présence d'un groupement phénol polyhydroxylé (**figure II.1**). Ces polyphénols sont des métabolites secondaires synthétisés par les végétaux pour se défendre contre les agressions environnementales [55]. Il s'agit des dérivés non azotés connus par une grande variété structurale dont environ 8000 composés ont été identifiés [56].



**Figure II.1 :** Structure d'unité de base des polyphénols.

Les polyphénols sont caractérisés par la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction éther, ester, hétéroside [57].

### II.2. Biosynthèse

Les composés phénoliques sont issus par deux grandes voies métaboliques :

#### II. 2.1. La voie de l'acide shikimique

La voie la plus courante est celle dite de l'acide shikimique. Elle conduit des oses aux acides aminés aromatiques (phénylalanine et tyrosine) puis par désamination de ces derniers, aux

## CHAPITRE II : Les Composés Phénoliques

---

acides cinnamiques et à leurs très nombreux dérivés : acide benzoïques, acétophénones, lignanes et lignines, coumarine [58].

### II.2.2. La voie de l'acétate/malonate

Cette voie démarre de l'acétate et conduit à des poly-cétoesters ou polyacétates (malonate) de longueur variable. Les polyacétates mènent par cyclisation (réaction de Claisen,..) à des composés souvent polycycliques: chromones, isocoumarines.... [59].

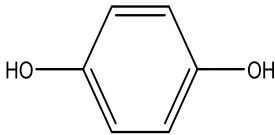
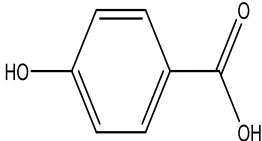
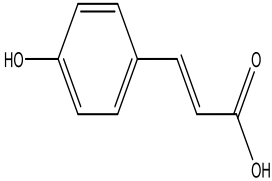
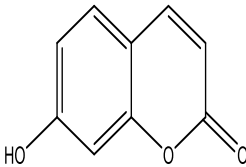
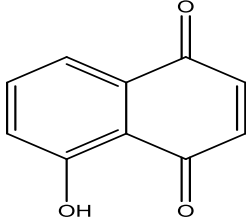
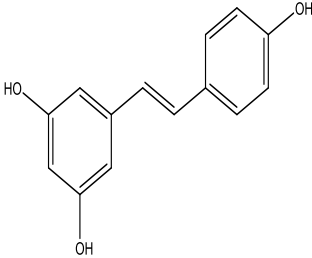
De plus la diversité structurale des composés phénoliques est due à leur double origine synthétique « la voie de shikimate et de l'acétate / malonate ». Elle augmente souvent avec la participation simultanée de ces deux voies conduisant à l'élaboration de composé mixtes (Flavonoïdes, stilbène, xanthones...etc.) [60].

### II.3. Classification des composées phénolique

Les composés phénoliques forment un très vaste ensemble de substances chimiques, ils peuvent être classés par le nombre et l'arrangement des atomes de carbone (**Tableau II.1**) qui les composent, en fonction de la nature de leur squelette carbone et en fonction de la longueur de la chaîne aliphatique liée au noyau benzénique [60].

## CHAPITRE II : Les Composés Phénoliques

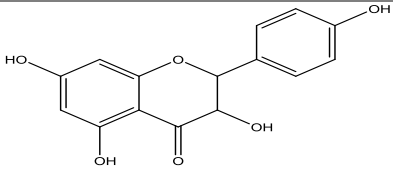
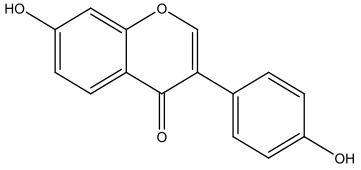
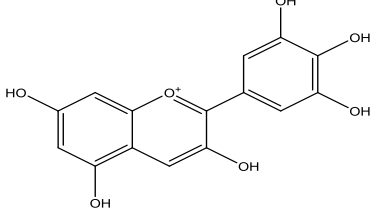
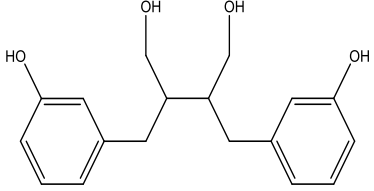
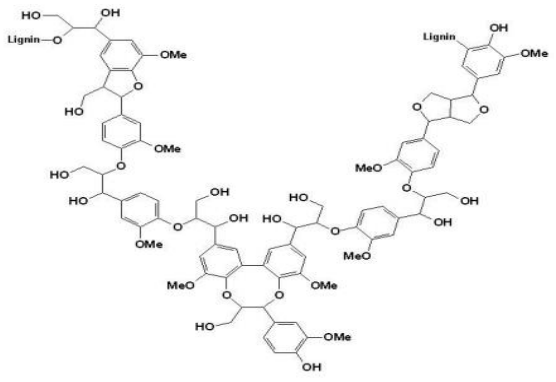
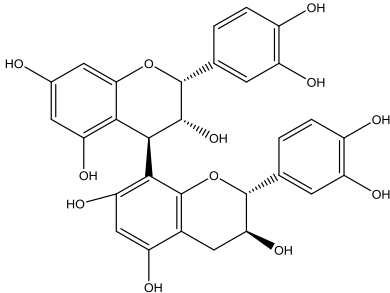
**Tableau II.1** : Principales classes de composés phénoliques [61]

COMPOSES PHENOLIQUES				
Squelette carboné	Classe	Exemple	Forme	Origine
C6	Phénols simples	Hydroquinone		Busserole
C6-C1	Acides hydroxybenzoïques	Acide p-hydroxybenzoïques		Epices, fraises
C6-C3	Acides hydroxycinnamiques	Acide p-coumarique		Tomates, ail
C6-C3	Coumarines	Ombélliférone		Carottes, coriandre
C6-C4	Naphtoquinones	Juglone		Noix
C6-C2-C6	Stilbénoïdes	Trans-resvératrol		Raisin



## CHAPITRE II : Les Composés Phénoliques

**Tableau II.1** : Principales classes de composés phénoliques (suite)

COMPOSES PHENOLIQUES				
Squelette carboné	Classe	Exemple	Forme	Origine
C6-C3-C6	Flavonoïdes	Kaempférol		Fraise
C6-C3-C6	Isoflavonoïdes	Daidzéine		Grain de soja
C6-C3-C6	Anthocyanes	Delphinidol		Raisin Cabernet-sauvignon
(C6-C3) <sub>2</sub>	Lignanes	Entérodiol		Bactéries intestinales
(C6-C3) <sub>n</sub>	Lignines			Bois, fruits à noyaux
(C6-C3-C6) <sub>n</sub>	Tanin condensés	Procyanidol		Raisins, KaKi

### II.3.1. Les acides phénoliques simples

#### II.3.1.1. Acides hydroxycinnamiques

Ils dérivent de l'acide cinnamique et ont une structure générale de base de type (C6-C3), ils ont une distribution très large rarement libres. Ils existent souvent sous forme combinée avec des molécules organiques. Les Principaux acides hydroxycinnamiques sont l'acide cinnamique, l'acide p-coumarique, l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide sinapique [54].

#### II.3.1.2. Acides hydroxybenzoïques

Ce sont des dérivés de l'acide benzoïque et ont une structure générale de base de type (C6-C1). Ces molécules existent souvent sous forme d'esters ou de glycosides. Les Principaux acides hydroxybenzoïques sont l'acide benzoïque, l'acide p-hydroxybenzoïque, l'acide Protocatechique, l'acide vanillique, l'acide gallique, l'acide syringique, l'Acide salicylique [51].

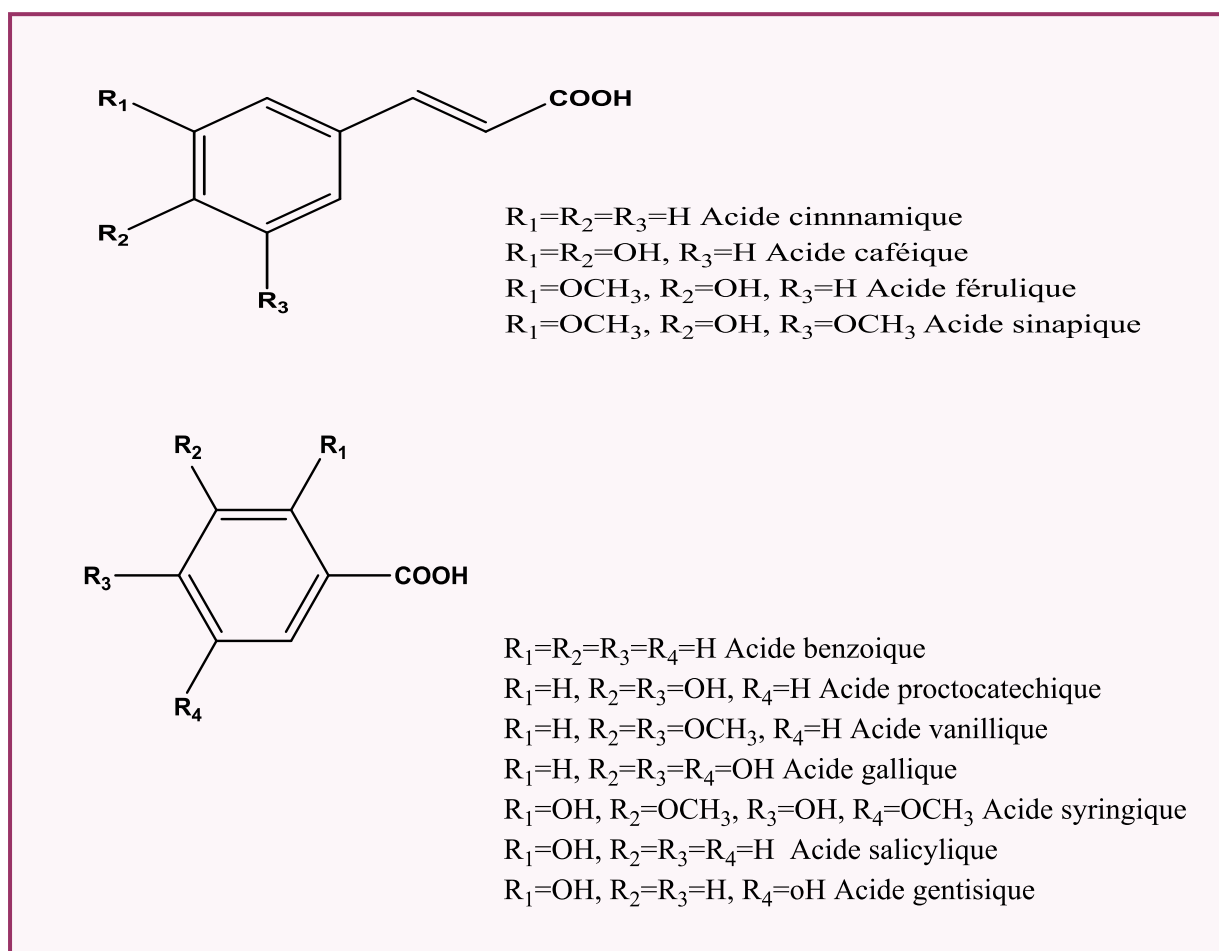
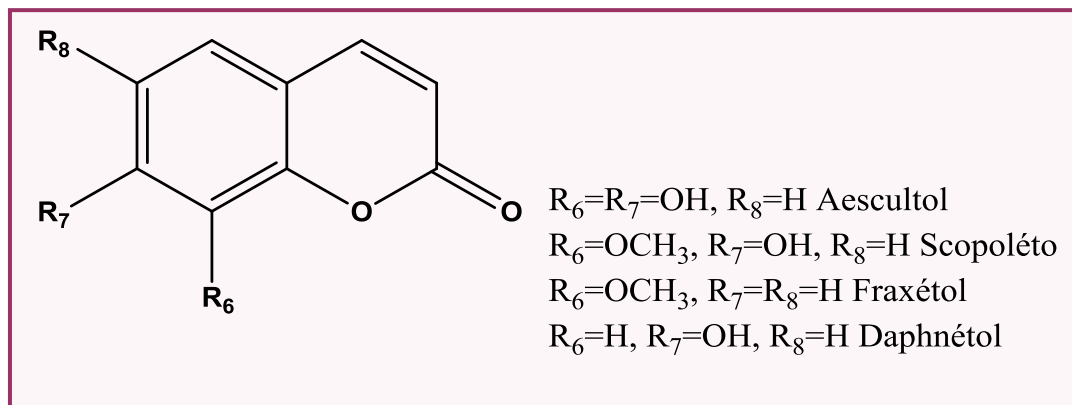


Figure II.2 : Dérivés d'acides phénoliques.

### II.3.1.3. Coumarines

Les coumarines dérivent des acides hydroxycinnamiques par cyclisation interne de la chaîne latérale. Les Principaux types de coumarines sont l'Ombélliférone, l'aescultol, Scopoléto, Fraxéto, Daphnéto [51].



### II.3.2. Stilbènes

Les stilbènes sont des composés formés de deux noyaux aromatiques liés par un groupe éthylénique (C6-C2-C6). Ce sont des phytoalexines, composés produits par les plantes en réponse à l'attaque par les microbes pathogènes fongiques, bactériens et viraux. Le resvératrol un des stilbènes les plus connus, et qui a été largement étudié pour ses propriétés anticancéreuses [62].

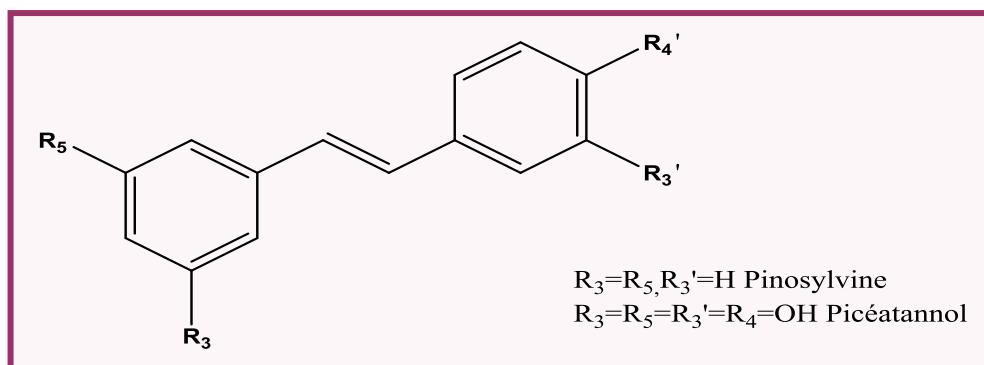


Figure II.4 : Quelques exemples des structures chimiques des stilbènes.

### II.3.3. Flavonoïdes et isoflavonoïdes

#### II.3.3.1. Les flavonoïdes

Occupant une place prépondérante dans le groupe des phénols, les flavonoïdes sont des métabolites secondaires ubiquistes des plantes. On estime que 2 % environ du carbone

## CHAPITRE II : Les Composés Phénoliques

organique photosynthétisé par les plantes, soit quelques 109 tonnes par an, est converti en flavonoïdes [63].

### II.3.3.1.1. Historique

Les flavonoïdes n'ont pris leur essor dans la pharmacopée occidentale que depuis quelques années, même si leur biodisponibilité n'est pas encore complètement élucidée. Ils ont été isolés par le scientifique **E. Chervreul** en 1814 mais réellement découverts en 1937 par Albert Szent-Györgyi qui mit en exergue leur influence pour réduire la perméabilité des vaisseaux sanguins. Ce scientifique hongrois reçut le prix Nobel pour ses recherches sur la vitamine C et les propriétés biochimiques des flavonoïdes [64].

### II.3.3.1.2. Définition

Les flavonoïdes sont des substances naturelles qui forment le groupe le plus répandu dans le règne végétal. Ils font partie de la classe des polyphénols, principaux métabolites secondaires des plantes. Ils possèdent une diversité structurale très importante. En effet, plus de 9000 structures ont été identifiées [58], [65]. Ces diverses structures se rencontrent aussi bien sous la forme libre (aglycone) que sous forme de glycosides. Ils jouent un rôle important dans la protection des plantes [58].

Le terme Flavonoïdes (de flavus, « jaune » en latin) est le terme générique pour des composés basés sur un squelette à 15 atomes de carbones, qui à son niveau le plus simple, consiste en deux cycles phényles (A et B), connectés par un pont à trois carbones (structure en C6-C3-C6) [66]. (figure II.5).

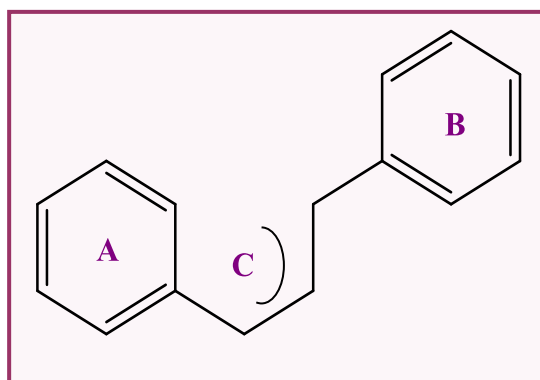


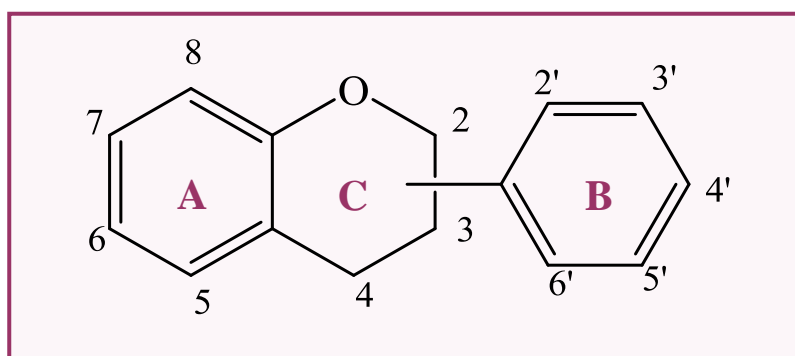
Figure II.5 : Squelette de base des flavonoïdes.

## CHAPITRE II : Les Composés Phénoliques

Dans la plupart des cas, les flavonoïdes sont présents sous forme glycosidique dans les vacuoles des fleurs, des feuilles, des tiges ou des racines. Les flavonoïdes aglycones, notamment les flavonoïdes simples et polyméthylés, sont plutôt présents sous forme de cires dans les feuilles, les écorces, les bourgeons floraux [67].

### II.3.3.1.3. Classification des flavonoïdes

Les flavonoïdes se divisent en plusieurs classes qui se distinguent par une diversité structurale selon le degré d'oxydation du noyau pyranique central lequel peut être ouvert et recyclées en un motif furanique (dihydrofuranone), (la chaîne en C3) [68]. Le noyau B est relié à l'hétérocycle C dans les positions 2 et 3. (**figure II.6**)



**Figure II.6** : Différentes positions du cycle B sur l'hétérocycle C.

- Dans la position 2 : Le flavonoïde est appelé **flavane**.
- Si la position 4 de la flavane porte un groupement carbonyle, le flavonoïde est appelé **flavanone**.
- Si la liaison C2-C3 dans le squelette de la flavanone est insaturée le composé est nommé **flavone**.
- Si ce dernier est substitué en position 3 par un groupement hydroxyle, il est désigné par le nom de **flavonol**.

Par ailleurs, selon le degré d'hybridation des carbones de la chaîne en C-3 et le mécanisme de cyclisation de cette chaîne, on distingue d'autres squelettes flavoniques telles que les chalcones, les dihydrochalcones, les auronnes et les anthocyanes. (**Tableau II.2**)

## CHAPITRE II : Les Composés Phénoliques

**Tableau II.2 :** Les différentes classes de flavonoïdes.

Classes	Structure chimiques	R3'	R4'	R5'	Exemples
Flavones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH3	H	Diosmétine
Flavonols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myrecétine
Flavanols		OH	OH	H	Catéchine
Flavanones		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
Anthocyanidines		H	OH	H	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine

## CHAPITRE II : Les Composés Phénoliques

### II.3.3.1.4. Distribution et localisation

Les flavonoïdes sont largement abondants dans les légumes, feuilles (salade, choux, épinards etc.), ainsi que dans les téguments externes des fruits.

Récemment, de nombreux travaux ont montré que certains fruits et légumes sont très riches en flavonols, flavones et flavanones [69-72].

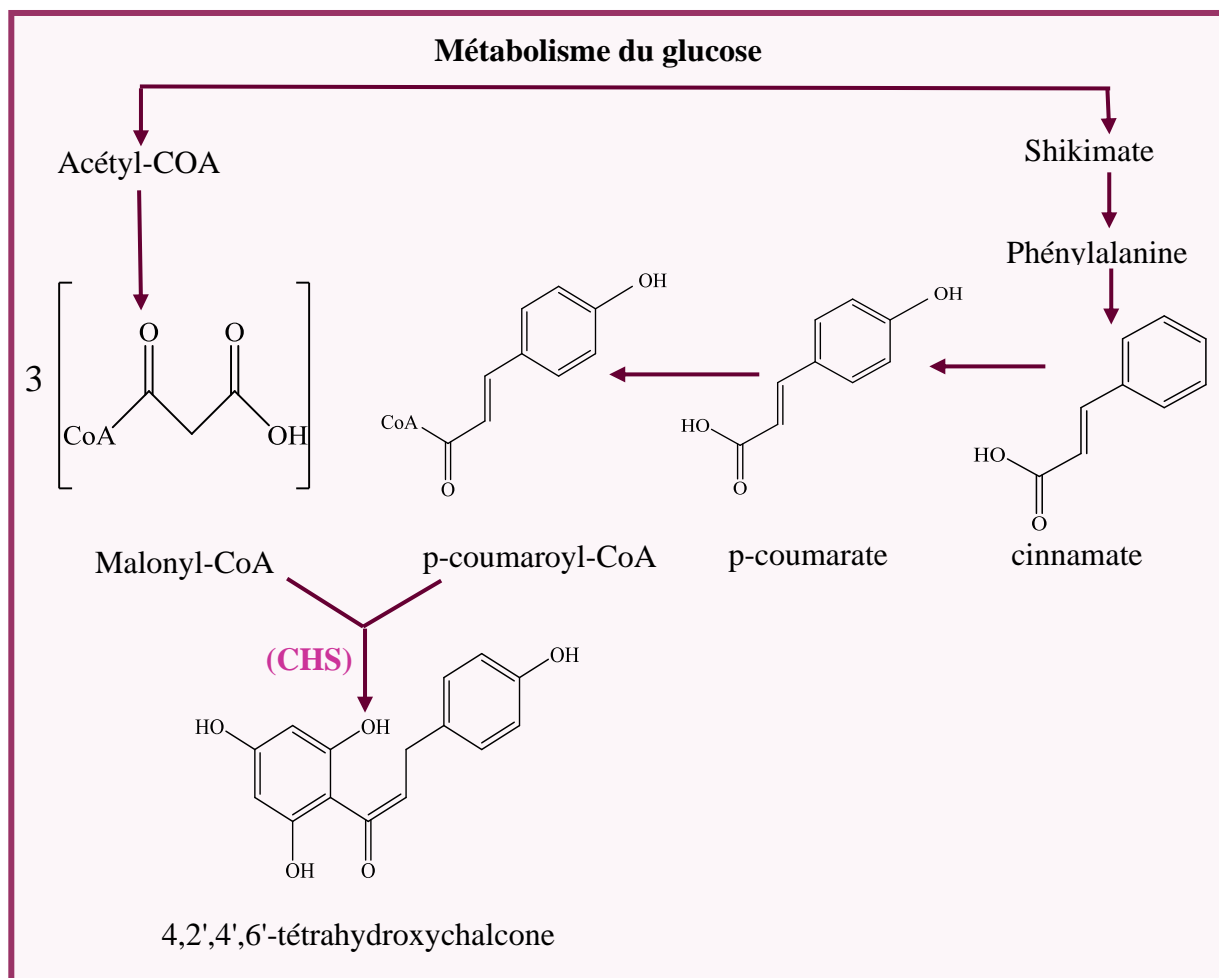
**Tableau II.3** : La distribution nutritionnelle de certains flavonoïdes.

Flavonoïdes	Aliment
Flavonols	
Kaempférol	Radis, brocoli, thé noir
Quercétine	Oignon, pomme, olive, vin rouge, tomate
Myricétine	Canneberge, vin rouge
Quercétine-3-glucoside	Oignon
Quercétine-3-rhamnoglucoside	Thé noir
Flavones	
Chrysine	Peau des fruits
Apigénine	Persil, thym, romarin, céleri
Lutéoline	Persil, céleri
Lutéoline-7-apiosylglucoside	Poivron rouge
Flavonones	
Naringénine	Fruits des genres citrus
Hesperitine-7-rhamnoglucoside	Jus d'orange
Naringénine-7-rhamnoglucoside	Jus d'orange
Flavon-3-ols	
Épicatéchine	Thé vert, thé noir
Catéchine	Thé vert, thé noir, pomme
Epigallocatechine	Vin rouge
Anthocyanidol	
Cyanol	Cassis, myrtille
Malvidol	Raisin, fraise, cassis
Apigénidol	Framboise, fraise
Isoflavones	
Genistéine-7-glucoside	Soja
Daidzéine-7-glucoside	Soja

### II.3.3.1.5. La Biosynthèse des flavonoïdes

Les flavonoïdes possèdent tous le même élément structural de base, car ils dérivent d'une origine biosynthétique commune. Le cycle A est formé à partir de trois molécules de malonyl-coenzyme A (malonyl-CoA), issues du métabolisme du glucose. Les cycles B et C proviennent eux aussi du métabolisme du glucose, mais par la voie du shikimate via la phénylalanine qui est convertie en p-coumarate puis en p-coumaroyl-CoA. (**figure II.7**)

Le p-coumaroyl-CoA et les 3 malonyl-CoA se condensent en une seule étape enzymatique pour former une chalcone, la 4, 2',4', 6'-tétrahydroxychalcone (réaction catalysée par la chalcone synthétase **CHS**, enzyme-clé dans la formation des flavonoïdes). Le cycle C se forme par cyclisation de la chalcone, réaction catalysée par la chalcone-isomérase (**figure II.7**). Ce cycle s'hydrate ensuite pour former les différentes classes de flavonoïdes [63].



**Figure II.7 :** Voie biosynthétique conduisant aux chalcones.

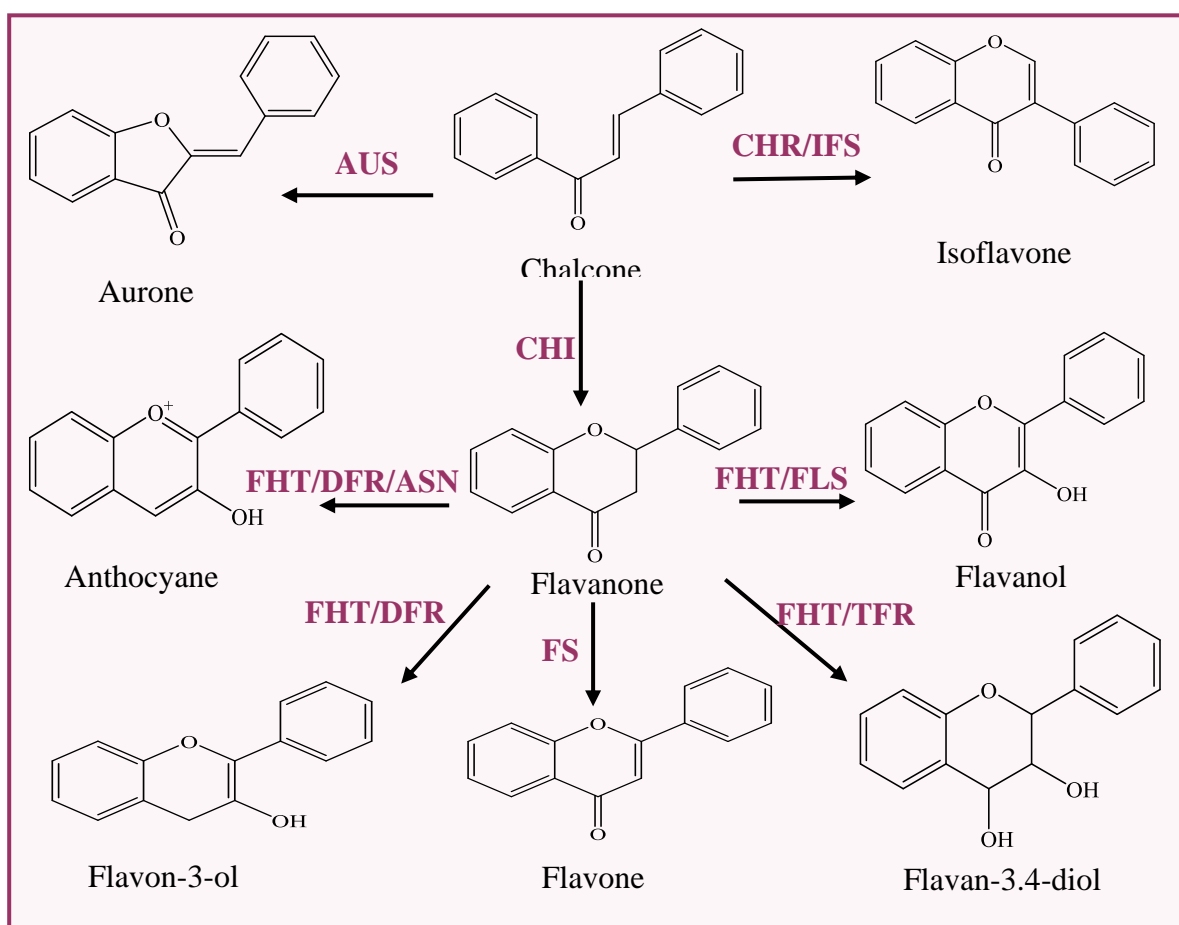


## CHAPITRE II : Les Composés Phénoliques

Le **tableau II.4** rassemble la liste des enzymes impliquées dans les différentes étapes de biosynthèse des flavonoïdes et isoflavonoïdes présentées dans la **figure II.8** et la **figure II.9** :

**Tableau II.4** : Liste des enzymes.

Abréviations	L'enzyme
<b>CHI</b>	Chalcone-isomerase
<b>CHR</b>	Chalcone-réductase
<b>IFS</b>	Isoflavone-synthase
<b>AUS</b>	Aurone-synthase
<b>FHT</b>	Flavanone-3-hydroxylase
<b>DFR</b>	Dihydroflavonol-réductase
<b>ANS</b>	Anthocyanine-synthase
<b>FLS</b>	Flavonol-synthase
<b>FSI</b>	Flavone-synthase



**Figure II.8** : Voies de biosynthèse des flavonoïdes [73].

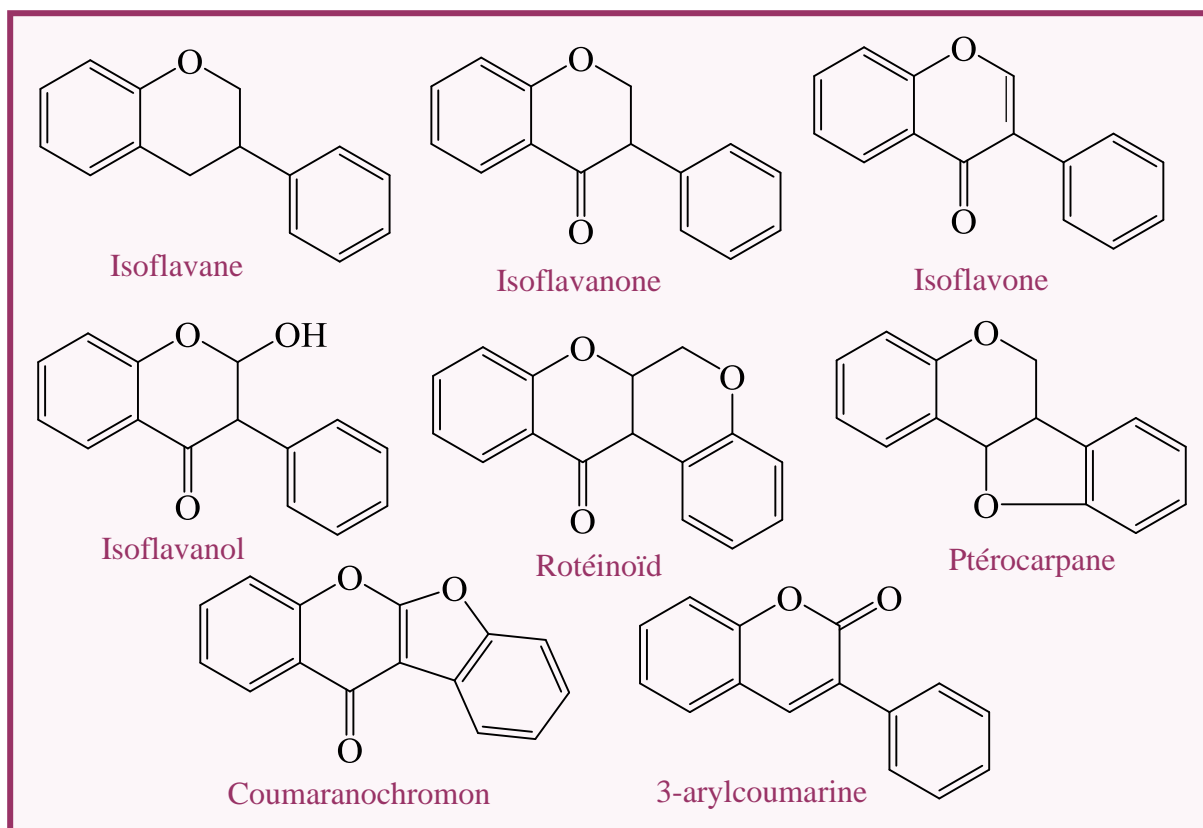
### II.3.3.2. Les Isoflavonoïdes

#### II.3.3.2.1. Définition

Les isoflavonoïdes représentent une sous-classe importante et très distinctive des flavonoïdes, toutes les molécules de ce groupe sont caractérisées par un squelette de 15 atomes de carbone comme les flavonoïdes mais réarrangé selon un motif 1, 2- diphénylpropanique [74]. La distribution des isoflavonoïdes dans le règne végétal est très restreinte, elle est presque spécifique à la famille des fabales (légumineuses), sous famille des fabacées (papilionacées) [68], [74-75].

#### II.3.3.2.2. Classification des isoflavonoïdes

Les Isoflavonoïdes diffèrent des autres flavonoïdes par la position du cycle B, qui dans le cas des isoflavonoïdes est attaché en position 3 (en 2 pour les autres flavonoïdes), formant un squelette de base 1,2-diphénylpropane. Il existe de nombreuses sous-classes d'isoflavonoïdes (**figure II.9**), classés notamment en fonction du degré d'oxydation, l'existence ou non d'hétérocycles supplémentaires, les plus communs étant les isoflavones, alors que les isoflavanols et les coumaranochromones sont peu rencontrés [68]. Les dérivés glycosylés sont très communs chez les isoflavones, alors qu'ils sont très rares dans les autres sous-classes d'isoflavonoïdes. Les C-glycosides sont essentiellement présents dans le genre *Dalbergia* (Leguminosae) [68].



**Figure II.9 :** Structures des différentes sous-classes d'isoflavonoïdes.

### II.3.3.2.3. Distribution

Les isoflavonoïdes, en particulier les aglycones, sont présents dans les racines, les rhizomes, le bois, l'écorce, les graines et quelquefois dans les feuilles et fleurs [68]. Contrairement aux flavonoïdes, composés ubiquitaires dans le règne végétal, les isoflavonoïdes sont presque exclusivement présents chez les Légumineuses. En effet, 85% d'entre eux ont été isolés de cette famille [68]. Il apparaît néanmoins qu'au moins 225 isoflavonoïdes décrits ont été isolés de plantes appartenant à 59 autres familles [76]. Comme chez les Légumineuses, la majorité des isoflavonoïdes isolés sont des isoflavones [77].

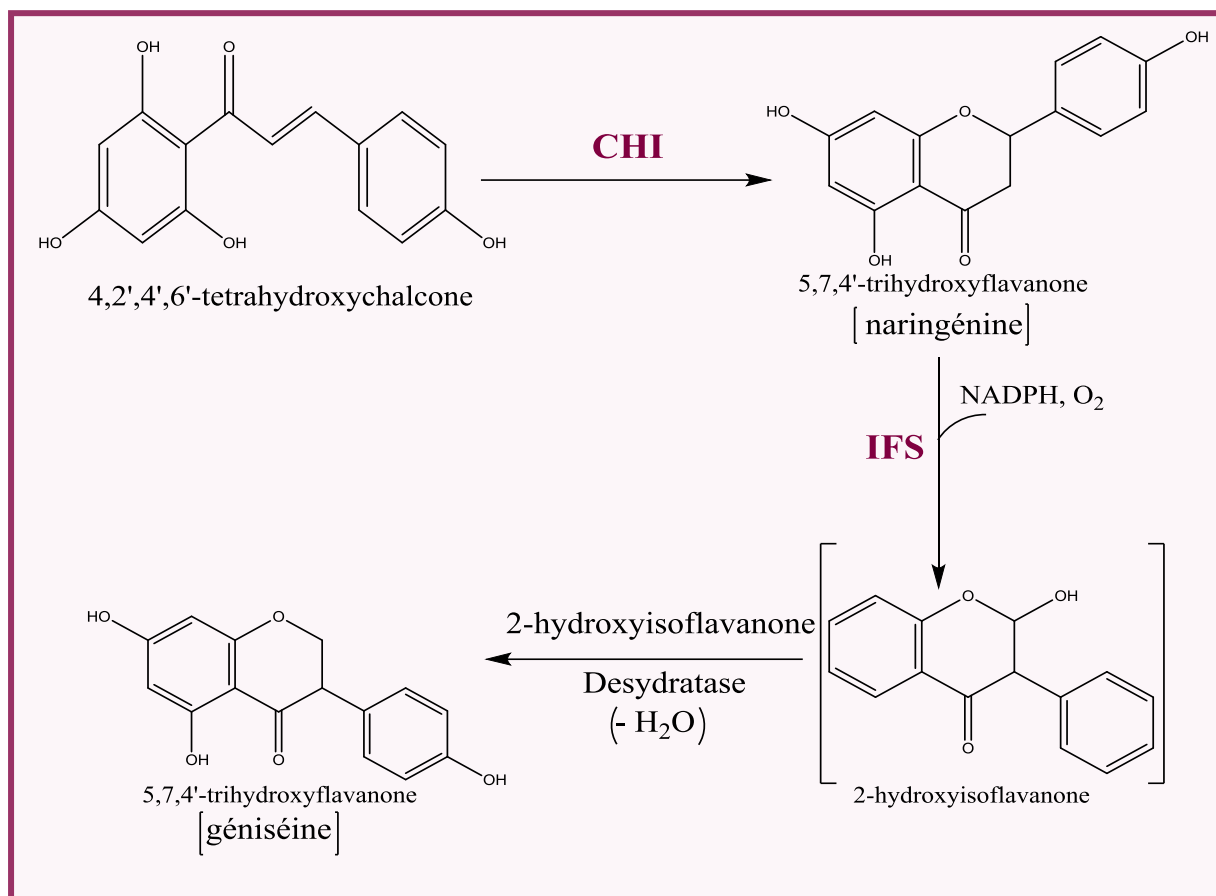
### II.3.3.2.4. Biosynthèse

Des progrès remarquables ont été fournis ces quelques dernières années dans le but d'élucider la biosynthèse des isoflavones [78-82]. Le mécanisme proposé pour la biosynthèse des isoflavonoïdes forme une branche de la voie biosynthétique des flavonoïdes.

Les isoflavonoïdes proviennent de la flavanone intermédiaire centrale « naringénine (4', 5, 7-trihydroxyflavanone) dans le cas de la genistéine » et « liquiritigénine (4',7- dihydroxyflavanone) dans le cas de la daidzéine » qui sont omniprésentes dans les plantes. Pour entrer

## CHAPITRE II : Les Composés Phénoliques

dans la voie biosynthétique des isoflavonoïdes, la flavanone subit en premier lieu le départ d'un radical hydrogène à C-3 suivi de la migration du cycle B sous forme radicalaire de C-2 à C-3 et l'hydroxylation du radical C-2. L'enzyme responsable de cette transformation est l'isoflavone synthase (IFS) [83-84]. Le schéma II-9 montre les différentes étapes de formation de la génistéine.



**Figure II.10 :** Le mécanisme réactionnel de la biosynthèse de la génistéine par catalyse enzymatique [81-84].

### II.3.3.3. Le rôle des flavonoïdes dans les plantes

Les flavonoïdes sont des pigments responsables de la coloration des fleurs et représentent des signaux visuels qui attirent les animaux pollinisateurs. La plupart de ces pigments sont des anthocyanes hydrosolubles (qui sont des flavonoïdes jaunes réduits), des aurones et des chalcones. De ce fait, ils jouent un rôle important dans les interactions avec les insectes (attraction et rôle dans la pollinisation entomophile et la dispersion des graines) [63], [85].

### II.3.4.4. Les activités biologiques des flavonoïdes

- Anti-tumorales [86].
- Anti-carcinogènes [87].
- Anti-inflammatoires [88].
- Hypotenseurs et diurétiques [58].
- Antioxydants [89].

### II.3.4. Les anthocyanes

Les anthocyanes (du grec anthos, fleur et Kuanos, bleu violet), terme général qui regroupe les anthocyanidols et leurs dérivés glycosylés (anthocyanosides) [90]. Les anthocyanes donnent des couleurs très variées : bleu, rouge, mauve, rose. Ces molécules ont, comme les flavonoïdes, un squelette de base en C15 formé de deux cycles A et B, et d'un hétérocycle (cycle C) ; mais leur caractéristique principale est que ce dernier est chargé positivement. Cette charge est due à leur structure de base commune : le cation flavylum ou 2 phényl 1-benzopyriliium [91].

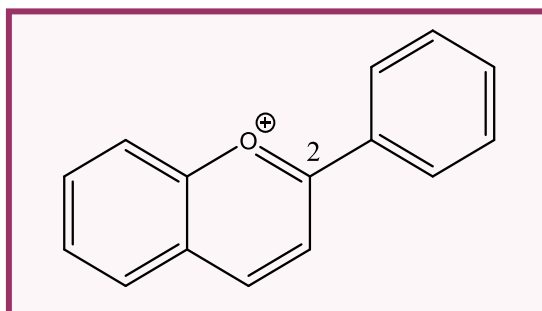


Figure II.11 : Ion flavylum (2-phényl-benzopyriliium).

### II.3.5. Les Tanins

Les Tanins sont des substances d'origine végétale, non azotées, de structure polyphénolique, Ils ont la capacité de se combiner et de précipiter les protéines [92].

Le terme « tannin » ou « tanin » vient de la source de tanins utilisée pour le tannage des peaux d'animaux en cuir. Dans ce processus, les molécules de tannins se lient aux protéines Par des liaisons résistantes aux attaques fongiques et bactériennes. Le poids moléculaire des tannins varie entre 500 et 2000 Dalton (3000 pour les structures les plus complexes) [52].

Les tannins sont aussi répandus pour leurs nombreuses activités thérapeutiques notamment ; anti-infectieuses [93-94], cardiovasculaires [95-96], hormonodépendantes et anticancéreuses

## CHAPITRE II : Les Composés Phénoliques

[97-98]. On distingue deux groupes de tanins différents : Les tanins hydrolysables et les tanins condensés [99].

### II.3.5.1. Les tannins hydrolysables

Ces tannins sont des esters du D-glucose et de l'acide gallique ou de ses dérivés, en particulier l'acide ellagique [100]. On distingue les tanins galliques et les tanins ellagiques [101].

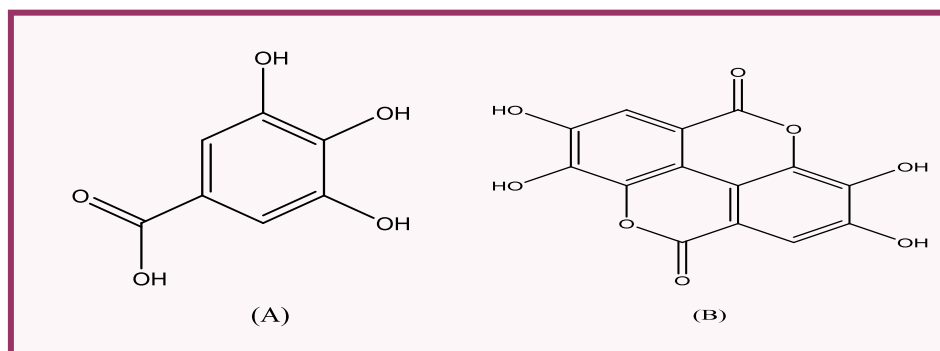


Figure II.12 : Structure chimique des acides gallique (A) et acide ellagique (B).

### II.3.5.2. Les tannins condensés :

Les tanins condensés : leur structure est voisine de celle des flavonoïdes, ils ne possèdent pas de sucre dans la molécule. Ils sont formés de deux ou plusieurs molécules de flavan-3-ols, dont l'union se fait par des liaisons carbone – carbone [90], [102].

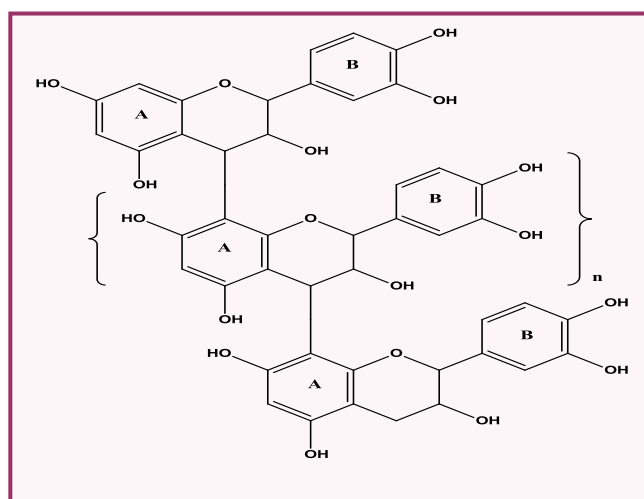
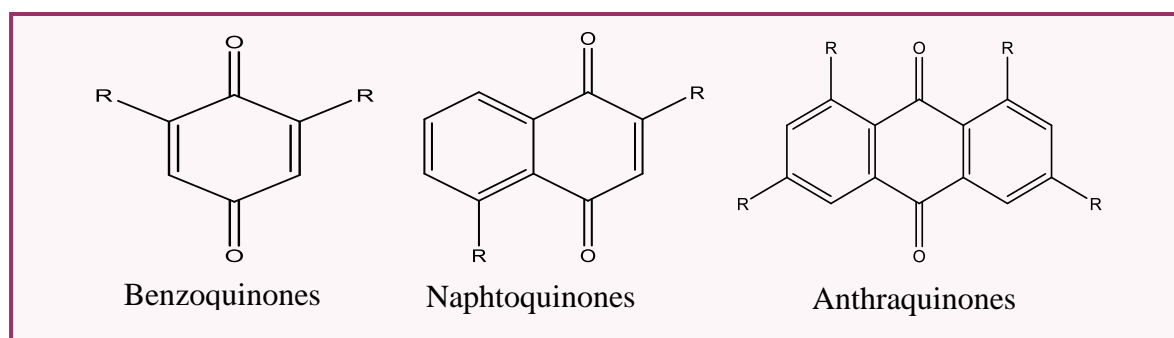


Figure II.13 : Structure de base des tanins condensés.

### II.3.6. Quinones

Ce sont des substances colorées et brillantes, en général rouges, jaunes ou orange et possédant deux fonctions cétones. On trouve les quinones dans les végétaux, les champignons, les bactéries. Ils sont utilisés dans la fabrication de colorants, de médicaments et de fongicides. Les principales quinones sont : les benzoquinones, les naphtoquinones et les anthraquinones [103].



II.14 : Quelques exemples de quinones (les plus importants).

### II.3.7. Lignanes et Lignines

#### II.3.7.1. Lignanes

Les lignanes sont des composés phénoliques bioactifs, non-nutritifs, non caloriques [104]. Il s'agit des dimères ramifiés de phénylpropanes (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>)<sub>2</sub> [105]. Où deux unités de phénylpropane C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub> sont liées par leur carbone 8 [106]. On les trouve en plus forte concentration dans le lin et les graines de sésame et en faible concentration dans les fruits et les légumes [104].

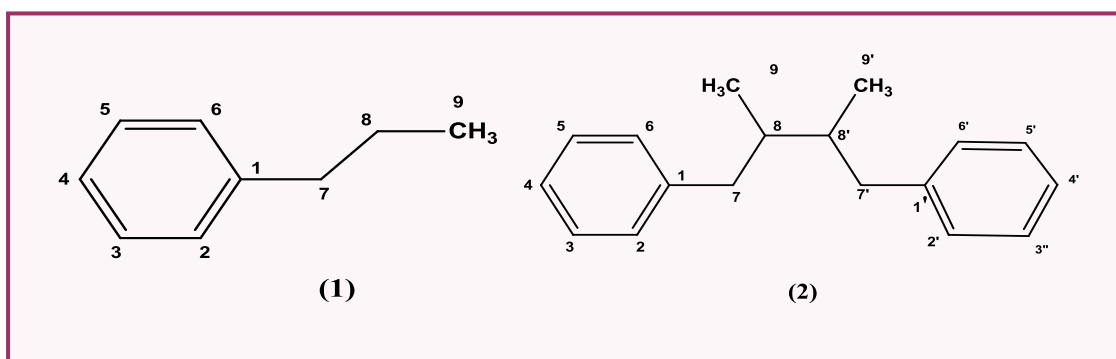


Figure II.15 : Structure dephénylpropane (1) et des lignanes (2).

### II.3.7.2. Lignine

La lignine est un polymère fortement ramifié, localisée dans les parois cellulaires [107]. Ils constituent une classe importante de produits naturels dans le règne végétal, et seraient formés par polymérisation oxydative de monomères qui sont les alcools p-coumarique, coniférique et sinapique [108]. Une structure précise pour la lignine n'est pas encore connue, mais sûrement elle est très complexe [55].

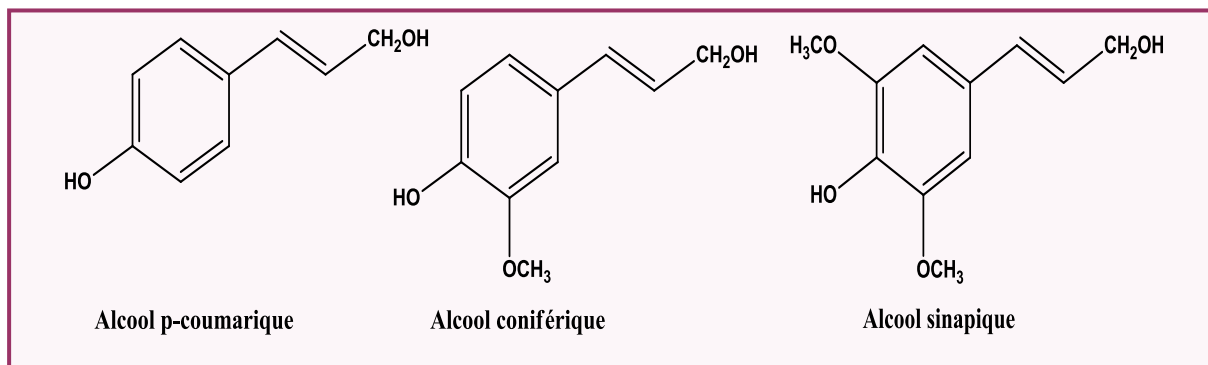


Figure II.16 : Structure des alcools formant les lignines.

### II.4. Rôle physiologique des composés phénoliques

Les composés phénoliques, tels que les flavonoïdes, sont partiellement responsables des qualités sensorielles et alimentaires des aliments végétaux. L'astringence et l'amertume des aliments et des boissons dépendent de la teneur en polyphénols [109]. Les flavonoïdes sont des pigments responsables de la coloration des fleurs, des fruits et des feuilles. Ils sont 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 des rayonnements UV [51]. Les pigments responsables de la coloration des fleurs constituent 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 des flavonols et flavanones interagissent avec des anthocyanes pour altérer, par co-pigmentation, la couleur des fleurs et des fruits [110].

Les phénols ont également été décrits dans plusieurs processus physiologiques : croissance cellulaire, différenciation, organogenèse, dormance des bourgeons, floraison et tubérisation [51].

Les cellules végétales répondent aux stimuli environnementaux en synthétisant des métabolites secondaires tels que les polyphénols qui peuvent les protéger contre les agresseurs. Lorsque la



## CHAPITRE II : Les Composés Phénoliques

---

plante est blessée, des composés phénoliques et 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. De même, lors de l'attaque par des pathogènes, une cascade de réactions aboutissant à la résistance exprimée à l'emplacement de l'infection ou dans d'autres parties non infectées de la plante se met en place. La première étape de ce mécanisme de défense comporterait une accumulation rapide des phénols, à l'emplacement de l'infection, qui agirait pour ralentir la croissance du pathogène. Ainsi, la capacité d'une espèce végétale à résister à l'attaque des insectes et des microorganismes est souvent corrélée à la teneur en composés phénoliques. Jusqu'ici mal connus, les principes actifs et leurs mécanismes d'action font maintenant l'objet d'un nombre croissant d'études [111].

### II.5. Les Composés phénoliques identifiés de la famille Fabaceae

Des recherches bibliographiques réalisées sur la famille Fabaceae, montrent qu'elles ont fait l'objet de nombreuses investigations photochimiques. Celles-ci ont permis d'isoler un grand nombre de composés phénoliques. Les substances dominantes sont les acides hydroxybenzoïques, les acides phénoliques simples et les flavonoids. Les résultats de 3 plantes ont été choisis sont présentés sur le **Tableau II.5** et la **figure II.17**.

## CHAPITRE II : Les Composés Phénoliques

**Tableau II.5** : Les Composés phénoliques identifiés de la famille Fabaceae avec les HPLC-UV [254 nm et 280 nm].

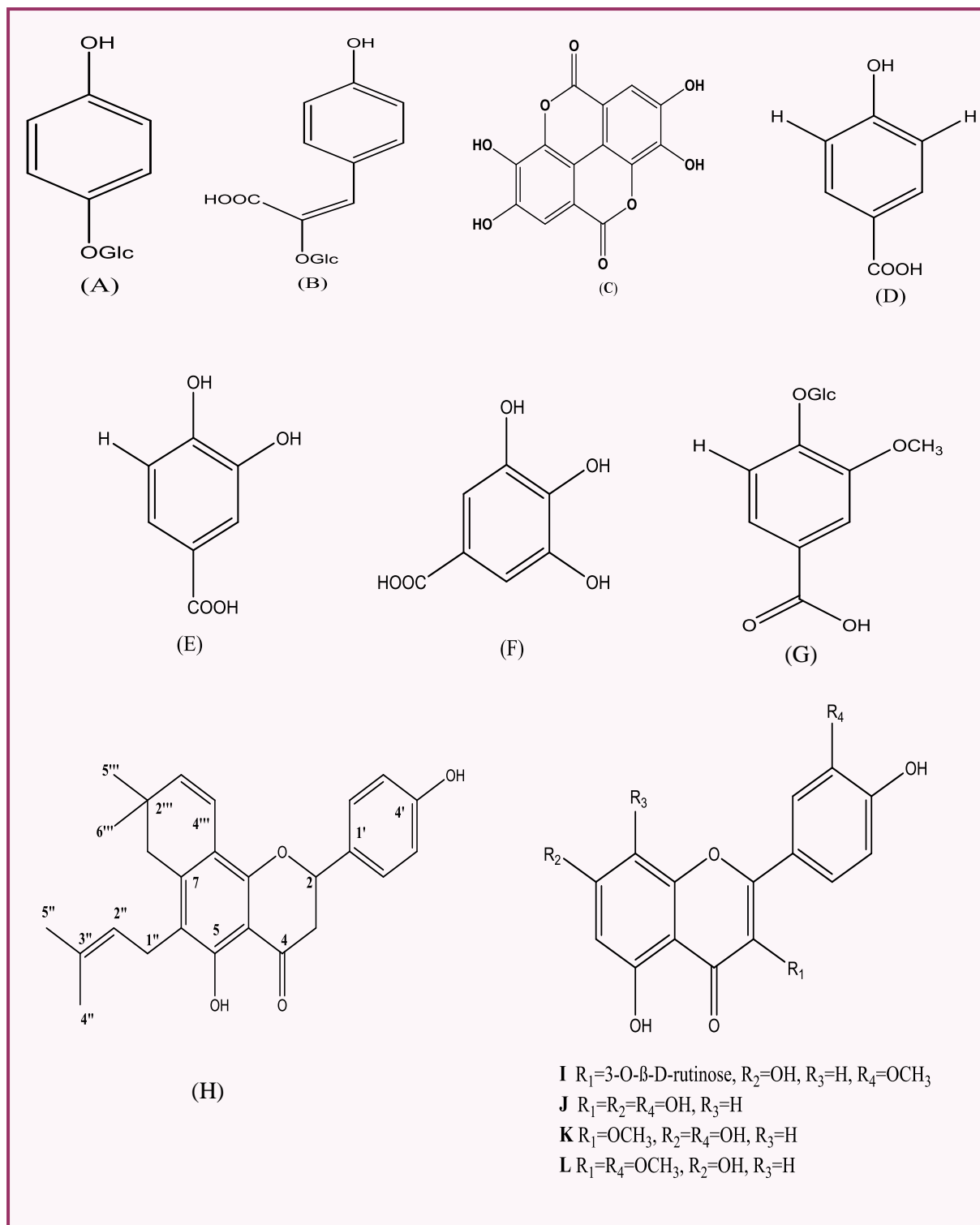
La plante : <i>Sainfoin (Onobrychis viciifolia)</i>					
Composés	t <sub>r</sub> (min)	λ max (nm)	Identification	Classification	Références
A	6.9	281	arbutine = 4-(β-D-glucopyranosyloxy) phénol	Acides phénoliques simples	[112]
B	54.5	279	acide 8-β-glucopyranosyl oxycinnamique		
C	138.9	254, 366	Acide ellagique		
D	23.5	25	acide p-hydroxybenzoïque	Acides hydroxybenzoïques	
E	15.3	258, 293	Acide Protocatechique		
F	9.8	270	Acide gallique		
G	19.4	254, 289	Acide vanillique 4-O-glucoside		
La plante : <i>Derris ferruginea</i>					
Composés	t <sub>r</sub> (min)	λ max (nm)	Identification	Classification	References
H	60	254	Cajaflavanone	Flavonoids	[113]

**Tableau II.5** : Les Composés phénoliques identifiés de la famille Fabaceae avec les HPLC-UV [254 nm et 280 nm] (suite)

## CHAPITRE II : Les Composés Phénoliques

<b>La plante: <i>Halimodendron halodendron</i></b>					
<b>Composés</b>	<b>t<sub>r</sub> (min)</b>	<b>λ max (nm)</b>	<b>Identification</b>	<b>Classification</b>	<b>Références</b>
D	6	254	Acide p-hydroxybenzoïque	Acides hydroxybenzoïques	<b>[114]</b>
I	9	254	isorhamnetin-3-O-β-D- rutinoside	Flavonol	
J	17	254	Quercétine		
K	23	254	3-O-méthylquercétine		
L	30	254	3,3'-diméthoxy-quercétine		

## CHAPITRE II : Les Composés Phénoliques



**Figure II.17 :** Structures des composés phénoliques identifiés de la famille Fabaceae avec les HPLC-UV



**Chapitre III**  
**Chromatographie Liquide Haute**  
**Performance**

### III.1. Introduction

La chromatographie est une méthode dans laquelle les composants d'un mélange sont séparés sur une colonne d'adsorbant dans un système fluide [115]. Elle a été réalisée pour la première fois en 1906 par le botaniste russe **Mikhaïl TSWETT** [115].

Parmi les techniques chromatographiques dont la phase mobile est un liquide, la chromatographie liquide haute performance (CLHP) est la plus connue. Elle permet de séparer et d'identifier son champ d'application recouvre une grande partie du domaine de la chromatographie en phase gazeuse auquel s'ajoute celui de l'analyse des composés thermosensibles ou de masses moléculaires à la fois très grandes et même polaires. Son succès est dû à la possibilité d'agir de manière très précise sur la sélectivité entre les composés par le choix de la colonne et de la composition de l'éluant, c'est-à-dire en exploitant les interactions soluté/phase mobile/phase stationnaire [116].

### III.2. Historique

Ils ont été rassemblés ici quelques grandes dates de l'évolution de la chromatographie [115] :

**1903-1906** : Séparation de pigments "Mikhail Semenovitch TSWETT".

**1931** : Séparations préparatives "Khun et Lederer".

**1938** : Chromatographie sur couche mince "Ismailov et Shraiber".

**1940** : Chromatographie par échange d'ions "Samuelson et Walton".

**1941** : Chromatographie de partage "Martin et Synge".

**1952** : Chromatographie en phase gazeuse sur colonnes remplies "James et Martin".

**1954** : Séparation des acides aminés par chromatographie d'échange d'ions "Moore et Stein".

**1959** : Chromatographie sur gel "Porath, Flodin".

**1968** : Chromatographie en phase liquide à haute performance "Giddings et Kirkland".

**1979** : première séparation chirale par HPLC "Welch et Armstrong".

### III.3. L'origine de la CLHP

La chromatographie liquide haute performance, souvent désignée par son abréviation CLHP – HPLC en anglais, constitue une technique analytique très générale d'emploi.

## CHAPITRE III : Chromatographie Liquide Haute Performance

Elle dérive de la forme la plus ancienne de la chromatographie liquide sur colonne dont les performances, en termes de sélectivité et de résolution, se sont trouvées grandement améliorées par la miniaturisation et l'utilisation de phases stationnaires très élaborées.

Ces phases, conduisent à une perte de charge importante dans la colonne. Il faut donc exercer sur la phase mobile une forte pression pour obtenir un débit convenable. La particularité de la CLHP est de faire intervenir des mécanismes d'échange soluté/phase mobile/phase stationnaire basés sur les coefficients d'adsorption ou de partage [116].

### III.4. Principe

Les composés à séparer sont mis en solution dans un solvant. La phase mobile poussée par une pompe sous haute pression, parcourt le système chromatographique, Le mélange à analyser est injecté puis transporté à travers du système et les composés se séparent selon leurs affinités entre la phase mobile et la phase stationnaire. En sortie de colonne grâce à un détecteur approprié les différents solutés sont caractérisés par un pic. L'ensemble des pics enregistrés est appelé chromatogramme [117].

### III.5. Conception générale d'un appareil de CLHP

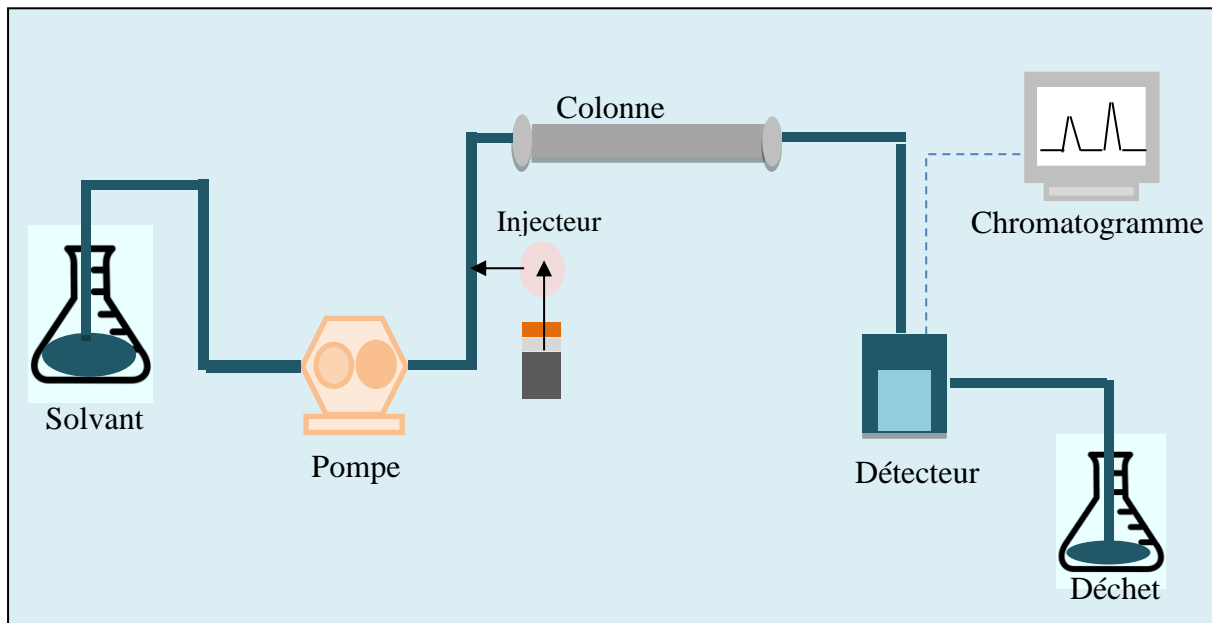
Une installation de CLHP comporte divers modules spécialisés. Ces modules sont reliés entre eux par l'intermédiaire de canalisations de très faible diamètre interne (0,1 mm) pour assurer la circulation de la phase mobile. La vitesse de la phase mobile est maximum au centre des canalisations et nulle au contact des parois. Une dispersion des composés se produit donc inévitablement [116].



Figure III.1 : Schéma d'une installation de CLHP.

## CHAPITRE III : Chromatographie Liquide Haute Performance

La **figure III.2** représente l'appareillage de l'CLHP



**Figure III.2** : l'appareillage de l'CLHP.

### III.5.1. La Pompe

Toute installation de CLHP comporte au moins une pompe pour forcer le passage de la phase mobile à travers la colonne dont le remplissage est très compact. Il en résulte une pression importante au niveau de l'injecteur, on utilise des pompes conçues pour maintenir un débit non pulsé et stable, même si la composition de la phase mobile varie. Ces pompes débitométriques comportent généralement deux pistons en série fonctionnant en opposition pour éviter les interruptions de débit dues au remplissage du cylindre. Le déplacement des pistons est contrôlé par un moteur pas à pas associé à une came de forme particulière [116].

Elle permet de travailler [117] :

En mode isocratique : pour lequel la composition de la phase mobile est fixée au long de l'analyse.

En mode gradient : pour lequel en fait une variation de la composition de solvant durant l'analyse, cette variation est programmable.



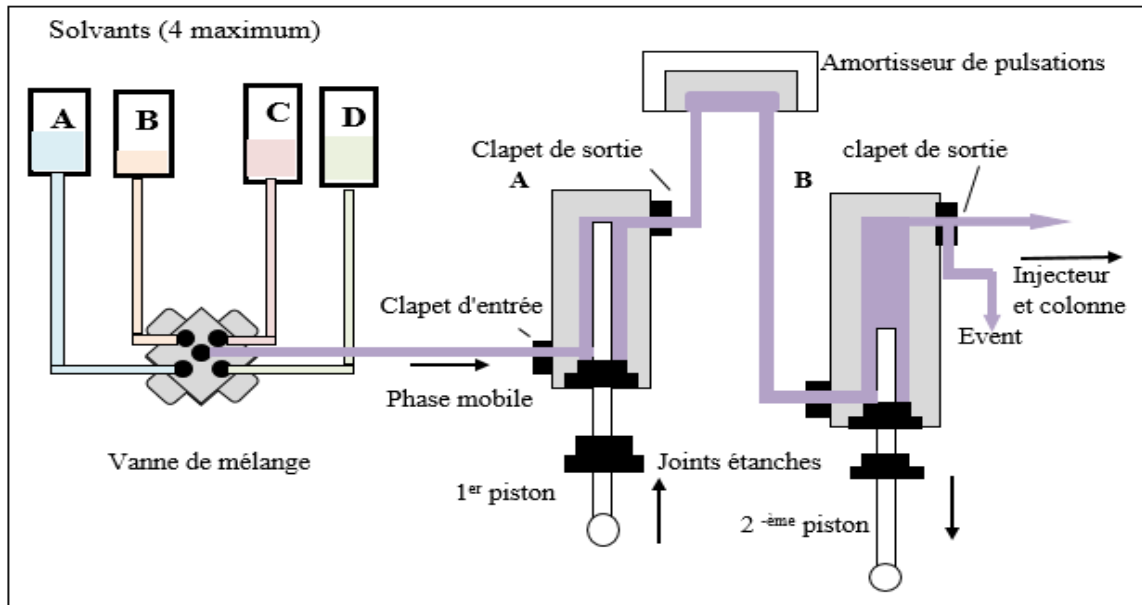


Figure III.3 : Principe de fonctionnement d'une pompe à deux têtes en série [116].

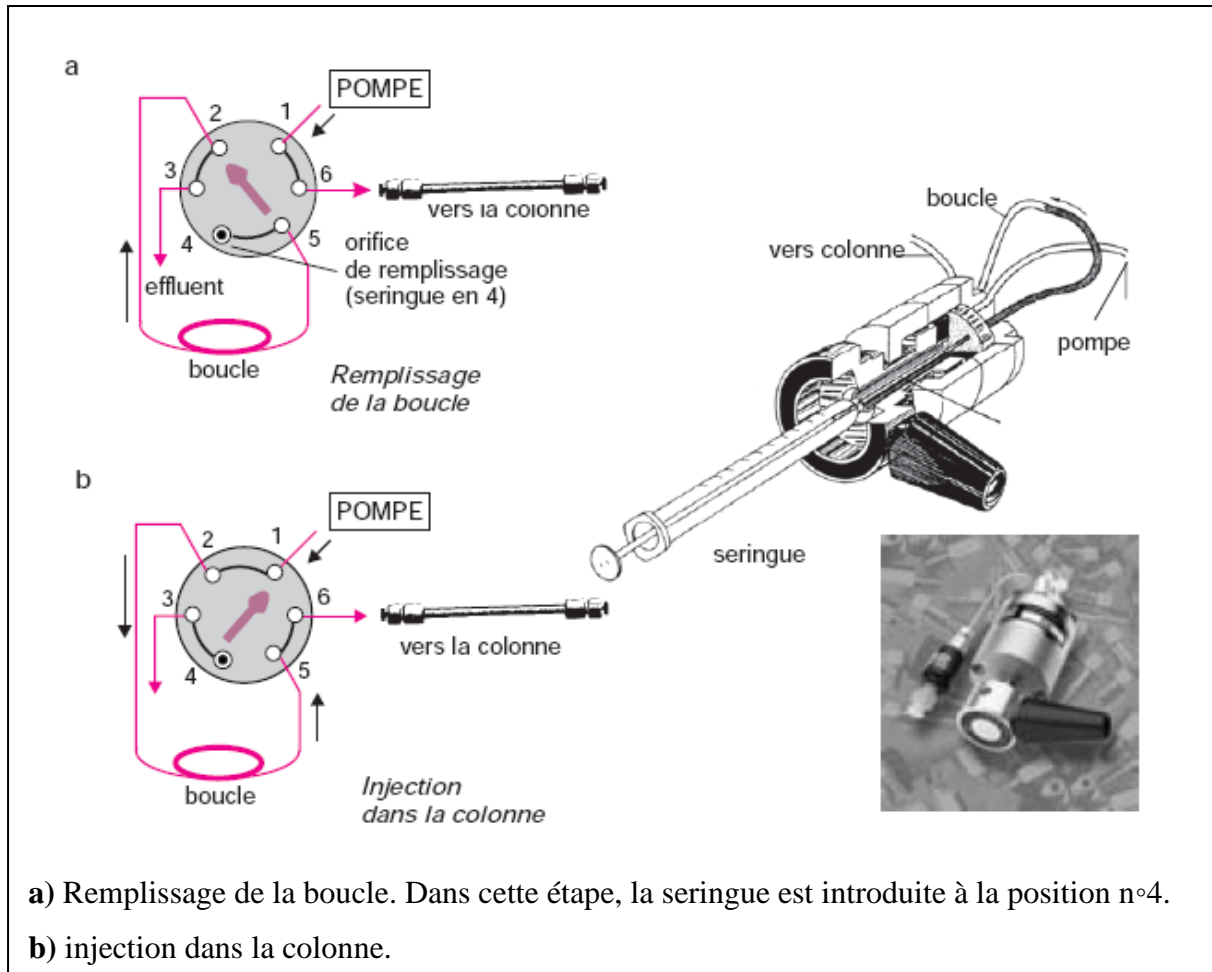
### III.5.2. Les injecteurs

L'injection d'un volume précis de l'échantillon en tête de colonne doit se faire en un temps bref afin de perturber le moins possible le régime de circulation de la phase mobile qui doit être stable de la colonne au détecteur. On utilise pour ce faire, une vanne haute pression à plusieurs voies, manuelle ou motorisée dans le cas des injecteurs automatiques, placée juste avant la colonne (**figure III.4**). Elle fonctionne en deux temps :

Dans la position chargement, où seule la communication entre pompe et colonne est assurée (**figure III.5**), l'échantillon est introduit à pression atmosphérique à l'aide d'une seringue dans un petit volume tubulaire appelé boucle. Dans la position injection, l'échantillon est inséré dans le flux de phase mobile par rotation de  $60^\circ$  d'un levier qui permet d'inverser le sens de circulation dans la boucle. Une bonne reproductibilité des volumes n'est atteinte que si la boucle a été totalement remplie par l'échantillon. Le volume prélevé avec la seringue est donc toujours largement supérieur à celui de la boucle [116].



Figure III.4 : Vanne d'injection pour CLHP et boucles assorties [116].



**Figure III.5 :** Injection avec une boucle [116].

### III.5.3. Les colonnes

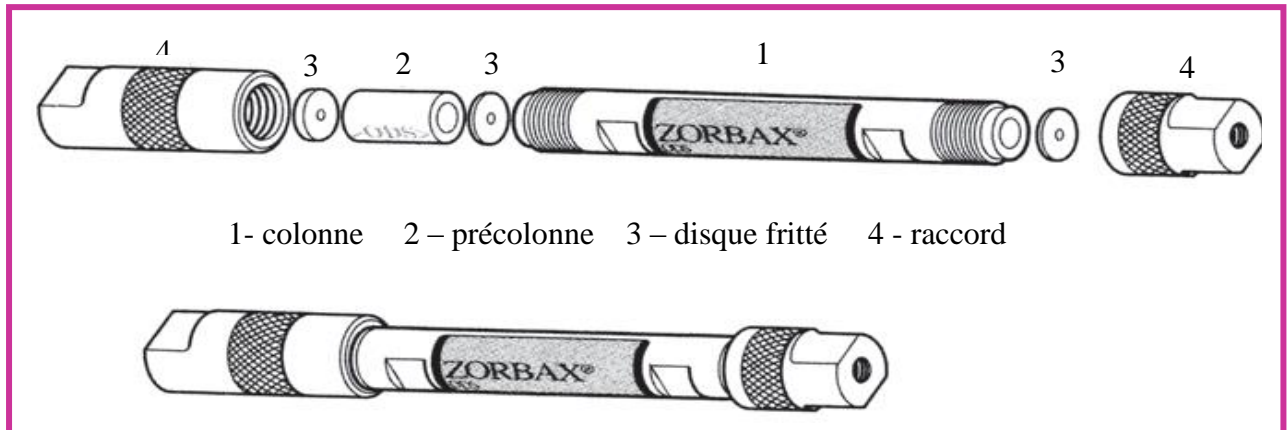
La colonne se présente comme un tube, le plus souvent en acier, dont la longueur et le diamètre présentent des différences selon les modèles. Les colonnes « standard » dont le diamètre interne (DI) est d'environ 4,5 mm et la longueur de 10 cm (**figure III.6**), sont de plus en plus supplantées par des colonnes de plus faibles diamètres, baptisées narrow-bore (DI 2-4 mm), micro-bore (DI 1-2 mm), capillaires remplies (DI 0,1-1 mm).

La colonne doit avoir une efficacité suffisante. Une colonne courte permettra d'aller plus vite. Une colonne étroite se traduira par une économie de phase mobile. Ainsi pour une colonne standard, le débit est de l'ordre de 1 ml/min, alors qu'il tombe à quelques ml/min pour une colonne micro-bore, ce qui nécessite des pompes et des détecteurs adaptés – quelques gouttes suffisantes pour éluer tous les composés.

La colonne est souvent précédée d'un précolonne, dite colonne de garde, courte (0,4 à 1 cm), remplie de la même phase stationnaire, ce qui sert à retenir certaines impuretés (**figure III.6**).

## CHAPITRE III : Chromatographie Liquide Haute Performance

On augmente ainsi la durée de vie de la colonne principale en préservant ses performances [116].



**Figure III.6 :** Colonne standard et précolonne de CLHP [116].

### III.5.4. Les détecteurs

Le détecteur suit en continu l'apparition des solutés. Pour détecter, on utilise différents phénomènes physico-chimiques. Le signal obtenu est enregistré en fonction du temps. Généralement, on compare le signal obtenu pour la phase mobile et le soluté à celui de la phase mobile seule. Le détecteur le plus utilisé en CLHP est un spectrophotomètre d'absorption UV-visible (190-600 nm) relié à la sortie de colonne.

Il existe d'autres détecteurs :

- Réfractomètre différentiel
- UV à barrette de diodes
- Electrochimique
- fluorimétrie....

Ainsi que différents types de couplage :

- Spectrométrie infrarouge
- Spectrométrie de masse
- Résonance Magnétique Nucléaire.

### III.5.5. La phase stationnaire

La phase stationnaire est immobilisée à l'intérieur de la colonne et retenue par un disque poreux en acier inoxydable fritté, dont la porosité est suffisamment faible pour retenir les plus fines particules [117].

## CHAPITRE III : Chromatographie Liquide Haute Performance

---

- La phase normale :

La phase normale est constituée de gel de silice. Ce matériau est très polaire. Il faut donc utiliser un éluant apolaire. Ainsi lors de l'injection d'une solution, les produits polaires sont retenus dans la colonne, contrairement aux produits apolaires qui sortent en tête.

- La phase inverse :

La phase inverse est majoritairement composée de silice greffée par des chaînes linéaires de 8 ou 18 atomes de carbones (C8 et C18). Cette phase est apolaire et nécessite donc un éluant polaire (ACN, MeOH, H<sub>2</sub>O). Dans ce cas, ce sont les composés polaires qui seront élués en premier.

### III.5.6. La phase mobile

La phase mobile ou éluant est un liquide qui entraîne les solutés à travers la colonne.

Le choix de l'éluant est basé sur des critères qu'il doit vérifier vis-à-vis au produit, des phases stationnaires et de l'appareillage [117].

**Vis-à-vis au produit** : inertie chimique à l'égard des substances à séparer, et dissolution de la totalité des composés présents dans les mélanges à analyser.

**Vis-à-vis de la phase stationnaire** : la phase stationnaire ne doit pas être modifiée par le passage de la phase mobile, par conséquent une insolubilité totale de la phase stationnaire des deux phases.

**Vis-à-vis de l'appareillage** : avec un détecteur UV l'éluant ne doit pas absorber dans les longueurs d'onde retenues pour l'analyse. Pour un réfractomètre, les indices de réfraction de l'éluant doivent rester constant tout au long de l'opération.

### III.6. Notion de temps :

**t<sub>0</sub>** : est le temps du début de l'injection. **t<sub>m</sub>** (le temps mort) est le temps mis par un composé non retenu par la phase stationnaire pour traverser la colonne (le temps passé dans la phase mobile) [117].

**t<sub>r</sub>** : Le paramètre de rétention chromatographique primaire (temps de rétention ou volume de rétention (V<sub>r</sub>)) se compose de deux parties : premièrement, le temps pendant lequel les molécules de l'analyse sont en phase mobile (en supposant un débit constant), et deuxièmement, le temps pendant lequel l'analyte est retenu à la surface de la phase stationnaire [118].

## CHAPITRE III : Chromatographie Liquide Haute Performance

---

$t'_r$ : Le temps de rétention réduit  $t'_r$  est le temps passé par un soluté dans la phase stationnaire [117].

### III.7. Application de la technique :

La chromatographie liquide haute performance est une méthode qui a beaucoup d'applications surtout au niveau de la chimie des substances naturelles. En effet, elle est utilisée dans la séparation, l'identification et la quantification de certaines familles de molécules dans les extraits de plantes [119]. Elle est souvent couplée avec la spectrométrie de masse ou la spectrométrie UV- visible.



**Chapitre IV**  
**Partie expérimentale**

### IV.1. Analyse qualitative des extraits

L'analyse qualitative des composés phénoliques présents dans les différents extraits de l'espèce *Genista aspalathoides* Lamk (l'extrait acétate d'éthyle et l'extrait n-butanol) a été réalisée par Chromatographie Liquide à Haute Performance (CLHP) (**figure III.7**), qui est une technique de séparation très puissante.



**Figure VI.1** : L'appareil CLHP utilisé dans cette analyse.

#### IV.1.1. Conditions opératoires

Les conditions opératoires de la CLHP sont comme suit :

- Un appareil **YL 9100 HPLC**, de logiciel **YL-CLARITY**. Qui composite par une phase mobile et phase stationnaire dans une colonne apolaire (inverse) par une séparation de composé organique non volatile.
- **Colonne** C18 de marque **AGILENT** (longueur : 150mm, diamètre : 4.6 mm, taille de particules : 5 $\mu$ m)
- **Détecteur** : UV/VIS
- **Boucle d'injection** : 20 $\mu$ L
- **Température** : 35°C
- **Détection ( $\lambda$ )** : 254 nm/ 280 nm
- **Durée d'analyse** : 60 mn
- **Débit** : 1ml/min
- **Volume injecté** : 20 $\mu$ L

## CHAPITRE IV : Partie expérimentale

- **La phase mobile :** Cette phase est constituée de deux solvants :

**P.A :** Eau à 1% AC. Acétique

**P.B :** Méthanol grade CLHP

- **Mode:** Gradient, le **tableau III.1** résume le programme d'élution de la colonne.

**Tableau VI.1 :** Gradients et utilisés pour les analyses CLHP.

Temps (min)	P.A	P.B
0	95%	5%
55	5%	95%
60	95%	5%



**Figure VI.2 :** La boucle d'injection utilisée dans l'analyse de l'échantillon.

### IV.1.2. Préparation des échantillons pour l'analyse CLHP-UV/VIS

- Le procédé commence par dégazer les solvants (éliminer les bulles d'air), puis on injecte l'extrait (acétate éthyle / n-butanol) à l'entrée de la colonne où il se dilue dans la phase mobile qui l'entraîne à travers la colonne.
- Les constituants du mélange (les solutés), sont inégalement retenus lors de la traversée de la colonne de ce phénomène appelé rétention il résulte que les constituants du mélange injecté se déplacent tous moins vite que la phase mobile et que leurs vitesses de déplacement sont différentes. Ils sont ainsi élués de la colonne les uns après les autres et donc séparés. Un détecteur UV/VIS placé à la sortie de la colonne couplée à un enregistreur permet d'obtenir le chromatogramme.



### IV.2. Résultats et discussions

#### IV.2.1. Etude qualitative de deux extraits de l'espèce *Genista aspalathoides* Lamk

L'analyse a été réalisée par une CLHP au niveau du Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-chimiques (CRAPC) à BouIsmaïl, Tipaza.

Les chromatogrammes obtenus en mode gradient d'éluion avec l'éventail des longueurs d'ondes qui à 254 nm ont été comparés à ceux des étalons injectés dans les mêmes conditions chromatographiques par leurs temps de rétention.

##### ➤ Principe

20 µl de chaque extrait ont été injectés sur une colonne de type phase inverse C18 (150 mm x 4,6 mm I.D). La phase mobile constituée deux éluants ; l'eau distillée / acide acétique (1 %) à pH = 3 (Solvant A) et Méthanol (Solvant B), respectivement. Dans le mode de gradient linéaire suivant : 0 min, 5% B ; 55 min, 95% B ; 60 min, 5%. Le débit de la phase mobile était de 1,0 ml / min. La détection a été réalisée par un détecteur UV.

#### IV.2.2. Tableau des temps de rétention des composés phénoliques standards

Tableau IV.2 : Temps de rétention des flavonoïdes standards.

Temps de rétention (min)	Les flavonoïdes
21.6	Catéchine
22.5	Epicatéchine
29.3	Berbérine
31.5	Robinin
32	Rutine
34.3	Myricétine
38.5	Quercétine
39	Naringénine
42.2	Kaempférol
42.5	Apgénine
49.6	3-hydroxy-flavone

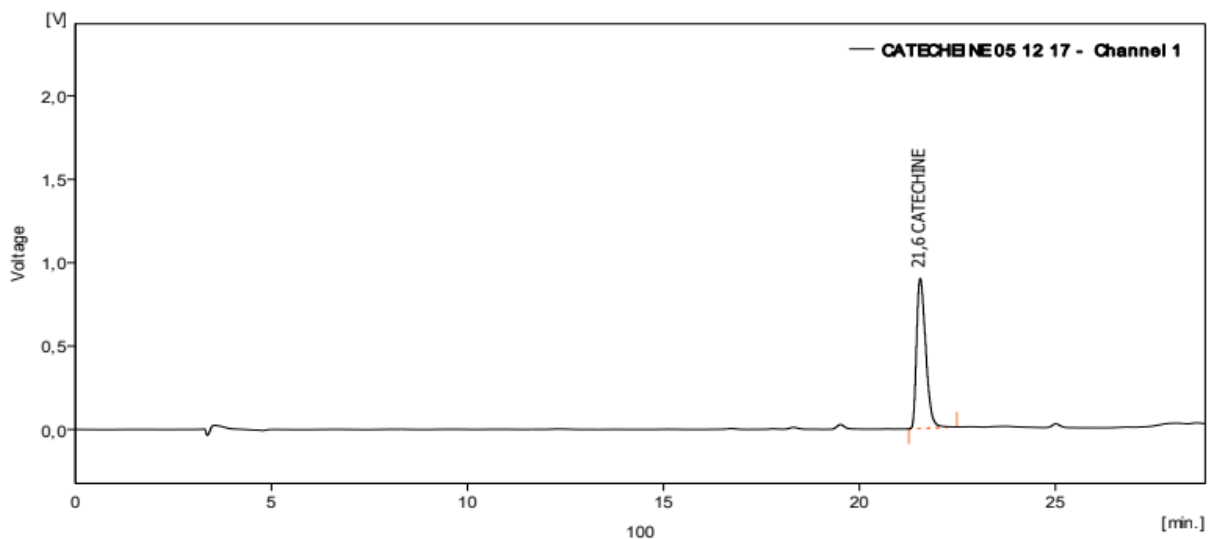
## CHAPITRE IV : Partie expérimentale

**Tableau IV.3** : temps de rétention d'anthocyane et la coumarine standard.

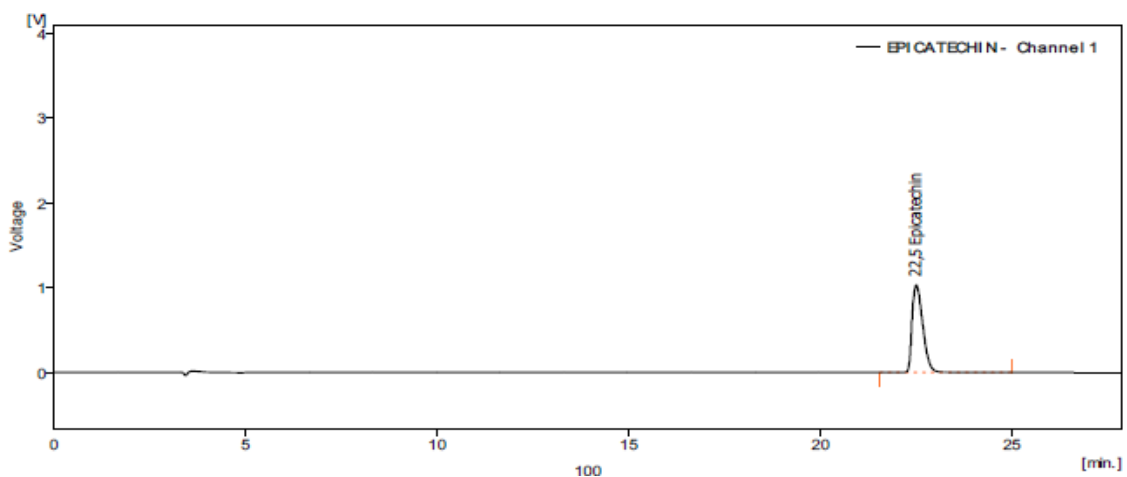
Temps de rétention (min)	Anthocyanes
35.8	Malvin chloride
48.4	Anthrone
Temps de rétention (min)	Coumarine
25.8	Scopolétine

### IV.2.3. Chromatogrammes des étalons

Nous donnons les chromatogrammes des étalons utilisés (1 mg/ ml), les analyses sont faites à une longueur d'onde 254 nm.



**Figure IV.3** : Chromatogramme CLHP de l'étalon catéchine.



**Figure IV.4** : Chromatogramme CLHP de l'étalon épicatechine.

## CHAPITRE IV : Partie expérimentale

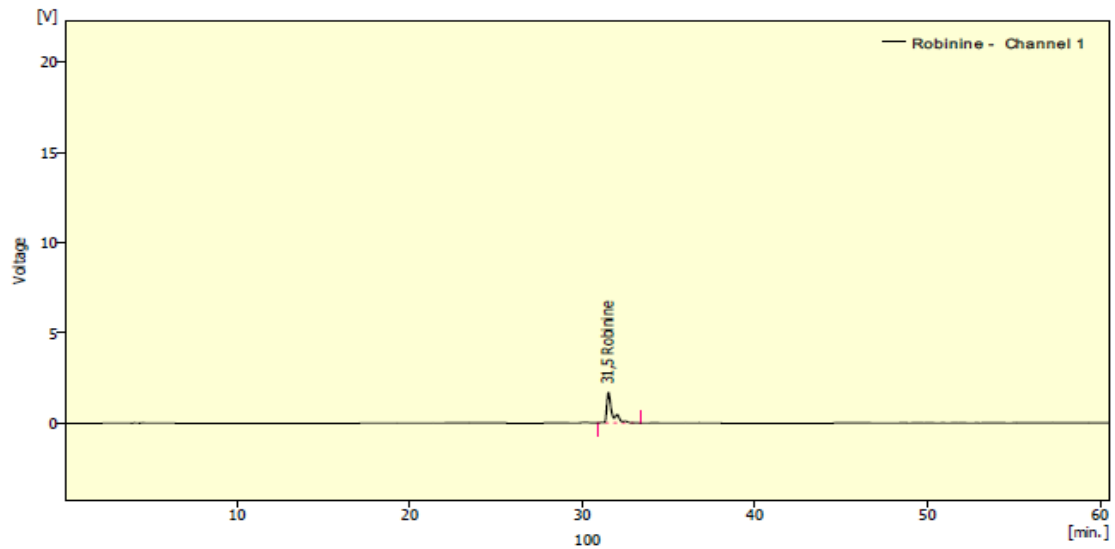


Figure IV.5 : Chromatogramme CLHP de l'étalon robinine.

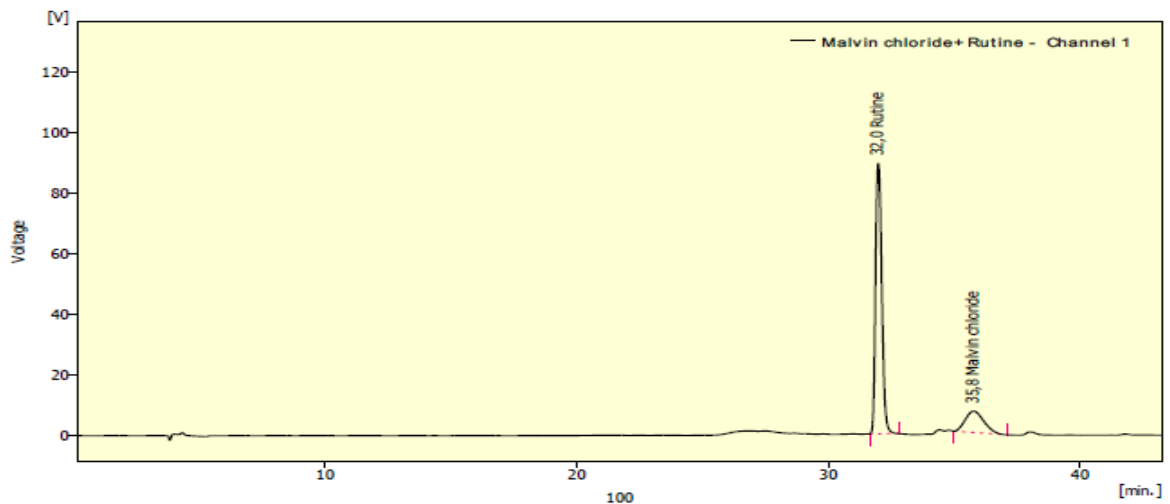


Figure IV.6 : Chromatogramme CLHP de l'étalons rutine et malvine chlorure.

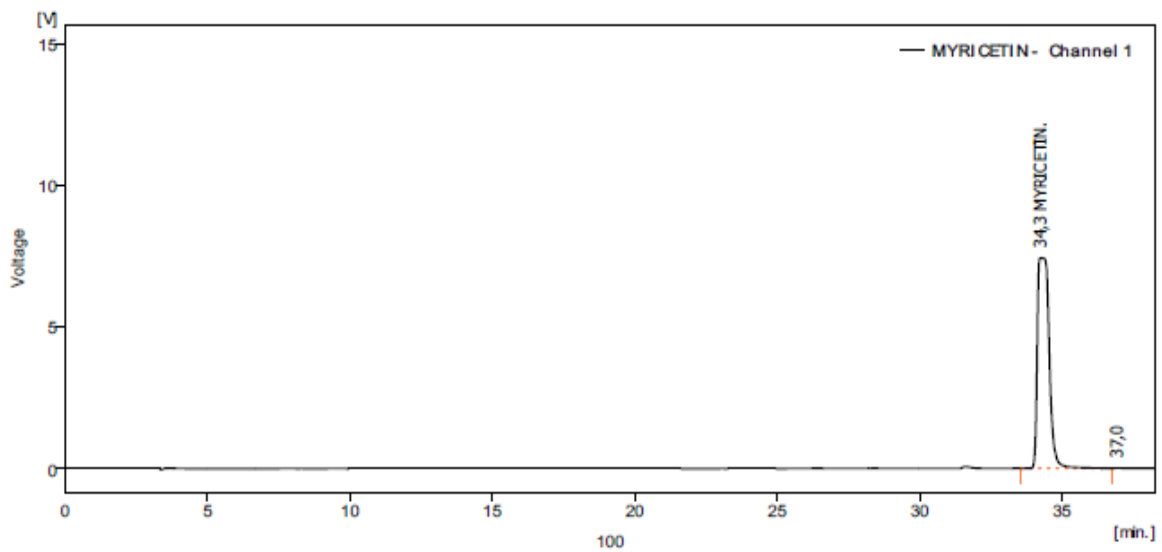


Figure IV.7 : Chromatogramme CLHP de l'étalon Myricétine.

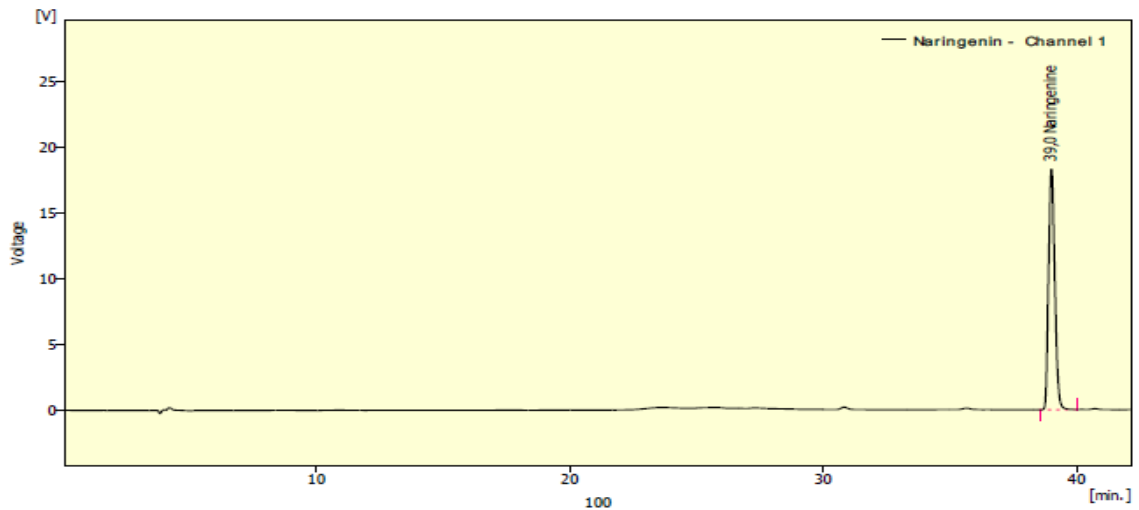


Figure IV.8 : Chromatogramme CLHP de l'étalon naringénine.

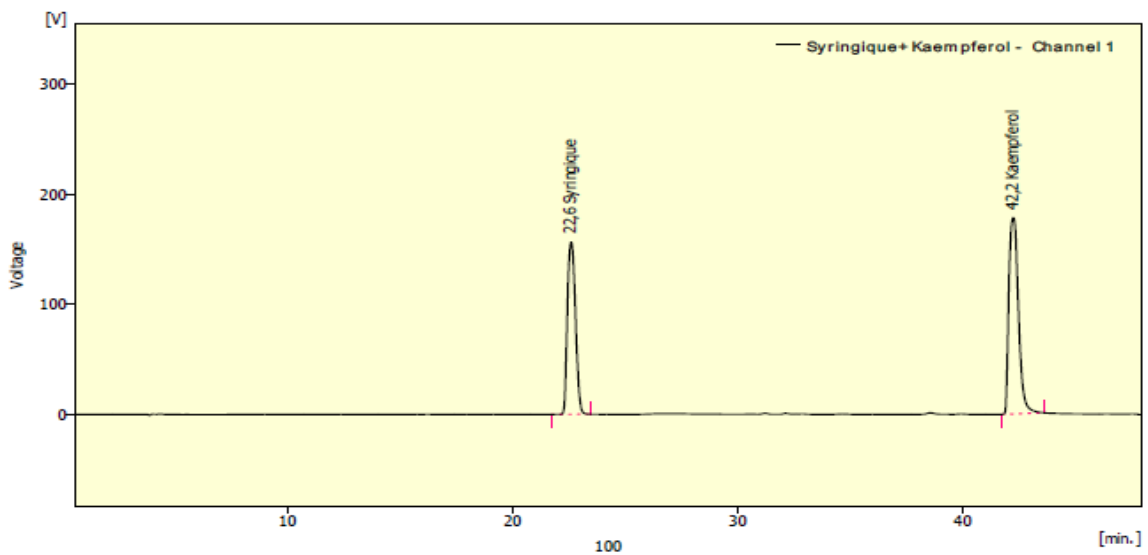


Figure IV.9 : Chromatogramme CLHP de l'étalons syringique et Kaempférol.

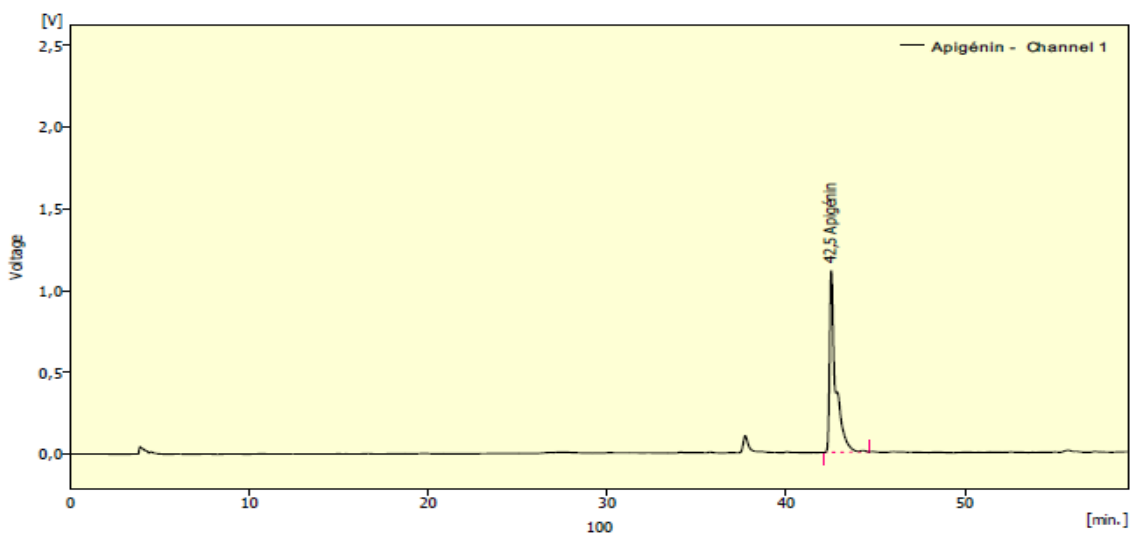


Figure IV.10 : Chromatogramme CLHP de l'étalon apigénine.

## CHAPITRE IV : Partie expérimentale

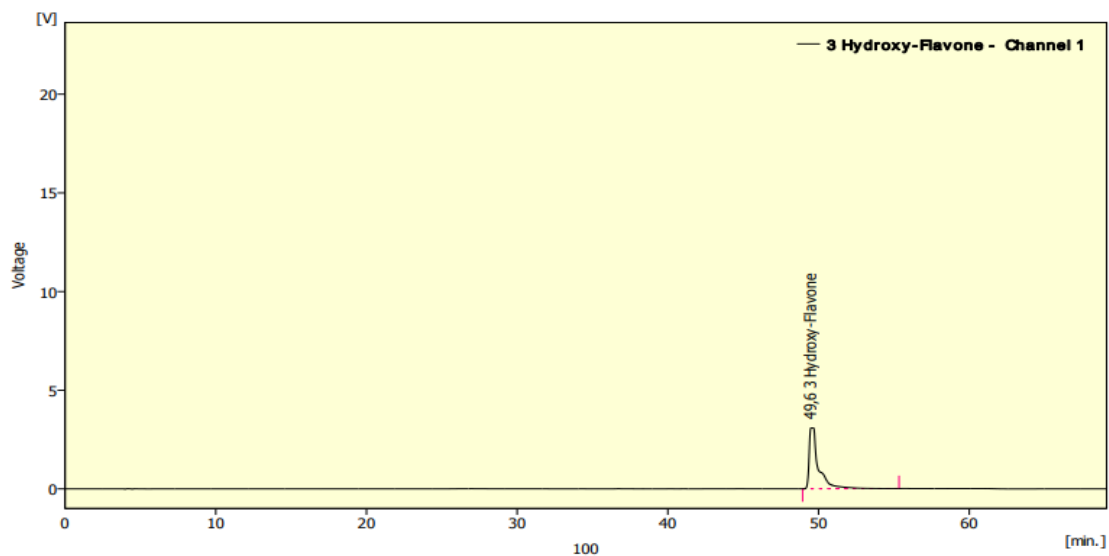


Figure IV.11 : Chromatogramme CLHP de l'étalon 3-hydroxy-flavone.

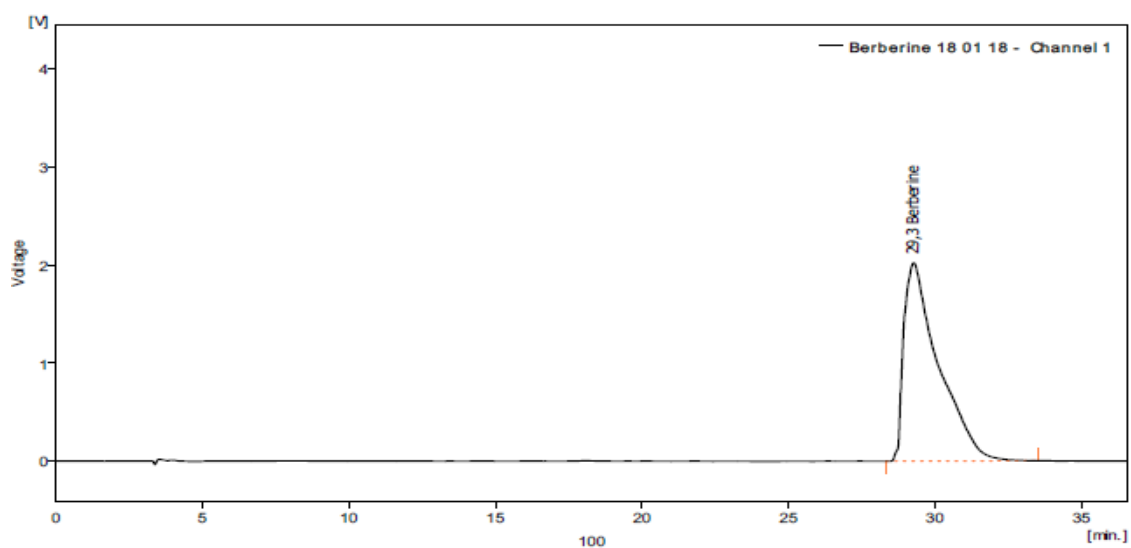


Figure IV.12 : Chromatogramme CLHP de l'étalon berbérine.

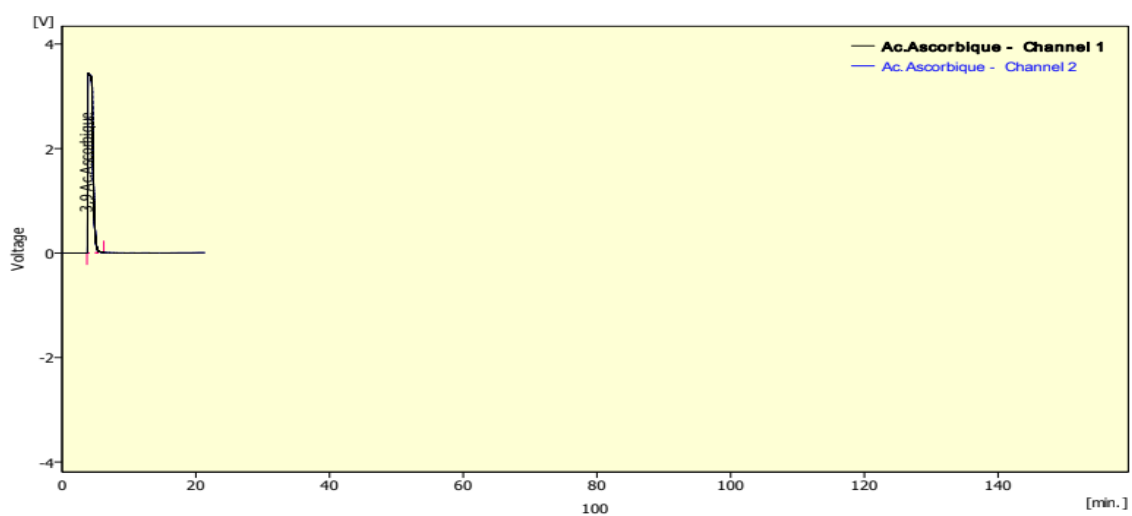
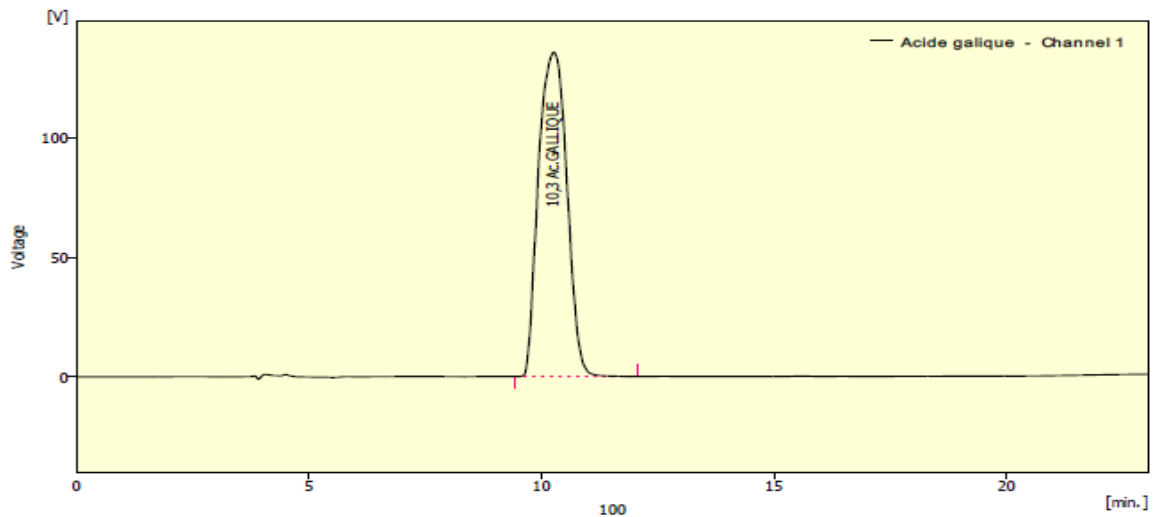
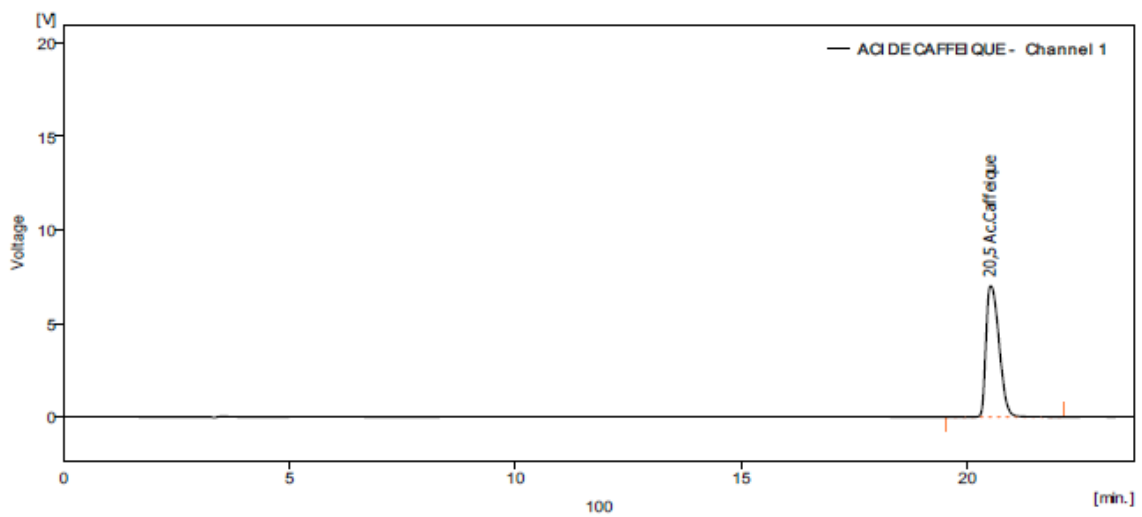


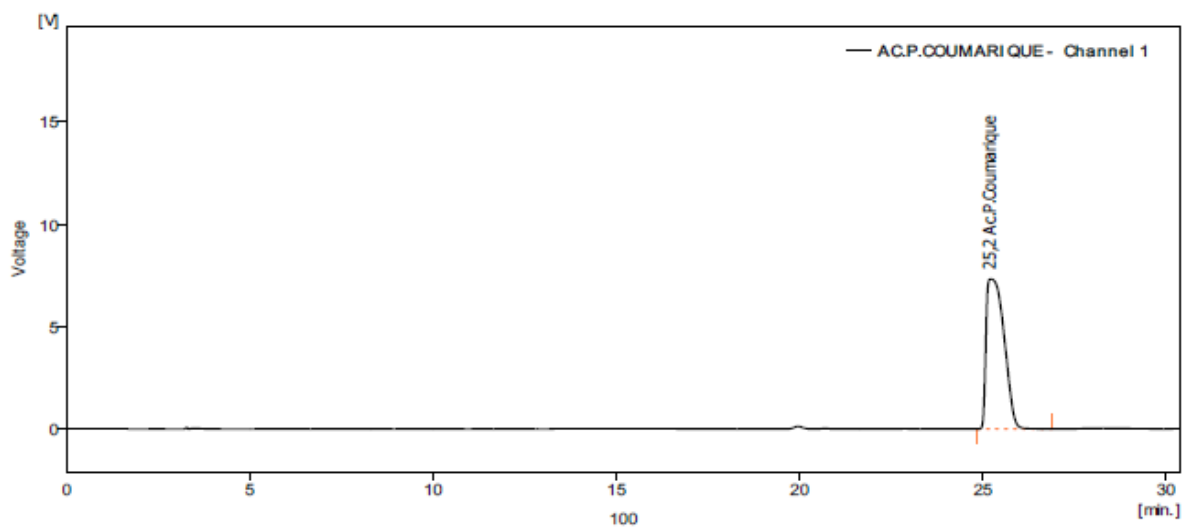
Figure IV.13 : Chromatogramme CLHP de l'étalon acide ascorbique



**Figure IV.14 :** Chromatogramme CLHP de l'étalon acide gallique.



**Figure IV.15 :** Chromatogramme CLHP de l'étalon acide caféique.



**Figure IV.16 :** Chromatogramme CLHP de l'étalon acide -p-coumarique.

## CHAPITRE IV : Partie expérimentale

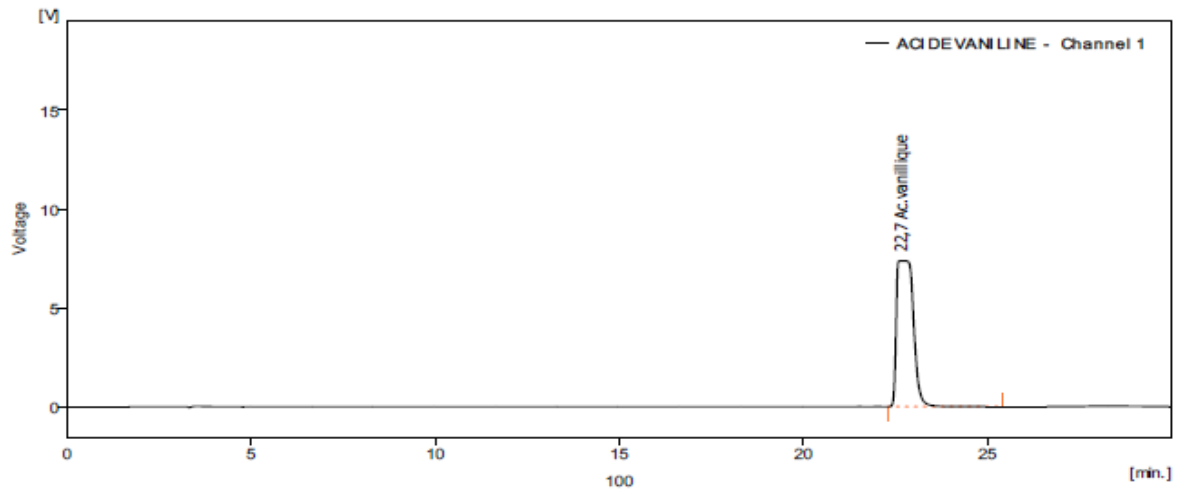


Figure IV.17 : Chromatogramme CLHP de l'étalon acide vanillique.

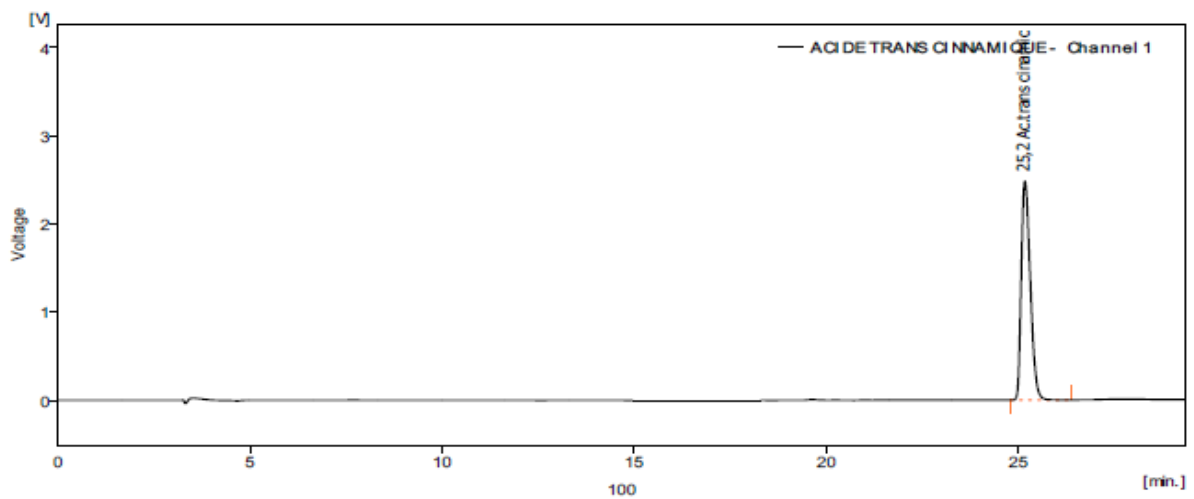


Figure IV.18 : Chromatogramme CLHP de l'étalon acide trans cinnamique.

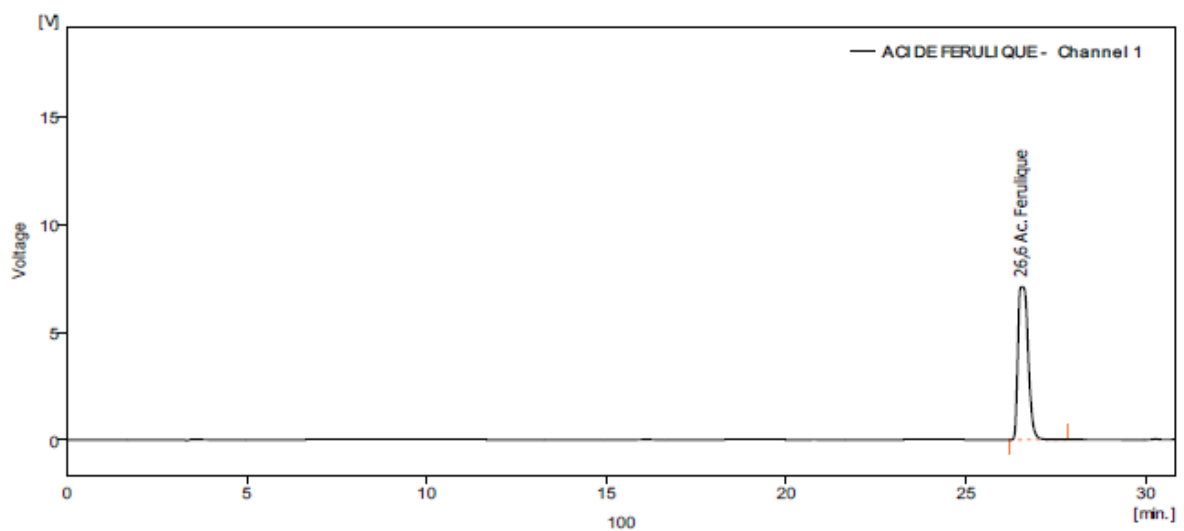
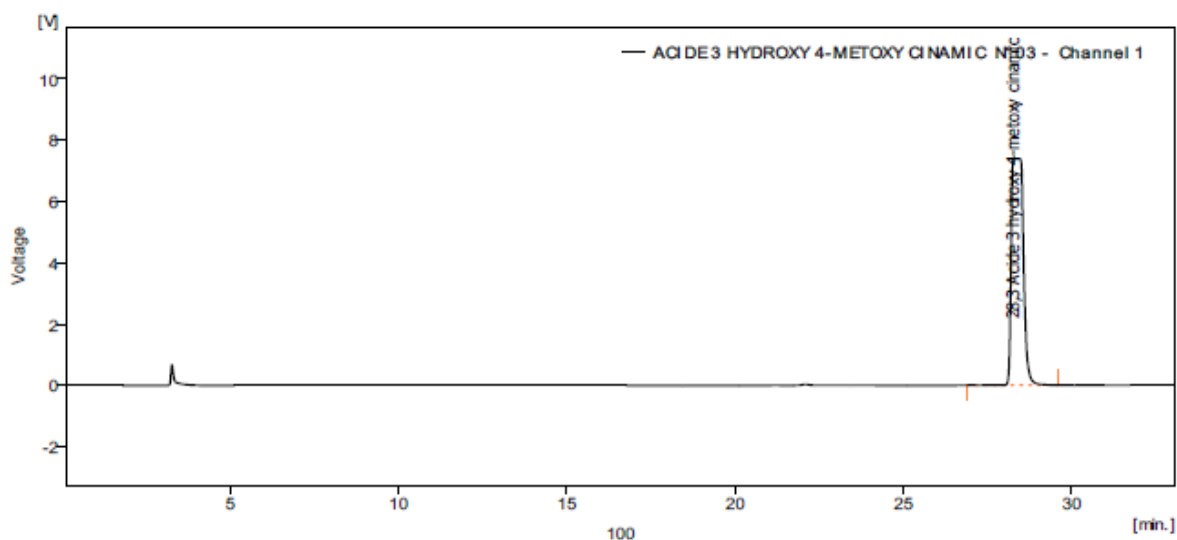
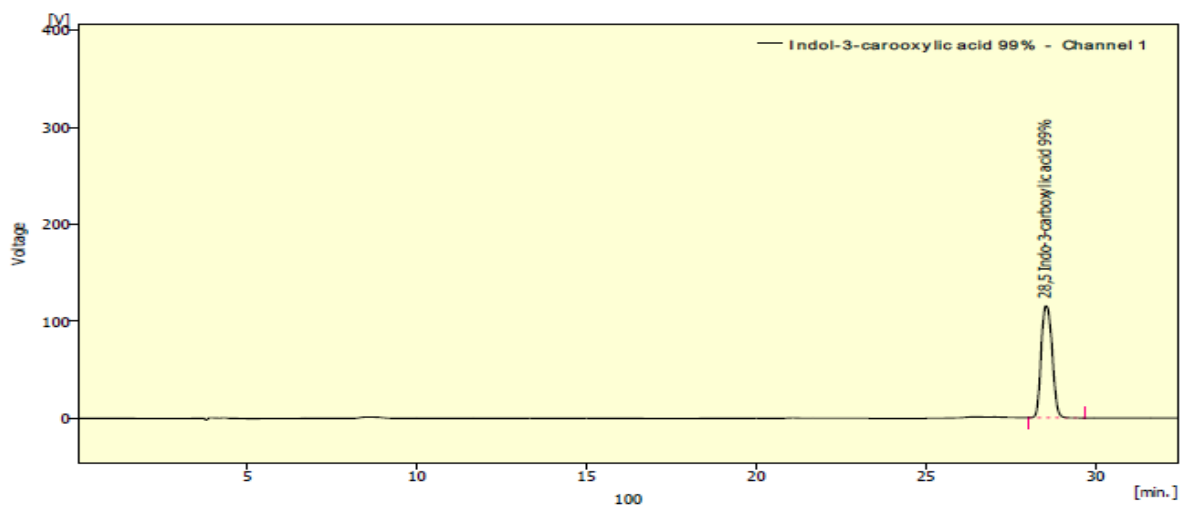


Figure IV.19 : Chromatogramme CLHP de l'étalon acide férulique.

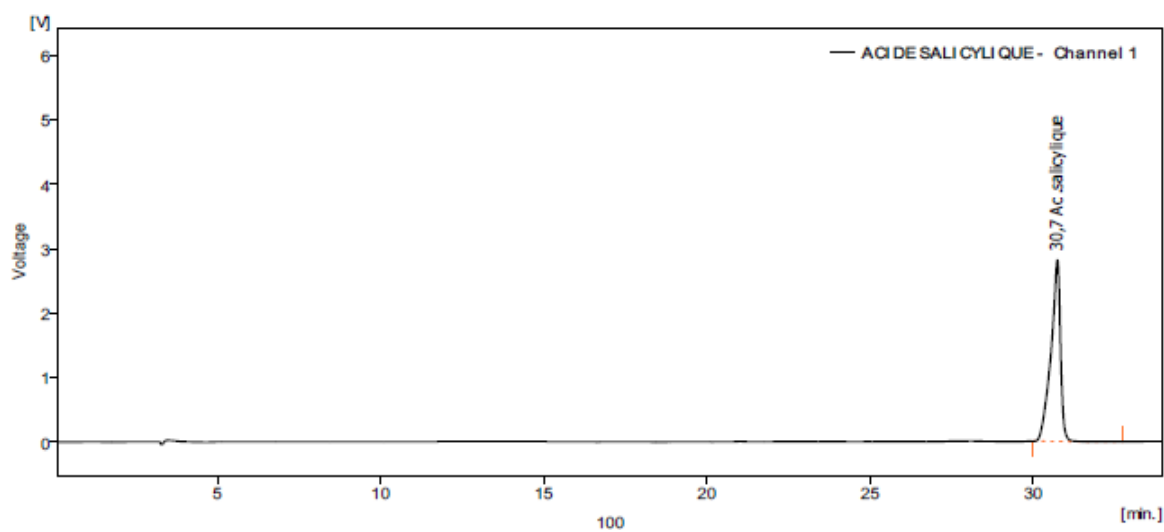
## CHAPITRE IV : Partie expérimentale



**Figure IV.20 :** Chromatogramme CLHP de l'étalon acide-3-hydroxy-4-méthoxy cinnamique.



**Figure IV.21 :** Chromatogramme CLHP de l'étalon indol-3-carboxylique



**Figure IV.22 :** Chromatogramme CLHP de l'étalon acide salicylique.



## CHAPITRE IV : Partie expérimentale

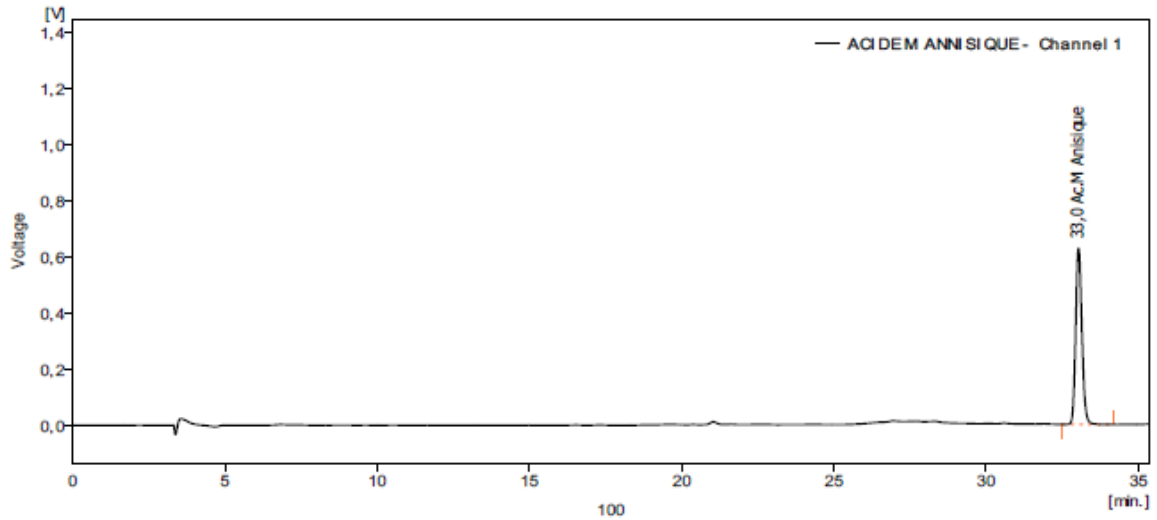


Figure IV.23 : Chromatogramme CLHP de l'étalon acide m-anisique.

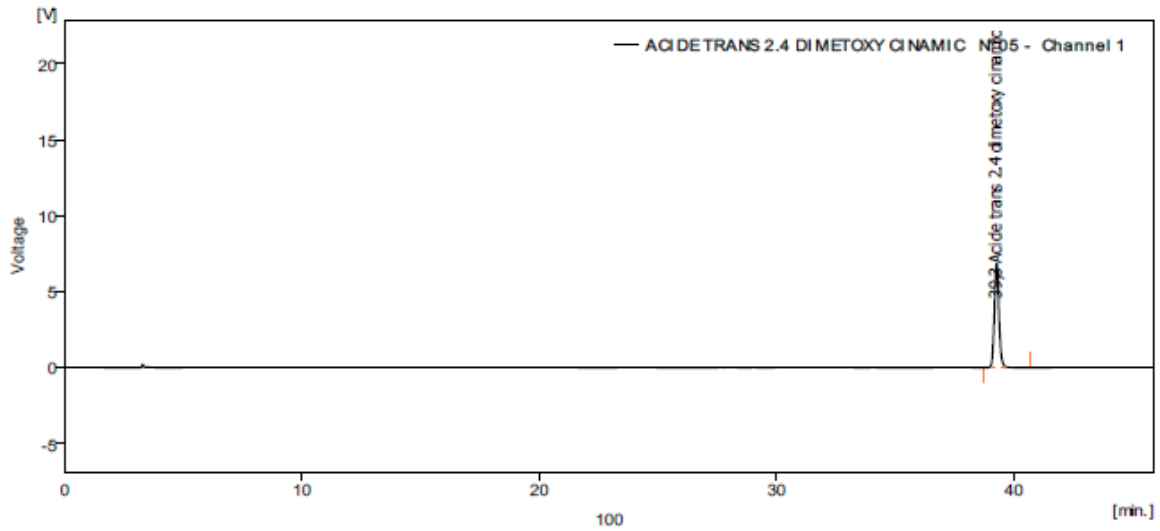


Figure IV.24 : Chromatogramme CLHP de l'étalon acide trans 2,4-diméthoxy cinnamique.

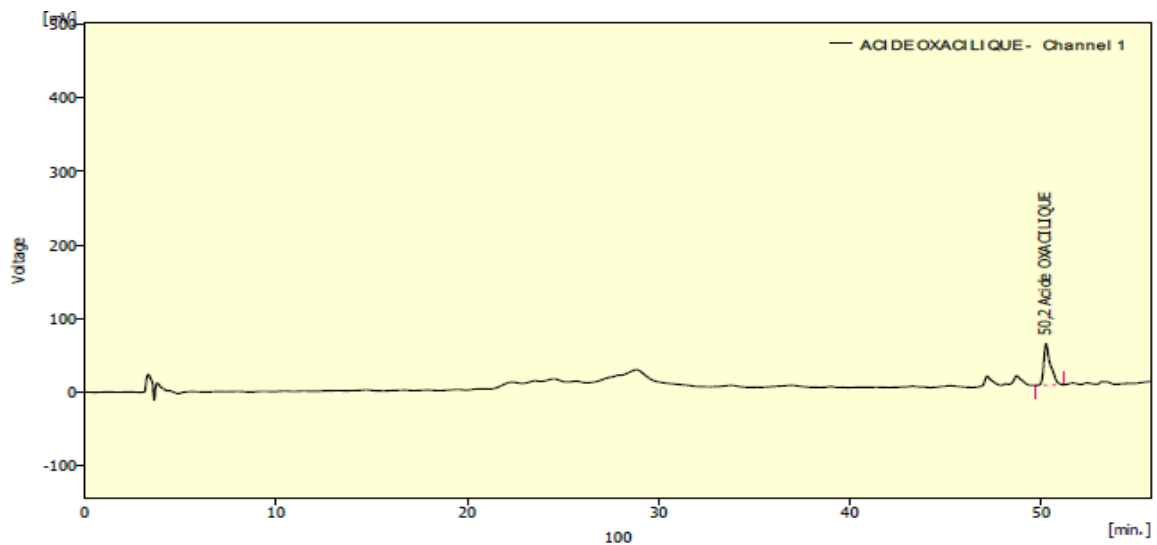


Figure IV.25 : Chromatogramme CLHP de l'étalon acide oxalique.

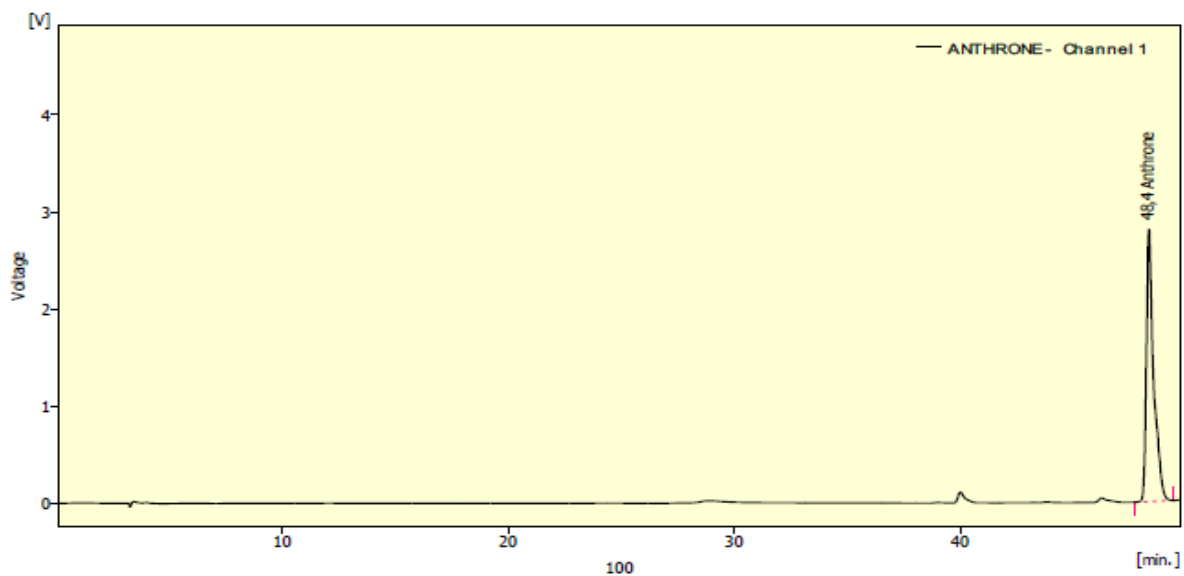


Figure IV.26 : Chromatogramme CLHP de l'étalon anthrone.

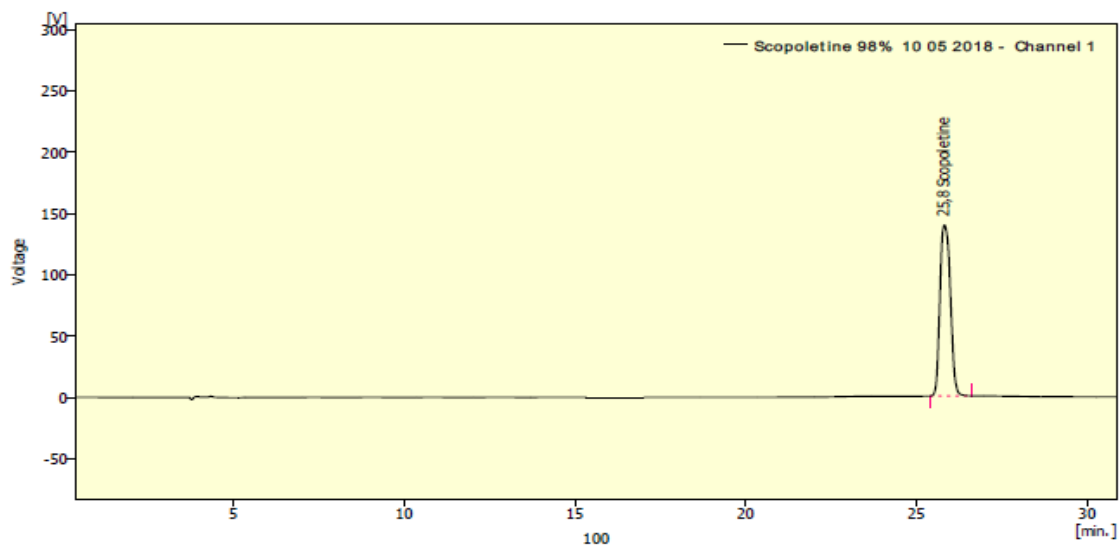


Figure IV.27 : Chromatogramme CLHP de l'étalon scopolétine.

### IV.2.4. Criblage phytochimique par CLHP des extraits

Après la comparaison des temps de rétention des extraits avec ceux des témoins, les résultats sont présentés sur le **tableau IV.4** et les **figure IV.28**, et **figure IV.29** respectivement.

## CHAPITRE IV : Partie expérimentale

**Tableau IV.4 :** Les composés phénoliques identifiés dans les extraits de *G. aspalathoides* Lamk. Ssp.erinaceoides (Lois) par CLHP à longueur d'onde 254nm.

N°	Acides Phénoliques	t <sub>r</sub> (min)	L'extrait acétate éthyle	L'extrait n-butanol
1	Acide ascorbique	3.9	+	-
2	Acide gallique	10.3	-	-
3	Acide caféique	20.5	+	-
4	Acide para-coumarique	21.8	-	-
5	Acide vanillique	22.7	-	-
6	Acide syringique	22.6	-	+
7	Acide trans cinnamique	25.2	-	-
8	Acide férulique	26.9	-	-
9	Acide 3- hydroxy 4- métoxy cinnamique	28.3	-	-
10	Acide indol-3- Carboxylique	28.5	-	+
11	Acide salicylique	30.7	-	-
12	Acide m-anisique	33.0	-	+
13	Acide trans 2,4- dimétoxy cinnamique	39.3	-	-
14	Acide oxalique	50.2	-	-
N°	Les flavonoïdes	t <sub>r</sub> (min)	L'extrait acétate	L'extrait n-butanol
1	Catéchine	21.6	+	+
2	Epicatéchine	22.5	+	+
3	Robinin	31.5	-	-
4	Rutine	32	+	+
5	Myrcétine	34.3	-	-
6	Naringénine	39	-	-
7	Kaempférol	42.2	+	-
8	Apgénine	42.5	-	-
9	3-hydroxy-flavone	49.6	+	+
N°	Anthocyanes	t <sub>r</sub> (min)	L'extrait acétate	L'extrait n-butanol
1	Malvine chloride	35.8	-	+
2	Anthrone	48.4	+	+
N°	Coumarine	t <sub>r</sub> (min)	L'extrait acétate	L'extrait n-butanol
1	Scopolétine	25.8	-	-

IV.2.5. Etudes d'interférences des chromatogrammes CLHP des extraits

Les chromatogrammes d'CLHP des différents extraits sont représentés ci-dessous.

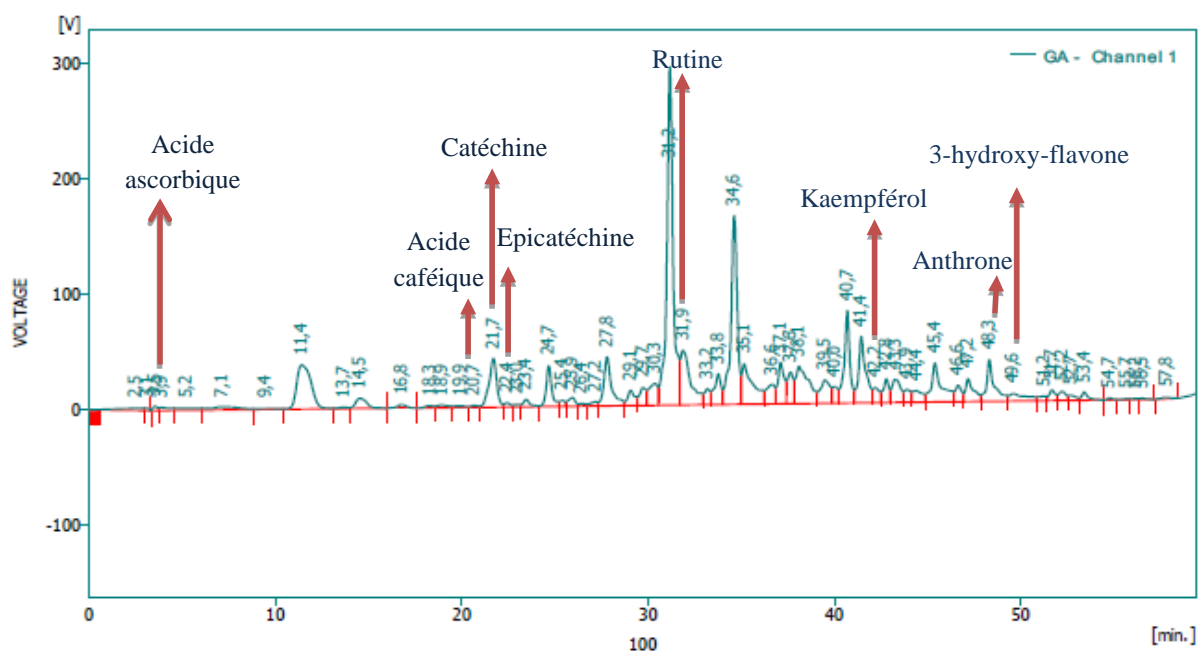


Figure IV.28 : Profil chromatographique CLHP /UV à 254 nm de l'extrait acétate éthyle.

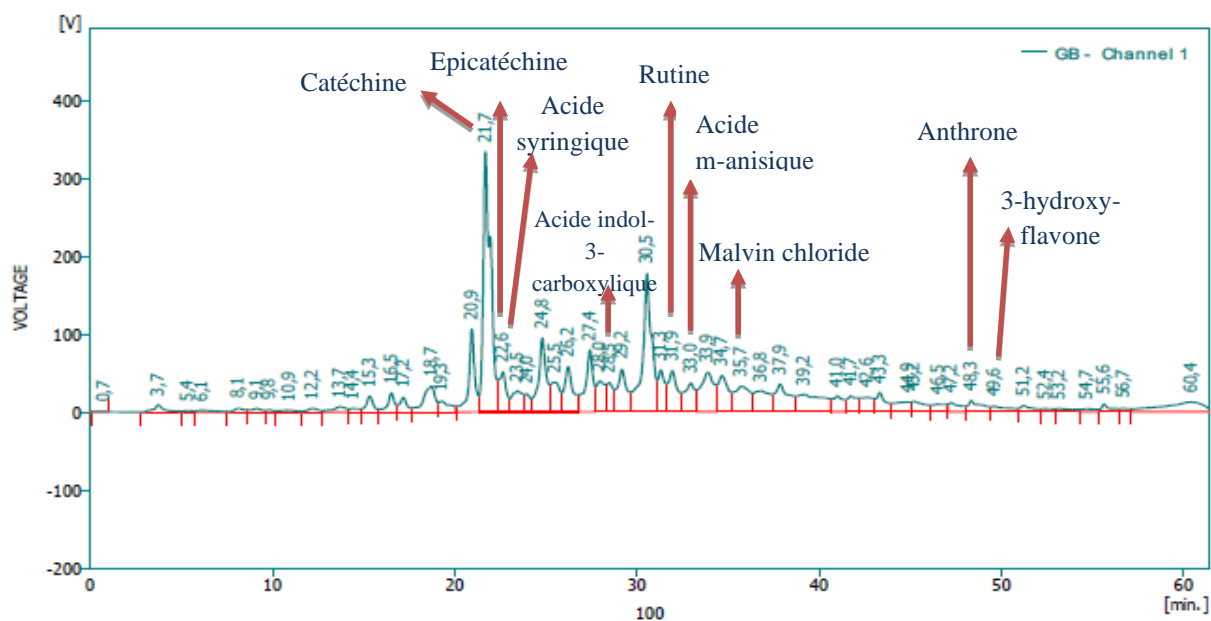


Figure IV.29 : Profil chromatographique CLHP /UV à 254 nm de l'extrait n-butanol.

### IV.2.6. Description des profils chromatographique de l'CLHP

L'observation des profils chromatographiques de l'extrait acétate éthyle et n-butanol du *Genista aspalathoides* Lamk (figures IV.28 et IV. 29) par CLHP, montre bien la richesse de ce dernier en métabolites secondaires notamment les polyphénols qui absorbent bien à 254 nm.

Après une comparaison aux temps de rétentions (tr) des acides phénoliques et flavonoïdes standards avec nos résultats obtenus dans les chromatogrammes, on pourrait dire que l'extrait acétate d'éthyle et extrait n-butanol pourraient contenir :

#### 1. L'extrait acétate d'éthyle

- Acide ascorbique qui correspond au pic 9 avec un tr de 3.893 qui est proche de la valeur de 3.903 (standard) à une longueur d'onde de 254 nm.
- Acide caféique qui correspond au pic 20 avec un tr de 20.660 qui est proche de la valeur de 20.523 (standard) à une longueur d'onde de 254 nm.
- Catéchine qui correspond au pic 21 avec un tr de 21.693 qui est proche de la valeur de 21.553 (standard) à une longueur d'onde de 254 nm.
- Epicatéchine qui correspond au pic 22 avec un tr de 22.427 qui est proche de la valeur de 22.503 (standard) à une longueur d'onde de 254 nm.
- Rutine qui correspond au pic 35 avec un tr de 31.860 qui est proche de la valeur de 31,980 (standard) à une longueur d'onde de 254 nm.
- Kaempferol qui correspond au pic 48 avec un tr de 42.193 qui est proche de la valeur de 42.2 (standard) à une longueur d'onde de 254 nm.
- Anthrone qui correspond au pic 56 avec un tr de 48.310 qui est proche de la valeur de 48.360 (standard) à une longueur d'onde de 254 nm.
- 3-hydroxy-flavone qui correspond au pic 57 avec un tr de 49,577 qui est proche de la valeur de 49,553 (standard) à une longueur d'onde de 254 nm.

#### 2. L'extrait n-butanol

- Acide syringique qui correspond au pic 19 avec un tr de 22,600 qui est proche de la valeur de 22,593 (standard) à une longueur d'onde de 254 nm.
- Acide indol-3-carboxylique qui correspond au pic 27 avec un tr de 28,480 qui est proche de la valeur de 28,530 (standard) à une longueur d'onde de 254 nm.
- Catéchine qui correspond au pic 18 avec un tr de 21,697 qui est proche de la valeur de 21.553 (standard) à une longueur d'onde de 254 nm.

## CHAPITRE IV : Partie expérimentale

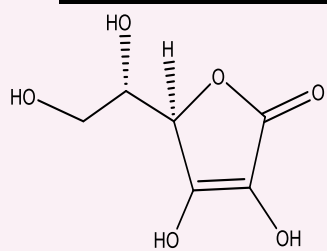
---

- Epicatéchine qui correspond au pic 19 avec un tr de 22,647 qui est proche de la valeur de 22.503 (standard) à une longueur d'onde de 254 nm.
- Rutine qui correspond au pic 31 avec un tr de 31,930 qui est proche de la valeur de 31,980 (standard) à une longueur d'onde de 254 nm.
- Acide m-anisique qui correspond au pic 32 avec un tr de 32,963 qui est proche de la valeur de 33.037 (standard) à une longueur d'onde de 254 nm.
- Malvine chloride qui correspond au pic 35 avec un tr de 35,730 qui est proche de la valeur de 35,770 (standard) à une longueur d'onde de 254 nm.
- Anthrone qui correspond au pic 47 avec un tr de 48,347 qui est proche de la valeur de 48.360 (standard) à une longueur d'onde de 254 nm.
- 3-hydroxy-flavone qui correspond au pic 48 avec un tr de 49,613 qui est proche de la valeur de 49,553 (standard) à une longueur d'onde de 254 nm.

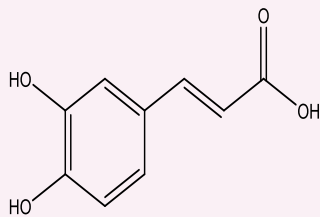
La **figure IV.30** représente les structures des composés phénoliques présents chez l'espèce *Genista aspalathoides* Lamk (l'extrait acétate éthyle et l'extrait

## CHAPITRE IV : Partie expérimentale

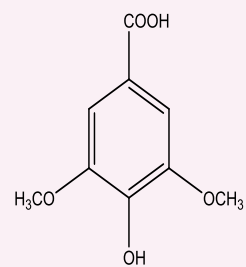
### Les Acides Phénoliques



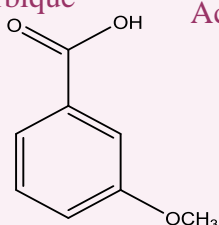
Acide ascorbique



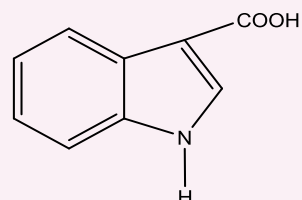
Acide caféique



Acide Syringique

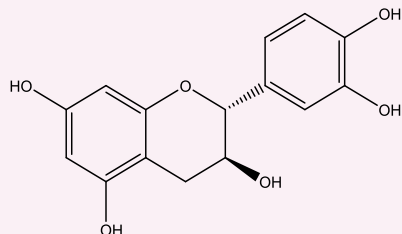


Acide m-anisique

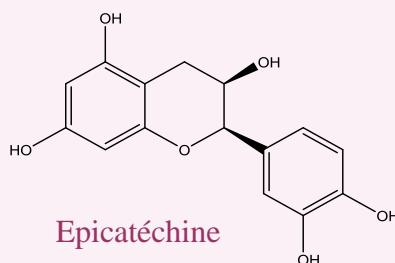


Acide indol-3-carboxylique

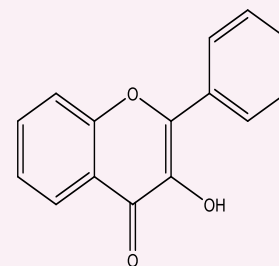
### Les flavonoïdes



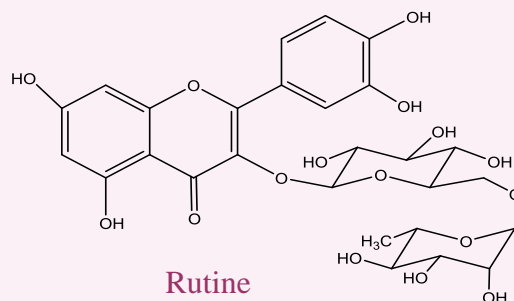
Catéchine



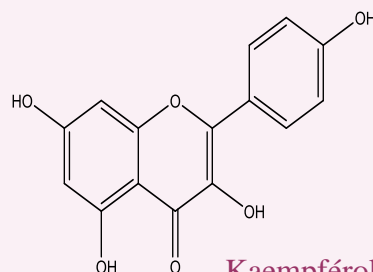
Epicatéchine



3-hydroxy-flavone

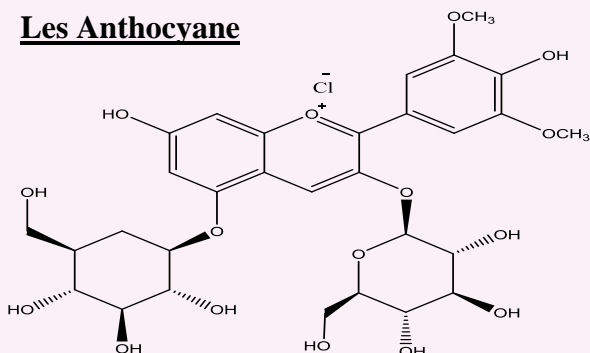


Rutine

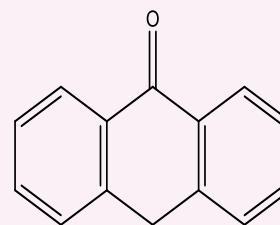


Kaempférol

### Les Anthocyanes



Malvine chloride



Anthrone

**Figure IV.30 :** Les structures des composés phénoliques présents chez l'espèce *Genista aspalathoides* Lamk (l'extrait acétate éthyle et l'extrait n-butanol).

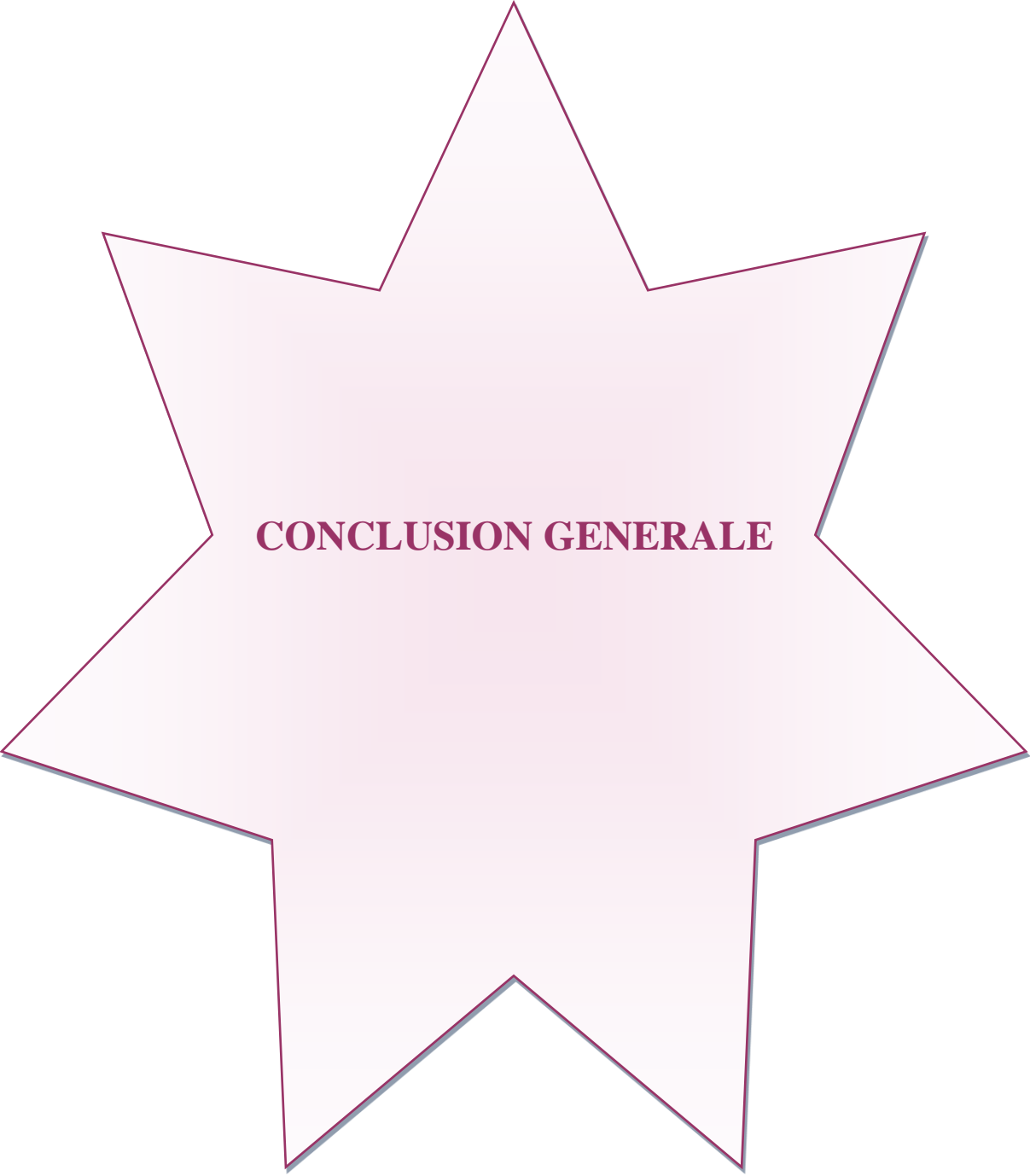
### IV.6. Conclusion

La chromatographie liquide haute performance en phase inversée s'est avérée être la méthode de choix pour la séparation d'une variété de flavonoïdes et des acides phénoliques dans différents échantillons.

-Le profil chromatographique de l'extrait acétate éthyle des *Genista aspalathoides* Lamk qui contient deux acides : acide ascorbique, acide caféique et cinq flavonoïdes : Catéchine, Epicatéchine, Rutine, Kaémpférol, 3-hydroxy-flavone et un anthocyane: Anthrone.

-Le profil chromatographique de l'extrait n-butanol des *Genista aspalathoides* Lamk qui contient trois acides: Acide syringique, Acide indol-3-carboxylique et Acide m-anisique, quatre flavonoïdes: Catéchine, Epicatéchine, Rutine, 3-hydroxy-flavone, et deux anthocyanes: Malvine chloride et Anthrone.





**CONCLUSION GENERALE**

## CONCLUSION

### CONCLUSION GENERALE

Dans cette étude, nous nous sommes intéressés à l'identification des composés phénoliques issus d'une plante appartenant au genre *Genista*, genre connu par sa richesse en composés phénoliques notamment les acides phénoliques et les flavonoïdes. Le screening chimique de l'espèce étudiée *G. aspalathoides* Lamk. ssp. *erinaceoides* (Lois) a relevé la présence des flavonoïdes, alcaloïdes, stéroïdes, triterpènes, terpènes et saponines.

L'extraction hydroalcoolique de cette espèce a permis l'obtention de deux extraits (l'extrait acétate d'éthyle et l'extrait n-butanol) qui ont été traités par la chromatographie liquide haute performance. Les structures des composés phénoliques ont été déterminées par la comparaison aux temps de rétentions (*tr*) des acides phénoliques et flavonoïdes standards avec nos résultats obtenus dans les chromatogrammes.

Étaient déterminés 11 composés phénoliques dans les extraits acétate d'éthyle et n-butanol de l'espèce *G. aspalathoides* Lamk. ssp. *erinaceoides* (Lois) : Acide ascorbique, Acide caféique, Acide syringique, Acide indol-3-carboxylique, Acide m-anisique, Catéchine, Epicatéchine, Rutine, Kaempferol, 3-hydroxy-flavone, Malvine chloride, Anthrone. Ces résultats indiquent que les composés phénoliques sont une classe très répandue dans le genre *Genista* appartenant à la famille des fabacées et constituent donc de bons marqueurs chimiotaxonomiques.

## Références

- [1]. Sumner J. 1st ed. Portland: Timber Press. (2001). *The Natural History of Medicinal Plants*. p 110–5.
- [2]. Chaouche T.M, Haddouchi F, Atik-Bekara F, et al. (2015). Antioxidant, haemolytic activities and HPLC-DAD-ESI-MSn characterization of phenolic compounds from root bark of *Juniperus oxycedrus* subsp.*Oxycedrus*. 64, p 7-182.
- [3]. Quezel P, Santa S. (1963). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. Tome I, C.N.R.S. Paris.
- [4]. Mekkiou R, Touahar H, Marie-Geneviève, Dijoux-Franca, Anne-Marie Mariotte, Benayache S, Benayache F. (2005). A new Isoflavone from *Genista saharae* (Fabaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*.33(6), p 635.
- [5]. Mekkiou R, Seghiri R, Boumaza O, Sarri D, Chebbah K, Benayache S, Bermejo J, Benayache F. (2012). Secondary Metabolites from *genista ferox*.*Chemistry of Natural Compounds*. 48(4), p 710-711.
- [6]. Boumaza O, Mekkiou R, Seghiri R, Sarri D, Benayache S, Garcia V.P, Bermejo J, Benayache F. (2006). Flavonoids and isoflavonoids from *Genista tricuspidata* (Fabaceae). *Chemistry of Natural compounds*, 42(6), p 730-731.
- [7]. Boumaza O, Mekkiou R, Seghiri R, Benayache S, Garcia V.P, Bermejo J, Benayache F. (2011). Secondary metabolites from chloroform extract of *Genista tricuspidata*. *Chemistry of Natural Compounds*. 47(2), p 277-278.
- [8]. Botineau M. (2010). *Botanique systématique et appliqué des plantes à fleurs*. Editions TEC & DOC, Lavoisier. p 597-639.
- [9]. Wojciechowski M.F, Lavin M, Sanderson M.J. (2004). A phylogeny of Legumes (Leguminosae) based on analysis of the plastid MATK gene resolves many well-supported subclades within the family. *American Journal of Botany*.11, p 1846.
- [10]. De Faria S, Lewis G, Sprent J, Sutherland J. (1989). Occurrence of nodulation in the Leguminosae.*New Phytologist*. 111, p 607-619.
- [11]. Judd W.S, Campbell C.S, Kellogg E.A, Stevens P. (2002). *Botanique systématique : une perspective phylogénétique*. Bruxelles : De Boeck Université.

- [12]. Spichiger R.E, Savolainen V, Figeat, Jeanmonod D. (2002). Botanique systématique des plantes à fleur. Presses polytechniques et Universitaires romandes.CH - Lausanne.
- [13]. Quezel P, Santa S. (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome I.C.N.P.S. Paris.
- [14]. Heywood V. H. (1996). Flowering Plants of the World.th edition, Oxford University Press, Oxford.p 141- 145, p 149-152.
- [15]. Schrire B.D, Lavin M, & Lewis G.P. (2005). Global distribution patterns of the Leguminosae: Insights from recent phylogenies. Biologiske Skrifter. 55, p 375-422.
- [16]. Debelmas A.M, Delaveau P. (1983). Guide des plantes dangereuses, IIème édition Paris. p 200.
- [17]. Judd W.S, Campbell C.S, Kellogg E.A, & Stevens P. (2002). Botanique systématique, une perspective phylogénétique. University of Missouri, St. Louis, and Missouri Botanical Garden. p 282-288.
- [18]. Spichiger R.E, Savolainen V.V, Figeat M, Jeanmonod D. (2004). Botanique systématique des plantes à fleurs. Une approche phylogénétique nouvelle des angiospermes des régions tempérées et tropicales. Troisième édition, Presses Polytechniques et Universitaires Romandes.
- [19]. Linuma M. et all. (1993). Constituents of *Vancouveria hexandra* heterocycles. (35), p 407.
- [20]. Arnone A, Camarda L, Merlini L, Nasini G, Taylor D.A.H. (1977). Colouring matters of the West Africa red woods *Pterocarpus osun* and *P.santallinus*. Journal of Chemical Society.19, p 2116-2118.
- [21]. Huxtable R.J. (1990). Activation and pulmonary toxicity of Pyrrolizidine Alkaloids, Pharmac.Ther. 47, p 371-389.
- [22]. Keeler R.F. (1989). Quinolizidine alkaloids in Range and Grain Lupins in « Toxicants of Plant Origin » (Cheeke P. R. éd.), Alkaloids, CRC Press, Boca Raton. 1, p 133-168.
- [23]. Estévez-Braun A, Gonnzalles A.G. (1997). Coumarine, Nat. Prod. Rep.14, p 465-475.
- [24]. Yingmei H, Sansei N, Yukari N. and Zhexiong J. (2001). Flavonol glycosides from the stems of *Trigonella foenum-graecum*, Phytochemistry. 58, p 577-580.
- [25]. Veitch N.C. (2007). Isoflavonoids of the leguminosae, Nat. Prod. Rep. 24, p 417-464.

- [26]. Muhammad S.A, Faman A, Vqai U.A. (2001). Unusual chemical constituents of *Lotus garcinii* (*Fabaceae*), Turk. J. Chem., 25, p 107-112.
- [27]. Ibraheim Z.Z, Khalifa A.A. (2000). Bull. Pharm. Sci, 23, p 177-186.
- [28]. Maire R, Quezel P. (1987). Flore de l'Afrique du Nord, Dicotyls. Leguminosae. Part16.
- [29]. Noccioli C, Meini L, Cecilia Loi M, Potenza D, Pistelli L. (2011). A new pterin isoflavone derivative from *Genista pichisermolliana*. Phytochem.Lett.4(3), p 342.
- [30]. Lograda T. (1996). Variabilités cariologiques et biochimiques de quatre espèces endémiques du genre *Genista* L. Thèse de magister en biologie végétale. Université Ferhat Abbas –Sétif.
- [31]. Azzoui O, ES-Sgaouri A, & Fennane M. (2000). Valeur écologique et biogéographique du genre *Genista* L. du Maroc. Lagasalia. 21(2), p 263-278.
- [32]. Kacem N, Goossens G.F, Duhal N. (2014). Determination of alkaloids in endemic *Genista quadriflora* Munby (*Fabaceae*). Biochemical Systematics and Ecology. 56, p 83-87.
- [33]. Pistelli L, Bertoli A, Giachi I, Morrelli I, Roubioli P, Bicchi C. (2001). Quinolizidine alkaloids from *Genista ephedroides*. Biochem.Sys. Ecol. 29, p 137-141.
- [34]. Erdemoylu N, Ozkan S, Duran A, Yoson F. (2009). GC-MS analysis and antimicrobial activity of alkaloid extract from *Genista vuralii*. Pharmaceutical Biology. 47(1), p 81-85.
- [35]. Kerkatou M, Menad A, Sarri D, Leon F, Brouard I, Bouldjedj R, Chalard P, Ameddah S, Benayache S, Benayache F. (2012). Secondary metabolites from *Genista aspalathoides* Lamk ssp. 5(5), p 285-289.
- [36]. Boukaabache R, Boubekri N, Boumaza O, Mekkiou R, Seghiri R, Sarri D, Zama D, Benayache F. Benayache S. (2013). Phytochemical study of ethyl acetate extract and antioxidant activity of *Genista quadriflora* Munby (*Fabaceae*). Der Pharmacia Lettre. 5(6), p 56-59.
- [37]. Rauter A.P, Martins Al, Lopes R, Ferreira J, Serralheiro L.M, Araujo M, Borges C, Justino J, Silva F, Goulart M, Thomas-Oates, Rodrigues J, A, Edwards E, Noronha J, Helder Mota-Filipe R.P. (2009). Bioactivity studies and chemical profile of the antidiabetic plant *Genista tenera*. Journal of Ethnopharmacology. 122, p 384–393.

- [38]. Adams M, Berset C, Kessler M, Hamburger M. (2009). Medicinal herbs for the treatment of rheumatic disorders. A survey of European herbals from the 16th and 17<sup>th</sup> century. *Journal of Ethnopharmacology*. 121, p 343–359.
- [39]. Guarrera P.M, Leporatti M.L. (2007). Ethnobotanical remarks on Central and Southern Italy. *Journal of Ethnobiology Ethnomedicine*. 3, p 23.
- [40]. Boukaabache R, Boumaza O, Mekkiou R, Seghiri R, Benayache F, Benayache S. (2015). Preliminary Phytochemical Analysis and Chemical Constituents from *Genista aspalathoides* Lamk.ssp.*erinaceoides* (Lois.) M. (Fabaceae). *RJPBCS*. 6(2), p 551-554.
- [41]. Bencherchar I, Demirtas I, Altun M, Gül F, Sarri D, Benayache F, Benayache S, Mekkiou S. (2017). HPLC analysis, anti-oxidant activity of *Genista ferox* and its anti-proliferative effect in HeLa cell line. *Bangladesh J Pharmacol*. 12, p 260-67.
- [42]. Ladik C.M. (2000). Rôle des produits secondaires (tanins et alcaloïdes des espèces for estières de l'est de Madagascar face à populations animales). p 107.
- [43]. Koudougou K. (2000). Étude de la chimie et de l'activité antimycosique des extraits de *Biophytumpetersianum* Klotzsch (Oxalidaceae), université de Ouagadougou-DEA. p 16.
- [44]. Bekro Y.A, Mamyrbekova Bekro J.A, Boua B.B, Tra Bi F.H, Éhilé E.E. (2007). Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend et Zarucchi (Caesalpinaceae), *Sciences & Nature*. 4 (2), p 220.
- [45]. Mibindzou M.A. (2004). Screening phytochimique de deux espèces de plantes : *Crotalaria retusa* L (Papilionaceae) et *Mitragynaciliata* Aubrev. & Pellegr. (Rubiaceae) récoltées au Gabon. p 62.
- [46]. Kongo-Nzuzi Y. (2009). Evaluation in vitro des pouvoirs antifongiques des extraits de feuille de papayer sur des souches de *Candida albicans*, ISTM Kinshasa. p 25.
- [47]. Bouquet A. (1972). Plantes médicinales de Congo Brazzaville, Travaux et document O.R.S.T.O.M paris. 13, p 9.
- [48]. Lokadi L. P. (2008). Etude Chimique de l'espèce *Jacobinia Carnea*, Université de Lubumbashi.
- [49]. Dohou N, Yamini K, Tahrouch S, Idrissi Hassani L.M, Badoc A, Gmira N. (2003). Screening phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine, *Thymelaea lythroides*, *Bulletin de la Société. Pharmacie Bordeaux*. p 66.

- [50]. Najjaa H, Zouari S, Arnault I, Auger J. E, Ammar R, Neffati M. (2001). Différences et Similitudes des métabolites secondaires chez deux espèces du genre *Allium*, *Allium roseum* L. et *Allium ampeloprasum* L. *Acta Botanica. Gallica*. 158(1), p 111-123.
- [51]. Fleuriet A, Jay-Allemand C, Macheix J.J. (2005). Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechniques et universitaires romandes. p 4-5. p 84-86. p 121-216.
- [52]. Dangles O, Stoeckel C, Wigand M.C, Brouillard R. (1992). Two very distinct types of anthocyanin complexation: Copigmentation and inclusion. *Tetrahedron Lett*. 33, p 27-30.
- [53]. Hagerman A. E, Riedl K.M, Jones G. A, Sovik K N, Ritchard N.T, Hartzfeld P.W, Richel T.L. (1998). High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. *J. Agric. Food Chemistry*. 46, p 1887-1892.
- [54]. Sarni-Manchado P, Cheynier V. (2006). Les polyphénols en agroalimentaire, Ed. Lavoisier (Tec & Doc), Paris. p 2-10. 33, p 2-16. p 300-398.
- [55]. Buchanan B, Grissem W, Jones R. (2000). Biochemistry and molecular biology of plants. *American Society of Plant Physiologists*. 24, p 1250-1318.
- [56]. Lobstein A. (2010). Les alcaloïdes. *Substances naturelles et pharmacognosie*. p 3-25.
- [57]. Bruneton J. (1999). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. 3eme édition, éditeur Technique et Documentation, Paris.
- [58]. Bruneton J. (1993). *Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales*, 2ème édition, Lavoisier, Paris.
- [59]. Cheynier V, Fulcrand H, Sarni P, Moutounet M. (1997). Application des techniques analytiques à l'étude des composés phénoliques et de leurs réactions au cours de leur vinification. *In vino Analytica Scientia. Analisis*. 25, p 14-44.
- [60]. Habauzit, Horcajada M.N. (2008). Phenolic Phytochemicals and bone. *Phytochemistry Reviews*. 7, p 313 – 344.
- [61]. Harborne B. (1989) *Methods in plant biochemistry, I: plant phenolics*. Academic Press, London, UK.
- [62]. Crozier A, Clifford M.N, Ashihara H. (2006). *Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet*. Edt Blackwell Publishing Ltd.

- [63]. Agrawal P.K, Markham K.R. (1989). Carbon-13 NMR of flavonoids. Elsevier. Amsterdam.
- [64]. M Ya. Lovkova, G. N. Buzuk, S. M. Sokolova, and N. I. Kliment'eva. (2001). "Chemical Features of Medicinal Plants (Review)" *Applied Biochemistry and Microbiology*, Vol. 37, No. 3, p 229–237.
- [65]. Bohm B.A. (1999). Introduction to flavonoids. CRC Press, England.
- [66]. Agrawal P.K, Markham K.R. (1989). Introduction in Carbon-13 NMR of flavonoids. Agrawal P.K. Ed. Elsevier. Amsterdam. p 1-31.
- [67]. Iwashina T. (2000). The structure and distribution of the flavonoids in plants. *Journal of Plant Research*. 113, p 287-299.
- [68]. Luthar Z. (1992). Polyphenol classification and tannin content of buckwheat seed (*Fagopyrum esculentum* Moench). *Fagopyrum*. 12, p 36-42.
- [69]. Justen U, Knuthsen P, Leth T. (1998). Quantitative analysis of flavonols, flavones and flavanones in fruits, vegetables and beverages by high-performance liquid chromatography with photo-diode array and mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*. 799, p 101-110.
- [70]. Bronner W.E, Beecher G.R. (1995). Extraction and measurement of prominent flavonoids in orange and grapefruit juice concentrates. *Journal of Chromatography A*. 705, p 247-256.
- [71]. Hollman P.C.H, Hertog M.G.L, Katan M.B. (1996). Analysis and health effects of flavonoids. *Food Chem*. 57, p 43-46.
- [72]. Crozier A, Jensen E, Lean M.E.J, McDonald M.S. (1997). Quantitative analysis of flavonoids by reversed-phase high-performance liquid chromatography *J. Chromatography A*. 761, p 315-321.
- [73]. Rahman A.U. (2005). Studies in natural products chemistry: Bioactive natural products. Part. Elsevier. USA.
- [74]. Dewick P.M. (1993). Isoflavonoids. *The Flavonoids Advances in research since 1986*. Edited by J. B. Harborne, Chapman & Hall. London. p 117-238.
- [75]. Mann J. (1987). Secondary metabolism. édition. 2, Clarendon press, Oxford.
- [76]. Lapcik O. (2007). Isoflavonoids in non-leguminous taxa: a rarity rule. *phytochemistry*. 68, p 2909-2916.



- [77]. Reynaud J, Guilet D, Terreux R, Lussignol M, Walchshofer N. (2005). Isoflavonoids in non-leguminous families: an update. *Natural Products Reports*. 22, p 504-515.
- [78]. Heller W, Forkmann G. (1988). In the flavonoid's advances in research since 1980. ed. J.B. Harborne, Chapman and Hall, London. p 399-425.
- [79]. Crombie L, Holden I, van Bruruggen N, Whitting, S. A. (1986) *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* p 1063.
- [80]. Dewick, P.M. (1988b), In the flavonoid's advances in research since 1980. edited by J.B. Harborne, Chapman and Hall, London. p 125-209.
- [81]. Dixon, R. A. (1995), Métabolisme provoqué par la tension de phénylpropanoïde de Paiva NL 1995. *Cellule 7 d'Usine*, p 1085-1097.
- [82]. Dixon R. A, Steele C.L. (1999). Flavonoïdes et isoflavonoïdes – une mine d'or pour la technologie métabolique. *Usine Sci. 4 De Tendances*, p 394-400.
- [83]. Jung W, Yu O, Lau S.M.C, O'Keefe D.P, Odeli J, Fader G, McGonigle B. (2000). Identification and expression of isoflavone synthase, the key enzyme for biosynthesis of isoflavones in legumes. *Nature biotechnol.* 18, p 208-212.
- [84]. Steele C.L, Gijzen M, Qutob D, Dixon R.A. (1999). Molecular characterization of the enzyme catalysing the aryl migration reaction of isoflavonoid biosynthesis in soybean. *Arch. Biochem. Biophys.* 367, p.147-150.
- [85]. Bahorun T. (1997). "Substances naturelles actives : La flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle" Food and Agricultural Research Council, Réduit, Mauritius 83-94 AMAS.
- [86]. Stavric B, Matula T.I. (1992). Flavonoids in food. Their significance for nutrition and health. In: Ong, A.S.H., Packer, L., eds. *Lipid soluble and antioxidants: Biochemistry and clinical applications*, Basel: Birkhauser Verlag. p. 274-294.
- [87]. Das H.C, Wang J.H, Lien E.J. (1994) Carcinogenicity and cancer preventing activities of flavonoids: A structure-system-activity relationship (SSAR) analysis. In: Jucker, E, ed. *Progress in Drug Research*, Basel: Birkhauser Verlag. p 133-136
- [88]. Bidet D, Gagnault J.C, Girard P, Trotin F. (1987). Inflammation, allergie, douleur et acide arachidonique : du jardin des Hespérides à la cascade de l'acide arachidonique : Les flavonoïdes, *L'actualité chimique*. p 89 – 97.

- [89]. Aruoma O.I, Spencer J.P.E, Butler J, Halliwell B. (1995). Commentary reaction of plant-derived and synthetic antioxidants with trichloromethylperoxyl radicals, *Free Rad. Res.* 22, p 187 - 190.
- [90]. Guingard J. (1996). *Biochimie végétale*. Lavoisier, Paris. p 175-192.
- [91]. Heller W, Forkmann G. The flavonoids :Advances in research since (1986).(1993). In Harborne JB. *Secondary Plant Products*.Encyclopedia of plant physiology. Ed. Chapman & Hall, London. p 399-425.
- [92]. Harborne J. B. (1997). Recent advances in chemical ecology. *Natural Product Reports*,14, p 83-98.
- [93]. Latte L.P, Kolodziej H. (2000). Antifungal effects of hydrolysable tannins and related compounds on dermatophytes, mould fungi and yeasts. *Naturforsch*, 5 (5-6), p 467-72.
- [94]. Leitao D.P, Polizello, A.C, Izabel Y Ito, Spadaro, A.C. (2005).Antibacterial screening of anthocyanic and proanthocyanic fractions from cranberry juice. *J. Med. Food.* 8 (1), p 36-40.
- [95]. Yamanaka N, Samu O, Nagao, S. (1996). Green tea catechins such as (-) epicatechin and (-) epigallocatechin accelerate Cu<sup>+2</sup> induced low density lipoprotein oxidation in propagation phase. *FEBS Lett.*401, p 230-4.
- [96]. Cheruvanky H. (2004). Method for treating hypercholesterolemia, hyperlipidemia and arteriosclerosis. *United States Patol.*6 (4), p 733-99.
- [97]. Notomo H, Ligo M, Hamada H, Kojima S, Isuda H. (2004). Chemoprevention of colorectal cancer by grape seed proanthocyanidin is accompanied by a decrease in proliferation and increase in apoptosis. *Nutr.Cancer.*49 (1), p 81-8.
- [98]. Gosse F, Guyot S, Roussi S, Labstein A, Fisher B, Seiler N, Raul F. (2005). Chemopreventive properties of apple procyanidins of human colon cancer-derived metastatic SW620 cells and in a rat colon of edon carcinogenesis. *Carcinogenesis.* 26 (7), p 1291-5.
- [99]. Pietta, P.G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *J. Nat. Prod.* 63 (7), p 1035-42.
- [100]. Doat J. (1978). Les tannins dans les bois tropicaux. *Rev. Bois et forêts des trop.* 182, p 37-54.
- [101]. Ghestem A, Seguin E, Paris M, Orecchioni A. M, (2001). *Le préparateur en pharmacie*. Ed. Médicales Internationales. Paris. p 108-119.

- [102]. Harborne JB. (1989). Recent advances in chemical ecology. *Nat. Prod. Rep.* 25 (7), p 85-109.
- [103]. Bruneton, J. (2009). *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales*. 4eme Edition Lavoisier. Paris.
- [104]. Peterson J, Dwyer J, Adlercreutz H, Scalbert A, Jacques P, McCullough, M. L. (2010). Dietary lignans: physiology and potential for cardiovascular disease risk reduction. *Nutr. Rev.* 68(10), p 571–603.
- [105]. Axelson M, Sjovall J, Gustafsson B. E, Setchell, K.D. (1982). Origin of lignans in Mammals and identification of a precursor from plants. *Nature*. 298, p 659-660.
- [106]. Sainvitu P, Nott K, Richard G, Blecker C, Jérôme C, Wathelet J.-P, Paquot M, Deleu, M. (2012). Structure, properties and obtention routes of flaxseed lignan secoisolariciresinol: a review. *Biotechnol.Agron.Soc. Environ.* 16(1), p 115-124.
- [107]. Hopkins W. G. (2003). *Physiologie végétale*. De Boeck Supérieur. p 280.
- [108]. Jutiviboonsuk A, Zhang H, Tan T. G, Ma C, Van Hung N, Cuong N.M, Bunyapraphatsara N, Soejarto D D, Fong H H S. (2005). Bioactive constituents from roots of *Bursera tonkinensis*. *Phytochemistry*. 66, p 2745 - 2751.
- [109]. Lugasi A, Hóvári J, Sági K.V, Biról. (2003). The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta. Biol. Szeged.* 47, p 119-125.
- [110]. Brouillard R, Figueiredo P, Elhabiri M, Dangles O. (1997) 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*. Oxford, UK. Clarendon Press. p 30-49.
- [111]. Sun J, Khtan B, Huang S.H, Whiteman M. Zhu Y.Z. (2002). Effects of natural products on Eschemic heart diseases and cardiovascular system. *Acta.Pharmaco.*23, p 1142- 1151.
- [112]. Regos I, Urbanella A, Treutter D. (2009). *Agriculture.Food Chemistry*. Identification and Quantification of Phenolic Compounds from the Forage Legume Sainfoin (*Onobrychis viciifolia*).57, p 5843–5852
- [113]. Morel S, Landreau A, Nguyen V.H, Derbré S, Grellier P, Le Pape p, Pagniez F, Litaudone M et Richomme P. (2011). *Phytochemical Analysis. Preparative Isolation, Fast Centrifugal Partition*

Chromatography Purification and Biological Activity of Cajaflavanone from *Derris ferruginea* Stems. 23(2), p 152–158

[114]. Wang J, Gao H, Zhao J, Wang Q, Zhou L, Han J, Yu Z, Yang F. (2010). Molecules. Preparative Separation of Phenolic Compounds from *Halimodendron halodendron* by High-Speed Counter-Current Chromatography. 15, p 5998-6007.

[115]. Wixom R.L. (2001). Chapter 1 The beginnings of chromatography — The pioneers (1900–1960). *Chromatography a Century of Discovery 1900–2000 - the Bridge to the Sciences/technology*. p 1–38.

[116]. Rouessac F, Rouessac A. *Méthodes et techniques instrumentales modernes* 6<sup>e</sup> édition

[117]. Andrea W, Phyllis R. (1997). *HPLC and CE Principles and practice*.

[118]. azakevich Y. V, & McNair H. M. (1993). Thermodynamic Definition of HPLC Dead Volume. *Journal of Chromatographic Science*. 31(8), p 317–322.

[119]. Bobzin S.C, Yang S, Kasten T.P. (2000). Application of liquid chromatography–nuclear magnetic resonance spectroscopy to the identification of natural products. *Chromatography. B*. 748, p 259–267.

## Résumé

Les composés phénoliques sont des constituants de nombreuses plantes et herbes, et ils ont suscité un grand intérêt public et scientifique en raison de leurs effets bénéfiques pour la santé en tant qu'antioxydants. Donc notre travail est basé sur la détermination de structure des composés phénoliques de l'espèce *Genista aspalathoides* Lamk. ssp. *erinaceoides* (Lois), est une espèce rare du genre *Genista* appartient à la famille Fabaceae qui nécessite une caractérisation plus détaillée. Par conséquent, les composés phénoliques ont été analysée par des techniques de chromatographie liquide haute performance à longueur d'onde 254nm, puis la comparaison aux temps de rétentions (tr) des acides phénoliques et flavonoïdes standards injectés dans les mêmes conditions chromatographiques.

L'analyse qualitative par HPLC/UV-VIS de l'espèce *Genista aspalathoides* Lamk. ssp. *erinaceoides* (Lois), a permis d'identifier :

- 5 flavonoïdes : Catéchine, Epicatéchine, Rutine, Kaempferol et 3-hydroxy-flavone.
- 5 acides : Acide ascorbique, Acide caféique, Acide syringique, Acide indol-3-carboxylique et Acide m-anisique.
- 2 anthocyanes : Anthrone et Malvine chloride

**Les mots clés :** Fabaceae, *Genista aspalathoides* Lamk. ssp. *erinaceoides* (Lois), composés phénoliques, HPLC.

## Abstract

Phenolic compounds are constituents of many plants and herbs, and they have a great public advantages and scientific interest due to their health benefits as antioxidants. So, our work is based on the structural determination of phenolic compounds of the species *Genista aspalathoides* Lamk.ssp. It's a rare species of the genus *Genista* belongs to the Fabaceae family which requires more detailed characterization. By conclusion, the phenolic compounds were analysed by high performance liquid chromatography techniques at wavelength 254nm, Then the comparison with the retention times (tr) of the standard phenolic acids and flavonoids injected under the same chromatographic conditions.

Qualitative analysis by HPLC / UV-VIS of the species *Genista aspalathoides* Lamk. ssp. *erinaceoides* (Lois), allowed to identify:

- 5 flavonoids: Catechin, Epicatechin, Rutin, Kaempferol and 3-hydroxy-flavone
- 5 acids: Ascorbic acid, Caffeic acid, Syringic acid, Indol-3-carboxylic acid and m-anisic acid.
- 2 Anthocyanin: Anthrone and Malvin chloride.

**Keywords :** Fabaceae, *Genista aspalathoides* Lamk. ssp. *erinaceoides* (Lois), phenolic compounds, HPLC.

## ملخص

المركبات الفينولية هي مكونات العديد من النباتات والأعشاب، وقد أثارت اهتمامًا عامًا وعلميًا كبيرًا نظرًا لفوائدها الصحية كمضادات للأكسدة. إذن يعتمد عملنا على التحديد الهيكلي للمركبات الفينولية من نوع *Genista aspalathoides* Lamk. ssp. *erinaceoides* (Lois)، وهو نوع نادر من جنس *Genista* ينتمي إلى عائلة البقوليات *Fabaceae* حيث يتطلب وصفاً أكثر تفصيلاً. لذلك تم تحليل المركبات الفينولية باستخدام تقنيات كروماتوجرافيا سائلة عالية الأداء عند طول موجة 254 نانومتر، بالإضافة إلى المقارنة مع أوقات الاحتفاظ (tr) للأحماض الفينولية والفلافونويد المحقون تحت نفس الظروف الكروماتوجرافية.

➤ التحليل النوعي بواسطة HPLC / UV-VIS للنوع *Genista aspalathoides* Lamk. ssp. *erinaceoides* (Lois)

، *erinaceoides* (Lois) ، سمح لنا بتحديد:

➤ 5 مركبات فلافونويد: كاتشين ، إبيكاتشين ، روتين ، كايمفيرول و 3-هيدروكسي فلافون.

➤ 5 أحماض: حمض الأسكوربيك ، وحمض الكافيين ، وحمض السرينجيك ، وحمض إندول-3-كربوكسيليك ، وحمض ميتا- أنيسيك.

➤ مركبين من الأنتوسيانين: أنثرون و كلوريد مالفين.

، *Genista aspalathoides* Lamk. ssp. *erinaceoides* (Lois) ، *Fabaceae*: **الكلمات المفتاحية:**

مركبات فينولية ، HPLC.



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Société Par Action du  
Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-  
Chimiques Expertise, Filiale 100% du CRAPC (MESRS)

Ref : AT00896/2019

# ATTESTATION DE PARTICIPATION

Nous attestons par la présente, que M<sup>R</sup> /M<sup>me</sup> /M<sup>lle</sup> : **BENYOUCEF Nadia**  
Né(e) le : **15/07/1995** à : **Hadjout** ; A suivi avec succès une session d'Assistance Technique sur  
le thème « **La Chromatographie en Phase Liquide à Haute Performance (HPLC)** »,  
qui s'est déroulée au sein du **Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses  
Physico-Chimiques (CRAPC)**- Bou-Ismaïl - W.Tipasa, du 30/12/2019 au 31/12/2019.

La présente attestation est délivrée à l'intéressé pour valoir et servir ce que de droit.

Fait à Bou-Ismaïl, le : **31 / 12 / 2019**

Directeur du CRAPC Expertise SPA

**KHADIM AZZEDINE**  
DIRECTEUR GÉNÉRAL



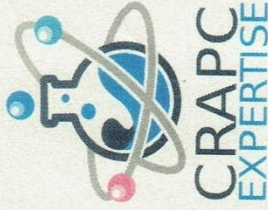
Formateurs :

M<sup>R</sup> M.HADJADJ

Mme S.TOUATI

Mme M.Z.BOUTAIBA





République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Société Par Action du  
Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-  
Chimiques Expertise, Filiale 100% du CRAPC (MESRS)

Réf : AT00893/2019

# ATTESTATION DE PARTICIPATION

Nous attestons par la présente, que M<sup>R</sup> /M<sup>me</sup> /M<sup>lle</sup> : **BENATTALLAH Ikhlas**  
Né(e) le : **21/02/1998** à : **Blida** ; A suivi avec succès une session d' Assistance Technique sur  
le thème « **La Chromatographie en Phase Liquide à Haute Performance (HPLC)**»,  
qui s'est déroulée au sein du **Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses  
Physico-Chimiques (CRAPC)- Bou-Ismaïl - W.Tipasa, du 30/12/2019 au 31/12/2019.**

La présente attestation est délivrée à l'intéressé pour valoir et servir ce que de droit.

Fait à Bou-Ismaïl, le : **31 / 12 / 2019**

**Directeur du CRAPC Expertise SPA**



**Formateurs :**

**M<sup>r</sup> M.HADJADJ**

**Mme S.TOUATI**

**Mme M.Z.BOUTAIBA**