

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE



Ministère de l'enseignement supérieur
et de la recherche scientifique

UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA

Faculté des Sciences de l'ingénieur

MEMOIRE DE MASTER

Département de chimie

Spécialité : Chimie des produits naturelles

ETUDE PHYTOCHIMIQUE ET DE L'EVALUATION DE L'ACTIVITE
ANTIOXYDANTE SUR DEUX EXTRAITS DE L'ESPECE *Genista.aspalathoides*
Lamk et Genista. quadriflora Munby.

Mémoire présenté par

BELAIDI Ferial, BAYOUD Radia

Soutenu septembre 2021, devant le jury composé de :

M ^r ZAHI Mohamed Reda	MCB	Président	Université Blida 1
M ^r ABDALLAH EL HADJ Abdallah	MCA	Examineur	Université Blida 1
M ^{me} BOUKAABACHE Rabia	MCB	Promotrice	Université Blida 1

Blida 2020-2021

Remerciement

Nous remercions tout d'abord Allah le tout puissant de nous avoir illuminé et ouvert les portes du savoir et de nous avoir donné la volonté et le courage pour accomplir ce travail.

Il nous est particulièrement agréable d'exprimer notre gratitude et nos remerciements à tous ceux qui, par leur enseignement, leur soutien et leurs conseils, ils nous ont aidés à la réalisation de ce modeste travail.

Nous tenons particulièrement à remercier notre promotrice M^{me} BOUKAABACHE RABIA. Recevez ici nos sincères remerciements pour la confiance et les conseils que vous nous avez accordés. Merci également pour votre encadrement, votre disponibilité et votre gentillesse.

On remercie aussi M^r MEZRAG Abderrahmane pour tous les conseils et les efforts qu'il a fournis avec nous tout au long de cette période.

On remercie aussi le président du jury (M^r ZAHY Mohamed Reda) d'avoir accepté de présider notre jury

Et l'examineur (M^r ABDALLAH EL HADJ Abdallah) Vous nous faites un grand honneur en acceptant d'évaluer et de juger ce travail.

Nous remercions aussi tous les enseignants qui nous ont accompagnés durant notre cursus

Nous remercions tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin à réaliser ce travail.

Un grand merci à nos amies et camarades pour les moments agréables.

Dédicaces

*À l'aide de dieu « ALLAH » tout puissant qui m'a tracé le chemin de ma
Vie, j'ai pu réaliser ce travail.*

*Que je dédie ce modeste travail : à ma famille spécialement aux personnes les
plus chères au monde.*

*Mon père Redhouane et ma mère Amina, qui sont la lumière de mes yeux,
l'ombre*

*De mes pas et le bonheur de ma vie. Qui m'ont apportés la tendresse, la
confiance, le courage et la sécurité durant toutes mes années.*

*À mon cher frère Akram, qui m'avez toujours soutenu et encouragé durant ces
années d'études.*

*À mon adorable petite sœur Nourhane qui sait toujours comment procurer la
joie et le bonheur pour toute la famille.*

*À mon grand-père Bengherbia Kamel, un grand merci à vous, pour ton
encouragement et ton soutien.*

*À mes grandes mères Bengherbia Atika et Fadhila pour leur douceur et leur
gentillesse, Elles ne m'ont jamais oublié dans leurs prières.*

*À toute ma famille chacun par son nom, et spécialement mon très cher oncle
Belaidi Zoubir, Que dieu leur donne une longue et joyeuse vie.*

*Sans oublier mon binôme Radia pour son soutien moral, sa patience et sa
compréhension tout au long de ce projet.*

*À toutes mes amies qui m'ont toujours encouragé, et à qui je souhaite plus de
succès.*

A tous ceux que j'aime

Merci

« Ferial »



Dédicaces

*À l'aide de dieu « ALLAH » tout puissant qui m'a tracé
le chemin de ma vie, J'ai pu réaliser ce travail.*

*Que je dédie ce modeste travail : à ma famille spécialement aux personnes
les plus chères au monde.*

*À mon père Mohamed et ma mère Faiza, qui sont la lumière de mes yeux
l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie. Qui m'ont apportés la tendresse
la confiance, le courage et la sécurité durant toutes mes années.*

*À mon très cher mari Laidani Mohamed Ridha, qui m'a aidé, m'a encouragé
et m'a conseillé, il me donne la force de continuer, il a tout mon respect
que dieu le garde.*

*À ma belle-mère Fadhila, mon beau père M'Hamed, mes belles sœurs Imen
et Basma et mon beau-frère Mounir.*

*À mes adorables sœurs Imen et Ihcene, mon cher frère Younes et mon cher oncle
Mohamed qui était toujours à mes côtés pendant les moments difficiles.*

*À toute ma famille chacun par son nom, Que dieu leur donne une longue
et joyeuse vie.*

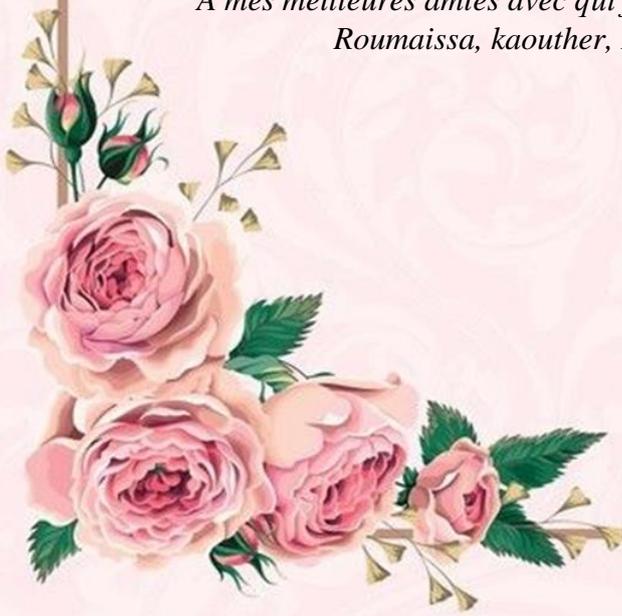
*Sans oublier mon binôme Ferial pour son soutien moral, sa patience
et sa compréhension tout au long de ce projet.*

*À mes meilleures amies avec qui j'ai passé mes plus belles années :
Roumaissa, kaouther, Nesrine, Ferial, Saloua.*

A tous ceux que j'aime

Merci

« Radia »



« LISTE DES ABREVIATIONS »

ACOEt : L'Acétate d'éthyle

CH₃COOH : L'Acide acétique

COOH : L'Acide carboxylique

H₂SO₄ : L'Acide sulfurique

C₄H₆O₃ : L'Anhydride acétique

APG : L'Angiosperm Phylogeny Group

NH₄OH : L'Ammonique

NaHCO₃ : Bicarbonate de sodium

CHCl₃ : Chloroforme

FeCl₃ : Le chlorure de fer

CCM : La chromatographie analytique sur couche mince

VLC : La chromatographie liquide sous vide

IC₅₀ : La concentration inhibitrice

CH₂Cl₂ : Dichlorométhane

DPPH : 2,2' –diphenyl-1-picrylhydrazyle

OH : Fonction alcool

G.A : *Genista. Aspalathoides Lamk ssp.*

G.Q : *Genista. Quadriflora Munby.*

Glu : Glucose

CH₂OH : Groupe hydroxyl méthyle

OCH₃ : Groupe méthoxy

ICBN: International Code of Botanical Nomenclature

MeOH : Méthanol

« LISTE DES FIGURES »

Figure I.1 : Quelques exemples de <i>fabacées</i> qui ressemblent à des fleurs de papillons.....	3
Figure I.2 : Diversités des légumineuses.....	4
Figure I.3 : Distribution de la famille <i>fabacées</i>	4
Figure I.4 : Exemple de ce à quoi ressemblent les buissons de genre <i>Genista</i>	8
Figure I.5 : Espèce <i>Genista numidica Spach</i>	9
Figure I.6 : Trois espèces de genre <i>Genista</i> (<i>G.tenera</i> , <i>G.anglica</i> , <i>G.germanica</i> ..	10
Figure I.7 : Photo des tiges de <i>G.aspalathoides Lamk. Ssp. erinaceoides (Lois)</i> ..	11
Figure I.8 : Photo des fleurs de <i>G. aspalathoides Lamk</i>	12
Figure I.9 : Photo du petit arbrisseau de <i>G. aspalathoides Lamk</i>	12
Figure I.10 : Photo de <i>Genista quadriflora Munby</i>	12
Figure II.1 : Iso flavonoïdes isolés du genre <i>Genista</i>	16
Figure II.2 : Flavonoïdes isolés du genre <i>Genista</i>	18
Figure II.3 : Saponosides isolés du genre <i>Genista</i>	20
Figure II.4 : Alcaloïdes isolés du genre <i>Genista</i>	22
Figure III.1 : Les extraits n-butanol <i>G. aspalathoides Lamk et G. quadriflora Munby</i>	24
Figure III.2 : VLC sur C18 de l'extrait butanol des parties aériennes de <i>Genista</i> ..	30
Figure III.3 : Mécanisme réactionnel du test DPPH°	32
Figure III.4 : Structure de l'acide gallique.....	34
Figure III.5 : Protocole de dosage des polyphénols totaux.....	35
Figure IV.1 : Les fractions de la VLC sur C-18 de l'extrait n-butanol des parties aériennes de <i>G. aspalathoides Lamk</i>	42
Figure IV.2 : Le chromatogramme de l'extrait n-butanol des parties aériennes de <i>G. aspalathoides Lamk</i>	43

Figure IV.3 : Le chromatogramme de l'extrait n-butanol des parties aériennes de <i>G. quadriflora</i> Munby.....	44
Figure IV.4 : Les courbes des pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations.....	46
Figure IV.5 : La courbe de pourcentage d'inhibition du DPPH d'acide ascorbique (standard) en fonction de la concentration.....	46
Figure IV.6 : La courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	47
Figure IV.7 : Dosage polyphénols de l'espèce <i>G. aspalathoi</i> des Lamk.....	48
Figure IV.8 : Dosage polyphénols <i>G. Quadriflora</i> Munby.....	48
Figure IV.9 : L'histogramme de la quantité en (mg EAG/g) des polyphénols dans l'extrait n-BuOH de deux espèces <i>G.Q</i> et <i>G .A</i>	50

« LISTE DES TABLEAUX »

Tableau I.1 : Position systématique des <i>Fabacées</i> selon différentes approches phylogénétiques ou morphologiques.....	5
Tableau I.2 : Classification botanique des deux espèces étudiées.....	13
Tableau II.1 : Isoflavonoïdes isolés du <i>genre Genista</i>	15
Tableau II.2 : Flavonoïdes isolés du <i>genre Genista</i>	17
Tableau II.3 : Saponosides isolés du <i>genre Genista</i>	19
Tableau II.4 : Alcaloïdes isolés du <i>genre Genista</i>	21
Tableau III.1 : Les fractions de la VLC sur C18 de l'extrait butanol des parties aériennes de <i>Genista</i>	30
Tableau IV.1 : Résultats des tests du screening phytochimique de l'extrait n-butanol de <i>Genre G.A et G.Q</i>	37
Tableau IV.2 : Résultats de la caractérisation des groupes chimiques d'extrait n-butanol de <i>G.A et G.Q</i>	40
Tableaux IV.3 : L'interprétation probable des couleurs sous UV-visible des composés naturels.....	41
Tableau IV. 4 : Les pourcentages d'inhibition d'extraits du DPPH en comparaison avec l'acide ascorbique.....	45
Tableau IV.5 : Résultats du dosage des polyphénols.....	49

SOMMAIRE

Remerciements

Dédicaces

Liste des abréviations

Listes des figures

Liste des tableaux

Résumé

Abstract

الملخص

INTRODUCTION GENERALE.....1

CHAPITRE I : Recherche bibliographique

I.. La Famille *Fabacées*.....3

I.1.Généralités.....3

I.2. Aspects botaniques.....4

I.3. Distribution géographique4

I.4. Position systématique5

I.5. Intérêts économiques.....6

I.6. Importance thérapeutique6

I.7. Toxicité des *Fabacées*7

I.8.Le Genre *Genista*.....8

I.9..Généralités.....8

I.10. Description du Genre *Genista*.....8

I.11. Distribution et aire géographique9

I.12. Principaux métabolites secondaires du Genre *Genista*.....9

I.13. Utilisation en médecine traditionnelle9

I.14. Etude de deux espèces «*G.A et G.Q*»10

I.15. Répartition géographique.....11

I.16. Place dans la systématique.....13

CHAPITRE II: Les Métabolites Secondaires

II.1. Les métabolites secondaires les plus courants chez les <i>Fabacées</i>	15
II.1.1. Les iso flavonoïdes :	15
II.1.2. Les flavonoïdes	17
II.1.3.Saponosides :	19
II.1.4.Les alcaloïdes :	21

CHAPITRE III :Partie Expérimentale

III.1. Introduction	24
III.2. Extraction par macération de <i>Genista aspalathoides Lamk</i> et <i>Genistaquadriflora Munby</i>	24
III.3. Screening phytochimique	24
III.3.1. Principe	24
III.3.2. Protocole	25
III.3.2.1. Le screening phytochimique des flavonoïdes.....	25
➤ Test de Wilstater (test de flavonols et flavonones)	25
➤ Test de bâte-Smith (test de flavon 3,4-diols).....	25
III.3.2.2. Le screening phytochimique des Tannins	25
III.3.2.3. Le screening phytochimique des Alcaloïdes	26
III.3.2.4. Le screening phytochimique des Triterpènes (test de Lieberman- Burchard)	26
III.3.2.5. Le screening phytochimique des Stérols (Test de Salkowski).....	27
III.3.2.6. Le screening phytochimique des Anthraquinones	27
III.3.2.7. Le screening phytochimique des Sucres (Test de Fehling).....	27
III.3.2.8. Le screening phytochimique des Saponosides (Test de la mousse).....	28
III.3.2.9. Le screening phytochimique des Coumarines.....	28
III.4. Chromatographique	28
III.4.1. La chromatographie liquide sous vide (VLC).....	28

III.4.1.1. Principe	28
III.4.2. La chromatographie analytique sur couche mince	29
III.4.2.1. Principe	29
III.4.3. Protocole (Fractionnement de l'extrait n-butanol du Genre <i>G. aspalathoides</i> Lamk .ssp . <i>erinaceoides</i> (Lois).....	29
III.5. L'activité antioxydante	31
III.5.1.La méthode bio-autographique	31
III.5.1.1. Protocole	31
III.5.2.La méthode colorimétrique	32
III.5.2.1. Principe	32
III.5.2.2. Protocole	33
III.6. Dosage des composés phénoliques	34
III.6.1. Dosage des Polyphénols totaux.....	34
III.6.1.1. Principe	34
III.6.1.2. Protocole	34

CHAPITRE IV: Résultats et Discussions

IV.1. Les résultats du screening phytochimique	37
IV.2. Les résultats du fractionnement de l'extrait n-butanol.....	41
IV.3.Les résultats de l'activité antioxydante	43
IV.3.1.La méthode bio autographique	43
IV.3.2.La méthode colorimétrique	44
IV.4.Les résultats de dosage des polyphénols totaux	47
Conclusion Générale.....	52
Les Références bibliographique.....	54

RESUME

Le présent travail avait pour objet l'étude phytochimique et activité antioxydante sur l'extrait butanol de deux espèces *G.aspalathoides Lamk* et *G.quadriflora Munby*, d'une plante Algérienne *Genista* appartenant à la famille des *Fabacées*. Cette dernière en général et le Genre *Genista* en particulier sont particulièrement bien fournis en métabolites secondaires connus pour leurs diverses et intéressantes activités biologiques.

Du point de vue phytochimique, ces extraits sont plus ou moins riches en métabolites secondaires. Les composés détectés, après le criblage phytochimique de *G.aspalathoides Lamket* *G.quadriflora Munbya* étaient essentiellement des flavonoïdes, des alcaloïdes et des stérols.

La méthodologie de fractionnement de l'extrait butanol de l'espèce *G.aspalathoides* Lamk a été basée essentiellement sur la combinaison des différentes méthodes chromatographiques :

- chromatographie sur liquide sous vide sur phase inverse C₁₈ (VLC).
- chromatographie sur plaques analytiques de silice normale (CCM).

Les résultats qu'on a obtenus nous prouvent la grande capacité antioxydante de l'extrait Butanol *G.aspalathoides Lamk*, suivi de l'extrait butanol de *G. quadriflora Munby*, en substant nous basant sur le test de piégeage radicalaire DPPH°, ce qui est confirmé par les dosages des polyphénols.

Mots clés : *Fabacées*, *Genista*, activité antioxydante, *G.quadriflora*, *Munby*

G. aspalathoides Lamk .

RESUME

The present work aimed at the phytochemical study and antioxidant activity of two extracts of the species *G. aspalathoides Lamk* and *G. quadriflora Munby*, of an Algerian plant Genista belonging to the family of *Fabaceae*. The latter in general and the genus *Genista* in particular are particularly well supplied with secondary metabolites known for their various and interesting biological activities.

From the phytochemical point of view, these extracts are more or less rich in secondary metabolites. The compounds detected, after phytochemical screening of *G. aspalathoides Lamk et G. quadriflora Munby* were mainly flavonoids, alkaloids and sterols.

The methodology of fractionation of the butanol extract of *G. aspalathoides Lamk* species was based mainly on the combination of different chromatographic methods:

- Chromatography liquid vacuum reverse phase C18 (VLC).
- Chromatography on normal silica analytical plates (TLC).

The results obtained prove the high antioxidant capacity of the extract Butanol extract of *G. aspalathoides Lamk*, followed by the butanol extract of *G. quadriflora Munby* ; based on the DPPH° radical scavenging test, which is confirmed by the polyphenols assays.

Key words: *Fabaceae*, *Genista*, antioxidant activity, *G. quadriflora Munby*, *G. aspalathoides Lamk*.

ملخص

يهدف العمل الحالي إلى دراسة الكيمياء النباتية والنشاط المضاد للأكسدة على مستخلصين من النوع

ينتمي إلى عائلة *Genista* من نبات جزائري

G. aspalathoides Lamk و *quadriflora Munby.G*

على وجه الخصوص مزودان بشكل جيد *Genista* هذا الأخير بشكل عام وجنس *Fabacées*

بالمستقلبات الثانوية المعروفة بنشاطاتها البيولوجية المتنوعة والمثيرة للاهتمام.

من وجهة نظر الكيمياء النباتية، هذه المقطعات غنية إلى حد ما بالمستقلبات الثانوية. المركبات

المكتشفة، بعد الفحص الكيميائي النباتي لـ *G. aspalathoides Lamk* و *G. quadriflora*

Munby كانت بشكل رئيسي مركبات الفلافونويد والقلويدات والستيرويدات.

استندت منهجية تجزئة مستخلص البوتانول لأنواع بشكل أساسي على مزيج من الطرق

الكروماتوجرافية المختلفة:

➤ الطور العكسي للفراغ السائل اللوني- 'C18 (VLC)'

➤ اللوني على ألواح تحليلية سيليكيا عادية. - 'TLC'

أثبتت النتائج التي تم الحصول عليها القدرة العالية المضادة للأكسدة لمستخلص البوتانول

من *G. quadriflora Munby*. يليه مستخلص البوتانول من *G. aspalathoides Lamk*,

° DPPH، بناءً على اختبار المسح الجذري. والذي تم تأكيده بواسطة فحوصات البوليفينول.

الكلمات الأساسية:

, *Genista* , *G. aspalathoides Lamk* , *G. quadriflora Munby*, نشاط مضاد للأكسدة

Fabaceae

Introduction

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et en dermopharmacie.

Parmi ces composés, on retrouve dans une grande mesure les métabolites secondaires qui se sont surtout illustrés en thérapeutique.

Le métabolisme secondaire des plantes produit des molécules variées permettant aux plantes de contrôler leur environnement animal et végétal, parmi les milliers de molécules produites par ce métabolisme, l'on sélectionne celle ayant des activités thérapeutiques pour l'homme. L'industrie pharmaceutique s'appuie sur ces substances dites actives pour l'élaboration de médicaments [1].

On estime que sur les 300 000 espèces végétales recensées, seules 15% d'entre elles ont été étudiées sur le plan phytochimique, dont 6% pour leurs activités biologiques. Par conséquent, il est très possible de découvrir de nouvelles molécules [2].

L'Algérie, pays connu pour sa biodiversité, dispose d'une flore particulièrement riche et variée. On compte environ 3000 espèces de plantes dont 15% endémique et appartenant à plusieurs familles botaniques [3]. Ce potentiel floristique constitué de plantes médicinales, toxiques et condimentaires, est peu exploré du point de vue chimique et pharmacologique.

Nous nous sommes intéressés à l'étude d'une espèce endémique du genre *Genista* et notre travail se décompose selon trois parties :

- La première consacrée à la synthèse bibliographique, la description de la famille des fabacées et particulièrement le genre *Genista* et ses métabolites secondaires.
- La deuxième concerne la partie expérimentale qui s'est portée sur la détection des différents métabolites secondaires par screening phytochimique, et l'étude phytochimique ont été fractionnés d'extrait butanol du *Genista Aspalathoides* Lamk ssp. *Erinaceoides* (Lois.) par VLC en phase inverse C₁₈ suivi par la chromatographie sur couche mince ;

Introduction

le dosage des polyphénols totaux. Ainsi que la mise en évidence de l'activité antiradicalaire des différents extraits des espèces *Genista Qauadriflora*Mumby et *Genista Aspalathoides* Lamk ssp. *Erinaceoides* (Lois.) sur la méthode bio-autographique et l'évaluation de pouvoir antiradicalaire par le DPPH°.

- La dernière partie regroupe les différentes observations et la discussion des résultats obtenus.

Nous terminons notre étude par une conclusion.

I. La Famille *Fabacées*

I.1. Généralités

Les légumineuses sont l'une des plus grandes familles de plantes à fleurs. Leurs fleurs ressemblent à des papillons et à des fruits cornus. Il existe plus de 730 genres et 19 400 espèces. Elles sont réparties dans les environnements tempérés et tropicaux, et sont largement réparties dans le monde entier [4].



Clitoria ternatea



Spartium junceum

Figure I.1 : Quelques exemples de fabacées qui ressemblent à des fleurs de papillons [4]

L'origine de cette famille a été trouvée dans les Rosacées, et les gousses ont été appelées "plantes" par les premiers botanistes, d'où le nom de cette famille [5]. Ils ont des feuilles simples ou des feuilles composées [6].

Cette famille est composée d'espèces horticoles. De nombreuses espèces sont récoltées pour l'alimentation, à la fois pour la consommation humaine (haricots, pois, haricots, soja), mais aussi pour la consommation animale (trèfle, luzerne, cardamome rouge), et utilisées pour l'huile alimentaire (arachides, soja), leurs fibres et bois utilisés comme combustible, leur utilisation en médecine (spartéine extraite de balais et de réglisse) ou leurs applications en chimie [4].



Figure I.2 : Diversités des légumineuses [4]

I.2. Aspects botaniques

La famille des *Fabacées* (*Fabaceae*) ou Légumineuse (*Leguminosae*) appartiennent à l'ordre des Fabales. C'est une des plus importantes familles parmi Dicotylédones. Son nom est tiré du mot latin (*Faba*, fève). L'ordre des Fabales ne contient que quatre familles : *Fabaceae*, *Surianaceae*, *Quillajaceae* et *Polygaceae* [7].

I.3. Distribution géographique

Les légumineuses sont cosmopolites. Elle est particulièrement concentrée dans les régions subtropicales et tempérées chaudes, comme l'Afrique du Sud ou le pourtour méditerranéen. (Figure I.3) Les zones tropicales sont principalement des espèces ligneuses, tandis que les zones tempérées sont riches en espèces herbacées [8,9].



Figure I.3 : Distribution de la famille *Fabaceae* [8].

I.4. Position systématique

De nombreuses caractéristiques morphologiques prouvent la monophylétisme des légumineuses. Quatre sous-groupes sont généralement reconnus chez les légumineuses : les Caesalpinioideae, les Mimosoideae, les Bauhinioids et le Faboideae (=Papilionoideae). Faboideae est cosmopolite, tandis que Mimosoideae et Caesalpinioideae sont assez tropicales. Dans la plupart des classifications, ces groupes sont considérés comme des sous-familles, mais parfois ils sont considérés comme des familles indépendantes, comme dans la classification de Cronquist. Le concept de « légumineuse » peut être utilisé aussi bien au niveau familial (avec Engler) qu'au niveau ordinal (avec Cronquist). Bien que le terme légumineuse soit actuellement préféré dans la nouvelle classification systématique du groupe phylogénétique des angiospermes (APG), le terme légumineuse est encore couramment utilisé par certains types de scientifiques (experts en légumineuses). Ces deux termes sont considérés comme synonymes par l'International Code of Botanical Nomenclature (ICBN). [5,10]. La position systématique des *Fabaceae* est présentée dans le tableau I.1.

Tableau I.1: Position systématique des *Fabacées* selon différentes approches phylogénétiques ou morphologiques

	Engler [1887-1915]	Cronquist [1988]	Thorne [1992]	APGIII [2009]
Règne	Plantae	Plantae	Plantae	Plantae
Embranchement	Embryophyta	Magnoliophyta	Spermatophytae	Spermatophyta
Sous embranchement	Angiospermae	-	Angiospermae	Angiospermae
Classe	Dicotyledonae	Magnoliopsida	Magnoliidae	Eudicotyledonae
Sous-classe	Archichlamydeae	Rosidae	Rutanae	Rosidae
Ordre	Rosales	Fabales	Rutales	Eurosidae I (= Fabidées)
Sous-ordre	Leguminosineae	-	Fabineae	Fabales
Famille	Leguminosae	Fabaceae (=Papilionaceae) Mimosaceae <i>Caesalpinjiaceae</i>	Fabaceae	Fabaceae (=Leguminosae)

Sous-famille	Faboideae Mimosoideae Caesalpinoideae	-	Faboideae Mimosoideae Caesalpinoideae Swartzioideae	Faboideae Mimosoideae Caesalpinoideae
---------------------	---	---	--	---

I.5. Intérêts économiques

C'est une famille d'importance économique importante. Les haricots riches en graines (jusqu'à 70% du poids sec) représentent, d'une part, une source de protéines végétales pour la consommation humaine : haricots rouges (haricots), pois (pois), *Lens culinaris* (Lentilles), Fèves (Fève), *Cicer arietinum* (pois chiches), *Glycine max* (soja). De plus, il existe de nombreuses variétés d'oléagineux, comme l'*Arachis hypogaea* L., une plante d'huile d'arachide ; nous mangeons aussi des graines, qui sont des arachides. De même, *Glycine max* (L.) Merr (soja) consomme de plus en plus d'huile. D'autre part, de nombreuses légumineuses sont cultivées comme plantes fourragères pour l'alimentation animale, comme prairies « naturelles » avec le trèfle (trèfle) et le lotus ou « artificielles » avec *Onobrychis viciifolia* Scop. (Sainfoin), en particulier la luzerne (*Medicago sativa*) [7,10].

De plus, les légumineuses sont largement utilisées en agriculture dans la rotation des cultures car leurs nodules contiennent des bactéries fixatrices d'azote (*Rhizobium*), elles peuvent donc fixer l'azote. Il en résulte une symbiose entre les plantes infectées et les bactéries : ces dernières utilisent l'énergie nécessaire des sucres fournis par les plantes pour fixer l'azote dans l'atmosphère, et en retour, les plantes utilisent l'ammoniac synthétisé par les bactéries [7].

I.6. Importance thérapeutique

De nombreuses légumineuses ont des propriétés curatives et sont utilisées en médecine traditionnelle. Dans ce qui suit, nous citerons quelques exemples d'espèces ayant une importance alimentaire et des propriétés médicinales importantes [11,12].

- *Trigonella foenum graecum* (fenugrec) : Son nom vernaculaire est halba. C'est une plante originaire du Proche-Orient et est maintenant largement cultivée. Le fenugrec est utilisé pour traiter les plaies, la diarrhée, la déshydratation, l'anémie, la bronchite ;

les rhumatismes, les maux d'estomac, l'hypertension artérielle et la constipation. Cette plante est également consommée par les femmes comme fortifiant après l'accouchement. Les graines ont des propriétés nutritionnelles importantes et des effets hypocholestérolémiants. Ils sont traditionnellement utilisés comme stimulants de l'appétit et de la prise de poids.

- *Arachis hypogaea* L. (Arachide) : l'huile d'Arachide est utilisée comme solvant médicamenteux. Elle a également des propriétés vitaminiques P : action antihémorragique au niveau des capillaires [13].

I.7. Toxicité des *Fabacées*

La présence de certains métabolites secondaires dans les légumineuses peut conduire directement ou indirectement à des intoxications. Donnons quelques exemples [7] :

- Certains acides aminés non constitutifs, abondants dans les légumineuses et apportés par des bactéries fixatrices d'azote, perturbent gravement la chaîne métabolique et provoquent des troubles respiratoires dus à la consommation d'espèces *Lathyrus*. Chez les hommes, cela provoque une paralysie progressive des muscles.

- Contamination due à la présence de champignons *Aspergillus* qui sont produits sur les semences dans des conditions humides et produisent des aflatoxines cancérigènes.

- La maladie de la fève, une maladie génétique, affecte les gens après avoir absorbé des fèves et des graines de fève, entraînant des maladies du système nerveux et du système sanguin. Cela est dû à l'absence d'une enzyme, la glucose-6-phosphate déshydrogénase, qui joue un effet de détoxification.

I.8. Le Genre *Genista*

I.9. Généralités

Genista appartient au premier décrit par LINNE en 1753. Il appartient à la famille des Légumineuse, sous-famille des Papilionoidées et à la tribu des genistées [14].

Le nom de ce genre semble dériver de l'ancien mot gaulois Gen, qui signifie arbuste. Parmi les 700 genres de légumineuses, il existe environ 53 genres et 337 espèces en Algérie [15]. Le genre *Genista* (Légumineuse) est composé d'une centaine d'espèces, principalement réparties en Méditerranée en Asie de l'Ouest [16] Il existe actuellement 25 espèces et sous-espèces en Algérie, dont 11 endémiques [17].



Genistapilosa



Genista hispanica

Figure I.4 : Exemple de ce à quoi ressemblent les buissons de genre *Genista* [17]

I.10. Description du Genre *Genista*

Les plantes *Genista* sont des arbustes épineux ou parfois sans épines, qui se caractérisent par de simples à trois feuilles, spécifiées ou non. Le calice à 5 nœuds, les 2 supérieurs sont libres ou soudés, les 3 inférieurs forment une lèvre, et il a 3 dents profondes. Plus rarement, le calice est en forme de cloche et possède 5 dents d'égale longueur. La coque est rectangulaire, droite et large horizontalement. La norme est très étroite. Dix étamines (5 longues et 5 courtes) forment un seul pistil dans un tube non divisé. Le capital du stigmate est oblique. Les gousses sont fissurées et variables. Les graines ne sont pas des arilles [6].



Figure I.5 : Espèce *Genista numidica* Spach [6]

I.11. Distribution et aire géographique

Genista est largement répandu dans le bassin méditerranéen, en Europe et en Afrique du Nord (Libye, Tunisie, Algérie et Maroc). En Algérie, il est localisé dans les régions de l'est et du sud-est et dans le désert du Grand Sahara [18]. Les espèces de ce genre ont une grande plasticité écologique, elles apparaissent dans des zones aux conditions bioclimatiques très différentes, des zones semi-arides aux zones très humides [19].

I.12. Principaux métabolites secondaires du Genre *Genista*

Selon les recherches de la littérature sur les espèces *Genista*, elles sont autorisées à contenir divers types de métabolites secondaires multiples, les principales substances sont les alcaloïdes [20], les isoflavones [21,22] et les flavonoïdes [23,24], [25,26] et substances biologiquement actives.

I.13. Utilisation en médecine traditionnelle

Certaines espèces de *Genista* sont utilisées en médecine populaire traditionnelle pour traiter de nombreuses maladies, telles que :

- *Genistatenera* : En médecine traditionnelle portugaise, l'infusion des parties aériennes de cette espèce est utilisée pour traiter le diabète [27].

- *Genista. anglica* et *Genista. Germanica* : Deux de leurs plantes sont recommandées comme diurétiques pour le traitement des calculs rénaux et de la goutte [28,29].



Figure I.6 : Trois espèces de genre *Genista* (*G.tenera*, *G.anglica*, *G.germanica*) [28,29]

I.14. Etude des deux espèces « G.A et G.Q »

Genista aspalathoides Lamk. Ssp. *Erinaceoides* (Lois) est une espèce endémique du sud-est algérien. *Genista quadriflora* Munby est une espèce endémique d'Algérie-Maroc (c'est-à-dire que son aire de répartition se situe entre le Maroc et l'Algérie) [30].

- ***G. aspalathoides* Lamk. Ssp. *erinaceoides* (Lois.)**

C'est un petit arbuste de 10 à 50 cm de haut. Il y a de très nombreuses tiges ramifiées et tordues avec des renflements des deux côtés des branches, et elles forment un buisson compact et épineux dans son ensemble. On le trouve dans les fissures rocheuses et les coteaux, avec des fleurs jaunes sur un côté du stigmate formant des lames sur le visage [3]. Cette espèce peut être identifiée par les caractéristiques suivantes [15] : La feuille entière, c'est-à-dire réduite à une seule feuille, sans pétiole, sans stipules, relativement petite, étroite et poilue. Les fleurs sont isolées ou regroupées par 2 à 4 ; la norme fait environ la longueur de la coque, couverte de petits poils, et la coque est velue. Le fruit mûr mesure environ 10 à 15 mm de long, 3 à 4 mm de large, de couleur brune et couvert de petits poils. (Habituellement, les fleurs sont très velues et ont des étamines libres à cause des parasites).

- ***Genista quadriflora* Munby**

Le genêt à quatre fleurs est une espèce endémique d'Algérie et du Maroc. Dans notre pays, cette espèce est rare, (Sensu Quézel et Santa) [3,31]. Plantes annuelles, arbustes, branches dressées, éphédra. Les feuilles tombent bientôt. Inflorescence 3 à 5 plantes. Calice brièvement pubescent. Les feuilles sont réduites à de simples écailles. Les rameaux sont courts, durs et forts. Les gousses sont de 10 à 12 mm dispersées et pubescentes. Fleur jaune [3].

I.15. Répartition géographique

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

Elle est très commune dans le sud-est algérien [30], les figures I.7 ; I.8 et I.9 représentent les photos de cette plante :



Figure I.7 : Photo les tiges de *G. aspalathoides Lamk. ssp. erinaceoides (Lois)[30]*



Figure I.8 : Photo des fleurs de *G. aspalathoides* Lamk [30]



Figure I.9 : Photo du petit arbrisseau de *G. aspalathoides* Lamk [30]

- ***Genista quadriflora* Munby**

Elle est commune à l'Algérie et au Maroc, la figure I.10 montre la photo de cette espèce.



Figure I.10 : Photo de *Genista quadriflora* Munby [30]

I.16. Place dans la systématique

La classification *botanique* synthétisée de ces extraits est représentée dans le tableau I.2 :

Tableau I.2 : classification *botanique* des deux espèces étudiées

Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	<i>Angiospermes</i>
Classe	<i>Dicotylédones</i>
Ordre	<i>Fabales</i>
Famille	<i>Fabacées</i>
Tribu	<i>Genisteeae</i>
Genre	<i>Genista</i>
Espèce 1 Sous espèces	<i>G. aspalathoides Lamk. ssp. Erinaceoides (Lois.)</i>
Espèce 2	<i>G. quadriflora Munby</i>

II.1. Les métabolites secondaires rencontrés chez les *Fabacées*

La recherche bibliographique réalisée sur cet axe montre que la majorité des études phytochimiques effectuées sur un nombre important d'espèces de la famille des fabacées certifie la richesse ainsi que la diversité structurale de ces dernières en métabolites secondaires tels que : Les alcaloïdes [32,33], les composés phénoliques de type flavonique et isoflavonique, [34,35] et en petites quantités les saponosides [36].

II.1.1. Les iso flavonoïdes :

L'une des particularités importantes de la famille des fabacées est la production des métabolites secondaires spécifiques appelés iso flavonoïdes impliqués dans la signalisation symbiotique, dans les réactions de défense et présentant un grand intérêt pharmaceutique [37].

Ce sont des substances poly phénoliques d'une diversité structurale importante.

Quelques structures d'iso flavonoïdes isolées du genre *Genista* sont reportées dans le tableau suivant :

Tableau II.1: Iso flavonoïdes isolés du Genre *Genista*.

Composés	N°	Espèces	Références
Alpinumisoflavone	1	<i>G.tenera</i>	[38]
Hydroxyalpinumisoflavone	2	<i>G.ephedroides</i>	[39]
4'-O-Glucopyranoside alpinumisoflavone	3	<i>G.pichisermolliana</i>	[40]
Isoderrone	4	<i>G.corsica</i>	[41]
Ficuisoflavone	5	<i>G.corsica</i>	[41]
Dihydroisoderrondiol	6	<i>G.corsica</i>	[41]
7-O-β-D-glucopyranoside isoprunétine	7	<i>G.morisii</i>	[42]
7,4'-di-O-β-D-glucopyranoside Genistéine	8	<i>G.morisii</i>	[42]
7,4'-di-O-β-D-glucopyranoside Isoprunétine	9	<i>G.morisii</i>	[42]
Daidzéine	10	<i>G.morisii</i>	[42]
Genistéine	11	<i>G.morisii</i>	[42]
Isoprunétine	12	<i>G.morisii</i>	[42]
biochanineA	13	<i>G.cilentina</i>	[43]
4'-O-methylorobol	14	<i>G.cilentina</i>	[43]
biochanineA7-O-β-D-glucoside	15	<i>G.cilentina</i>	[43]
4'-glucosyl génisteine(sophoricoside)	16	<i>G.tricuspidata</i>	[44]
5,7-dihydroxy-4'-methoxyisoflavone	17	<i>G.ulicina</i>	[45]

	<table border="1"> <thead> <tr> <th>N°</th> <th>R₁</th> <th>R₂</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>CH₃</td> <td>H</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>CH₂OH</td> <td>H</td> </tr> <tr> <td>3</td> <td>CH₃</td> <td>Glu</td> </tr> </tbody> </table>	N°	R ₁	R ₂	1	CH ₃	H	2	CH ₂ OH	H	3	CH ₃	Glu						
N°	R ₁	R ₂																	
1	CH ₃	H																	
2	CH ₂ OH	H																	
3	CH ₃	Glu																	
	<table border="1"> <thead> <tr> <th>N°</th> <th>R₁</th> <th>R₂</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>4</td> <td>H</td> <td>H</td> </tr> <tr> <td>5</td> <td>H</td> <td>OH</td> </tr> <tr> <td>6</td> <td>OH</td> <td>OH</td> </tr> </tbody> </table>	N°	R ₁	R ₂	4	H	H	5	H	OH	6	OH	OH						
N°	R ₁	R ₂																	
4	H	H																	
5	H	OH																	
6	OH	OH																	
	<table border="1"> <thead> <tr> <th>N°</th> <th>R₁</th> <th>R₂</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>7</td> <td>OCH₃</td> <td>H</td> </tr> <tr> <td>8</td> <td>H</td> <td>Glu</td> </tr> <tr> <td>9</td> <td>OCH₃</td> <td>Glu</td> </tr> </tbody> </table>	N°	R ₁	R ₂	7	OCH ₃	H	8	H	Glu	9	OCH ₃	Glu						
N°	R ₁	R ₂																	
7	OCH ₃	H																	
8	H	Glu																	
9	OCH ₃	Glu																	
	<table border="1"> <thead> <tr> <th>N°</th> <th>R₁</th> <th>R₂</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>10</td> <td>H</td> <td>OH</td> </tr> <tr> <td>11</td> <td>OH</td> <td>OH</td> </tr> <tr> <td>12</td> <td>OCH₃</td> <td>OH</td> </tr> <tr> <td>16</td> <td>OH</td> <td>Glu</td> </tr> <tr> <td>17</td> <td>OH</td> <td>OCH₃</td> </tr> </tbody> </table>	N°	R ₁	R ₂	10	H	OH	11	OH	OH	12	OCH ₃	OH	16	OH	Glu	17	OH	OCH ₃
N°	R ₁	R ₂																	
10	H	OH																	
11	OH	OH																	
12	OCH ₃	OH																	
16	OH	Glu																	
17	OH	OCH ₃																	
	<table border="1"> <thead> <tr> <th>N°</th> <th>R₁</th> <th>R₂</th> <th>R₃</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>13</td> <td>CH₃</td> <td>H</td> <td>H</td> </tr> <tr> <td>14</td> <td>CH₃</td> <td>OH</td> <td>H</td> </tr> <tr> <td>15</td> <td>CH₃</td> <td>H</td> <td>β-D-Glu.</td> </tr> </tbody> </table>	N°	R ₁	R ₂	R ₃	13	CH ₃	H	H	14	CH ₃	OH	H	15	CH ₃	H	β-D-Glu.		
N°	R ₁	R ₂	R ₃																
13	CH ₃	H	H																
14	CH ₃	OH	H																
15	CH ₃	H	β-D-Glu.																

Figure II.1: Iso flavonoïdes isolés du genre *Genista*.

II.1.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes, présents dans la plupart des plantes, sont des pigments poly phénoliques qui contribue, entre autres, à colorer les fleurs et les fruits en jaune ou en blanc [46]. La coloration due à la présence de flavonoïdes. Les différents flavonoïdes qui sont isolés de plusieurs espèces du genre *Genista* sont rassemblés dans le tableau II.2 suivant :

Tableau II.2 : Flavonoïdes isolés du Genre *Genista*.

Composés	N°	Espèces	Références
Orientine	18	<i>G.morisii</i>	[42]
Vitéxine	19	<i>G.morisii</i>	[42]
Eriodictyol	20	<i>G.morisii</i>	[42]
Lutéoline	21	<i>G.cilentina</i>	[43]
Apigénine	22	<i>G.cilentina</i>	[43]
3,7-bis-α-L-rhamnopyranosyl-aromadendrine	23	<i>G.cilentina</i>	[43]
Quercétrine	24	<i>G. tricuspidata</i>	[44]
4',5,7-trihydroxy-3'-methoxy-3-O-glucosylflavone(isorhamnetine3-glucoside)	25	<i>G. tricuspidata</i>	[44]
4',5,7-trihydroxy-3',8-dimethoxy-3-O-Glucosylflavone	26	<i>G. tricuspidata</i>	[44]

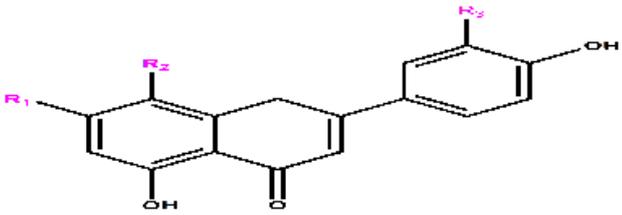
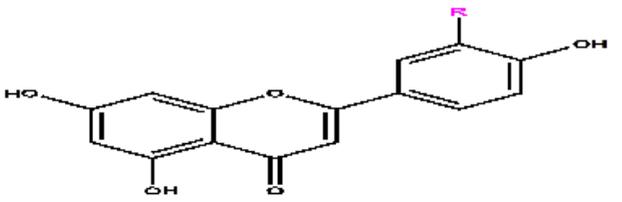
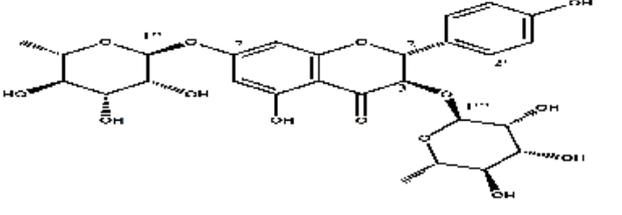
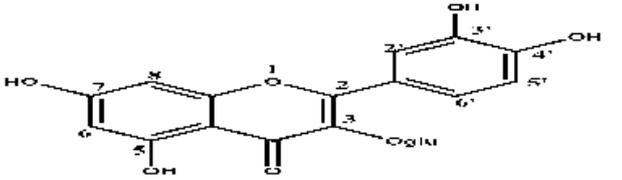
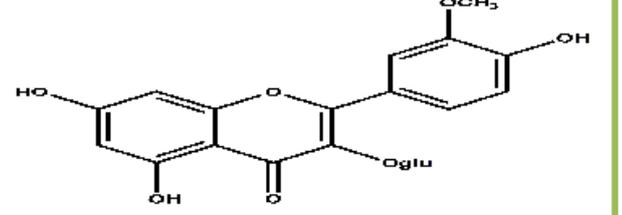
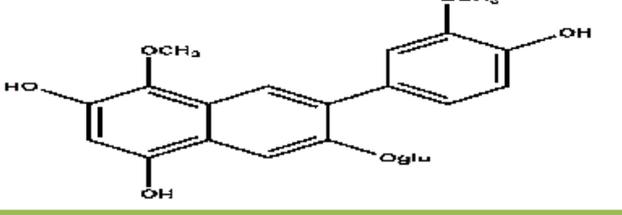
	<table border="1"> <thead> <tr> <th>N°</th> <th>R₁</th> <th>R₂</th> <th>R₃</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>18</td> <td>O-glu</td> <td>H</td> <td>OH</td> </tr> <tr> <td>19</td> <td>OH</td> <td>Glu</td> <td>OH</td> </tr> <tr> <td>20</td> <td>OH</td> <td>Glu</td> <td>H</td> </tr> </tbody> </table>	N°	R ₁	R ₂	R ₃	18	O-glu	H	OH	19	OH	Glu	OH	20	OH	Glu	H
N°	R ₁	R ₂	R ₃														
18	O-glu	H	OH														
19	OH	Glu	OH														
20	OH	Glu	H														
	<table border="1"> <thead> <tr> <th>N°</th> <th>R</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>20</td> <td>OH</td> </tr> <tr> <td>21</td> <td>H</td> </tr> </tbody> </table>	N°	R	20	OH	21	H										
N°	R																
20	OH																
21	H																
	<table border="1"> <tbody> <tr> <td>N°</td> </tr> <tr> <td>23</td> </tr> </tbody> </table>	N°	23														
N°																	
23																	
	<table border="1"> <tbody> <tr> <td>N°</td> </tr> <tr> <td>24</td> </tr> </tbody> </table>	N°	24														
N°																	
24																	
	<table border="1"> <tbody> <tr> <td>N°</td> </tr> <tr> <td>25</td> </tr> </tbody> </table>	N°	25														
N°																	
25																	
	<table border="1"> <tbody> <tr> <td>N°</td> </tr> <tr> <td>26</td> </tr> </tbody> </table>	N°	26														
N°																	
26																	

Figure II.2: Flavonoïdes isolés du genre *Genista*

II.1.3.Saponosides :

Tableau II.3 : Saponosides isolés du Genre *Genista*.

Composés	N°	Espèces	Références
acide 3-O-β-D-glucopyranosyl-oléan-12-ène-3β, 27, 28, triol-29-carboxylique	27	<i>G. ulicina</i>	[45]
3-O-β-D-glucopyranosyl-oléan-12-ène-3β, 27, 28,30-tétraol	28	<i>G. ulicina</i>	[45]
acide 3-Oβ-D-glucopyranosyl-oléan-12-ène-3β, 28,29triol-27-carboxylique	29	<i>G. ulicina</i>	[45]
3-O-β-D-glucopyranosyl-oléan-12-ène-3β, 27, 28,29tétraol	30	<i>G. ulicina</i>	[45]
3-O-β-D-glucopyranosyl, 29-O-β-D-glucopyranosyl-oléan-12-ène-3β, 27, 28,29-tétraol	31	<i>G. ulicina</i>	[45]

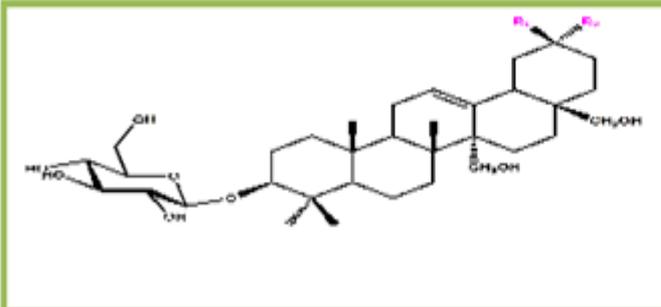
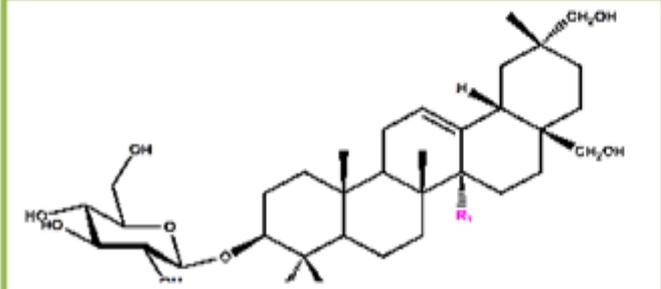
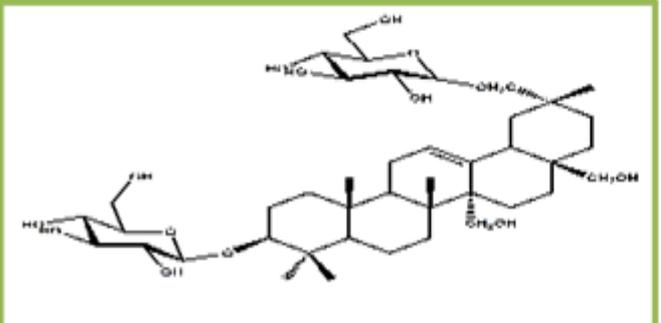
	<table border="1"> <thead> <tr> <th>N°</th> <th>R₁</th> <th>R₂</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>27</td> <td>CH₂OH</td> <td></td> </tr> <tr> <td>28</td> <td></td> <td>COOH</td> </tr> </tbody> </table>	N°	R ₁	R ₂	27	CH ₂ OH		28		COOH
N°	R ₁	R ₂								
27	CH ₂ OH									
28		COOH								
	<table border="1"> <thead> <tr> <th>N°</th> <th>R₁</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>29</td> <td>COOH</td> </tr> <tr> <td>30</td> <td>CH₂OH</td> </tr> </tbody> </table>	N°	R ₁	29	COOH	30	CH ₂ OH			
N°	R ₁									
29	COOH									
30	CH ₂ OH									
	<table border="1"> <tbody> <tr> <td style="text-align: center;">N°</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">31</td> </tr> </tbody> </table>	N°	31							
N°										
31										

Figure II.3 : Saponosides isolés du Genre *Genista*

II.1.4. Les alcaloïdes :

Les alcaloïdes sont des substances organiques d'origine naturelle (le plus souvent végétale), renfermant de l'azote, généralement incorporé dans un système hétérocyclique. Ce sont des substances particulièrement intéressantes pour leurs activités pharmacologiques très variées ainsi que par leur toxicité [14,47]. Ils agissent en tant que :

Dépresseurs au niveau du système nerveux central (morphine, scopolamine)

Stimulants (caféine, strychnine)

Anesthésiques locaux (cocaïne)

Ganglioplégiques (spartéine, nicotine)

Parasympathomimétique (physostigmine ou éserine, pilocarpine).

Quelques structures d'alcaloïdes isolées du genre *Genista* sont reportées dans le tableau II.4 suivants :

Tableau II.4: Alcaloïdes isolés du Genre *Genista*.

Composés	N°	Espèces	Références
Retamine	32	<i>G. ephedroides</i>	[28]
Anagryne	33	<i>G. ephedroides</i>	[28]
Lupanine	34	<i>G. ephedroides</i>	[28]
17-oxoretamine	35	<i>G. ephedroides</i>	[28]
12- α -hydroxylupanine	36	<i>G. ephedroides</i>	[28]

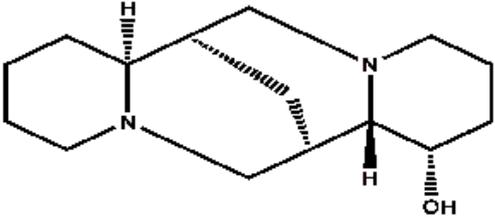
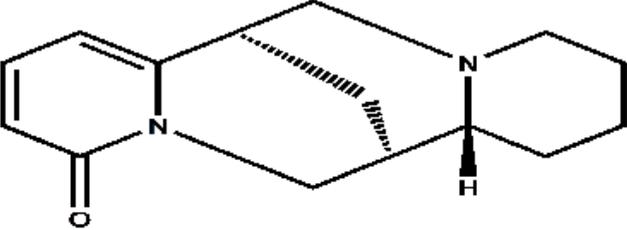
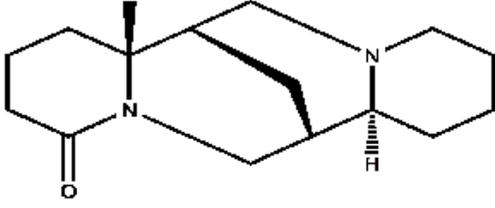
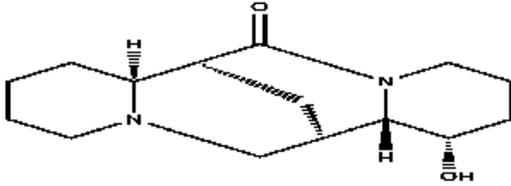
	<table border="1"> <tr> <td>N°</td> </tr> <tr> <td>32</td> </tr> </table>	N°	32
N°			
32			
	<table border="1"> <tr> <td>N°</td> </tr> <tr> <td>33</td> </tr> </table>	N°	33
N°			
33			
	<table border="1"> <tr> <td>N°</td> </tr> <tr> <td>34</td> </tr> </table>	N°	34
N°			
34			
	<table border="1"> <tr> <td>N°</td> </tr> <tr> <td>35</td> </tr> </table>	N°	35
N°			
35			
	<table border="1"> <tr> <td>N°</td> </tr> <tr> <td>36</td> </tr> </table>	N°	36
N°			
36			

Figure II.4 : Alcaloïdes isolés du genre *Genista*

III.1. Introduction

Cette partie se base sur l'étude de la composition chimique d'extrait n-butanol de deux plantes du Genre *Genista* (*Fabaceae*) à savoir le screening phytochimique, et le fractionnement de l'extrait butanol du Genre (*G.aspalathoides Lamk*) et l'évaluation de l'activité antioxydante par la méthode bio autographique et par la méthode colorimétrique et le dosage des polyphénols d'extraits de ces deux plantes.

III.2. Extraction par macération de *Genista aspalathoides Lamk* et *Genista quadriflora Munby*

Les parties aériennes (2700g) de *Genista aspalathoides Lamk* et (1130g) de *Genista quadriflora Munby* sèche ont été macérées à température ambiante par un mélange hydro alcoolique (Ethanol/Eau : 80 : 20 V/V) et (MeOH/H₂O (80/20 ; v/v) successives pendant 3x48 heures, puis fractionnées par extraction liquide/liquide successives au chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol [26-30].

Dans ce mémoire on doit travailler par l'extrait n-butanol équipé pour les deux extraits

(*G.aspalathoides Lamk* et *G.quadriflora Munby*).



Figure III.1 : Les extraits n-butanol *G.aspalathoides Lamk* et *G.quadriflora Munby*.

III.3. Screening phytochimique

III.3.1. Principe

Le principe repose sur l'utilisation de réactions de précipitation pour former des complexes insolubles. [49].

L'étude préliminaire effectuée sur les parties aériennes de ces extraits [26,30,50]. Ont été testé sur ces deux espèces « *G. aspalathoides Lamk* » et « *Genista quadriflora Munby* ».

III.3.2. Protocole

III.3.2.1. Le screening phytochimique des flavonoïdes

➤ **Test de Wilstater (test de flavonols et flavonones)**

On met dans deux tubes 2 ml de l'extrait n-butanol dissout dans le MeOH dont :

- Le 1^{ier} tube témoin.
- Dans le 2^{ème} tube additionné 0.5 ml de l'HCL concentré.
- On ajoute tout doucement quelques fragments de magnésium, on laisse agir sous la hotte.

L'apparition d'une couleur qui vire **le rouge pourpre (Flavonols) ou le rouge violacé (Flavonones et Flavonols)** confirme l'existence des **flavonoïdes** [51].

➤ **Test de bâte-Smith (test de flavon 3,4-diols)**

On met dans deux tubes 2 ml de l'extrait n-butanol dissout dans MeOH dont :

- Le 1^{ier} tube témoin.
- Dans le 2^{ème} tube additionné 0.5 ml de l'HCL concentré.
- Porter au bain marie pendant 30 minutes.

L'apparition d'une coloration **rouge dénote** la présence de **Leucoanthocyanes** qui sont des dérivés des **flavan-3,4-diols** [51].

III.3.2.2. Le screening phytochimique des tannins

On met dans deux tubes 2 ml de l'extrait n-butanol dissout dans MeOH dont :

- Le 1^{ier} tube témoin.
- Dans le 2^{ème} tube additionné 4 à 5 gouttes de (FeCl₃ en solution méthanolique à 2 %).

La couleur vire au **bleu noir** en présence de **tannins galliques** et au **brun verdâtre** en présence de **tannins catéchiques** [52].

III.3.2.3. Le screening phytochimique des alcaloïdes

Le réactif de Dragendorff a été utilisé pour caractériser la présence des alcaloïdes dans l'extrait butanol. Le test est fondé sur la capacité des alcaloïdes de se combiner avec des métaux lourds.

On met dans deux tubes 2 ml de l'extrait n-butanol dissout dans MeOH (G.A et G.Q) dont :

La préparation du réactif de Dragendorff (composé d'un mélange de 0.8 g de nitrate de bismuth, 10 ml d'acide acétique glacial et 40 ml d'eau distillée).

- Le 1^{ier} tube témoin.
- Dans le 2^{ème} tube additionné quelques gouttes du réactif de Dragendorff.

La formation d'un **précipité** de coloration **rouge-orangé** témoigne de la présence des **alcaloïdes**.

III.3.2.4. Le screening phytochimique des triterpènes (test de Lieberman-Burchard)

La mise en évidence des triterpènes est fondée sur la réaction de Lieberman-Burchard.

On met dans deux tubes 5ml de l'extrait n-butanol dissout dans MeOH (G.A et G.Q) dont :

- Le 1^{ier} tube témoin.
- Dans le 2^{ème} tube additionné 1 ml d'anhydride acétique puis 0.5 ml de chloroforme.
- Après dissolution la solution est transférée dans un tube à essai au quel est ajouté 0.5 ml d'acide sulfurique concentré. La réaction est effectuée à froid.

L'apparition, à l'interphase, d'un **anneau pourpre(rouge violacé) ou violet**, virant au **bleu** puis **vert**, a indiqué une réaction positive.

III.3.2.5. Le screening phytochimique des stérols (Test de Salkowski)

- Dans le 1^{er} tube on met 2 ml de l'extrait (témoin-).
- Dans le 2^{ème} tube on met 2 ml de chloroforme dans quelques milligrammes de l'extrait, puis 2 ml de H₂SO₄ concentré.
- Le mélange est secoué puis laissé au repos quelques minutes.

L'apparition de la couleur **rouge** dans la **couche chloroforme** indique la présence des **Stérols** [53].

III.3.2.6. Le screening phytochimique des Anthraquinones

On met dans deux tubes 2 ml de l'extrait n-butanol dissout dans MeOH dont :

- Le 1^{er} tube témoin.

La Préparation d'une solution chloroforme/éther de pétrole est préparée dans les proportions (1 :1).

- Dans le 2^{ème} tube additionné quelques millilitres de la solution précédente.
- Puis quelques gouttes de NaOH sont ajoutées.

L'apparition d'une couleur **rouge** indique la présence des **Anthraquinones** [54].

III.3.2.7. Le screening phytochimique des Sucres (Test de Fehling)

- Dans le 1^{er} tube on met 2 ml de l'extrait (témoin-).
- Dans le 2^{ème} tube on met une quantité d'extrait à 1ml de méthanol.
- Puis 1 ml de solution de Fehling est ajouté au mélange précédent.
- Ensuite le tube à essai est placé dans un bain marie qui contient de l'eau bouillante pendant 8 minutes.

L'apparition d'un **précipité rouge brique** indique la présence des **sucres** [55].

III.3.2.8. Le screening phytochimique des saponosides (Test de la mousse)

- Dans le 1^{ier} tube on met 2 ml de l'extrait (témoin-).
- Dans le 2^{ème} tube on met une quantité de bicarbonates de sodium et de l'eau est ajoutée à quelques milligrammes d'extrait, le mélange est ensuite agité.

La présence de **saponosides** se manifeste par l'apparition d'une **mousse** sous la forme d'alvéoles de miel stable [56].

III.3.2.9. Le screening phytochimique des coumarines

Un fragment de l'extrait est dissout dans 2 ml de l'eau chaude, après refroidissement la solution est partagée dans 2 tubes à essai :

- Le 1^{ier} tube témoin.
- Dans le 2^{ème} tube additionné 0.5 ml d'ammoniaque (25% NH₄OH).

L'apparition d'**une fluorescence intense** du tube 2 sous lumières **UV à 365 nm**.

III.4. Chromatographie

III.4.1. La chromatographie liquide sous vide (VLC)

III.4.1.1. Principe

Cette technologie est utilisée pour réaliser le fractionnement d'extraits bruts.

Une chromatographie en phase inverse a été utilisée pour présonder les extraits polaires, et les extraits non polaires ont été présondés avec du gel de silice Kieselgel Merck (70-230 mesh, 63-200 µm). [57].

III.4.2. La chromatographie analytique sur couche mince

III.4.2.1. Principe

La méthode repose sur la séparation des différents composants de l'extrait en fonction de leur capacité à migrer dans la phase mobile. [58].

III.4.3. Protocole (Fractionnement de l'extrait n-butanol du Genre *G. aspalathoides* Lamk .ssp .*erinaceoides* (Lois)

L'extrait butanol de *Genista a* subi un premier fractionnement par chromatographie liquide sous vide (VLC) sur gel de silice 47,16 g greffé en C-18 éluée avec un gradient de CH_2Cl_2 -MeOH (0/100,90/10,80/20,70/30,60/40,50/50). Des fractions de 50 ml (*3) sont recueillies pour chaque mélange et analysées par chromatographie sur couche mince.

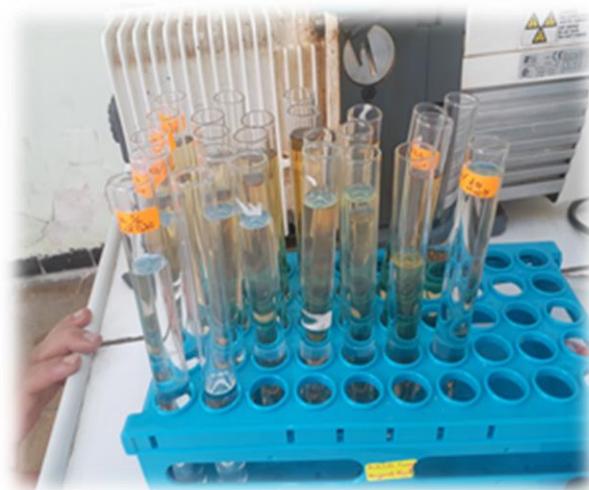




Figure III.2: VLC sur C_{18} de l'extrait butanol des parties aériennes de *G. aspalathoides* Lamk.

Le suivi de la VLC est effectué par CCM dans le système 8 :1 :1 (d'acétate d'éthyle : méthanol : l'eau).

Les CCM ont été examinées à la lumière UV avec révélateur par l'iode.

Les fractions ont été récoltées après rassemblement des fractions présentant des similitudes.

Tableau III.1: Les fractions de la VLC sur C_{18} de l'extrait butanol des parties aériennes de *G. aspalathoides* Lamk.

Eluant : (CH_2Cl_2 -MeOH)	Fractions collectées
100/0	F1
90/10	F2
80/20	F3
70/30	F4
60/40	F5
50/50	F6

III.5. L'activité antioxydante

Les antioxydants ont une grande diversité moléculaire et combattent les processus d'oxydation de différentes manières. Ainsi, afin de mesurer l'activité antioxydante d'une molécule, on peut combiner plusieurs tests [59]. Par exemple:

Le test peut s'effectuer par :

➤ Bio-autographie sur des plaques CCM en utilisant le DPPH comme pulvérisateur « identification qualitative »

➤ Ou par un dosage spectrophotométrie « test quantitative » [60].

Dans ce mémoire pour étudier la capacité d'antioxydant des extraits des plantes, le test au DPPH a été utilisé.

III.5.1.La méthode bio-autographique

III.5.1.1. Protocole

Cette méthode utilise la chromatographie sur couche mince (CCM) suivie d'une révélation au DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle) selon Takao et al, (1994) [61]. Décrite par Bassène (2012)[62].Ainsi, la CCM a été réalisée selon les caractéristiques suivantes :

- Plaque CCM : type de plaques est 60 GF 254 Merck, 0.1 mm sur support d'aluminium (20×20 cm) ;
- Éluant: (AcOEt/MeOH/H₂O) (8 /1 /1) pour les deux extraits n-butanol de (G.A et G.Q).
- Des dépôts : Quelques milligrammes d'extraits dans le méthanol.
- Révélateur :
 - Premièrement on met les plaques dans UV- Visible.
 - Deuxièmement on met une solution méthanolique de DPPH à 2 mg/ml à pulvériser sur la plaque chromatographique après séchage à l'étuve. Les constituants de l'extrait présentant une activité antiradicalaire apparaissent sous forme de spots de couleur jaune-blanc sur fond violet.

III.5.2. La méthode colorimétrique

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) fut l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques.

III.5.2.1. Principe

Cette méthode est basée sur le principe que le DPPH° accepte les atomes d'hydrogène (H) des molécules piégeuses (telles que les antioxydants) (Mishra K. et al. 2012)[63].

(Figure III.3).

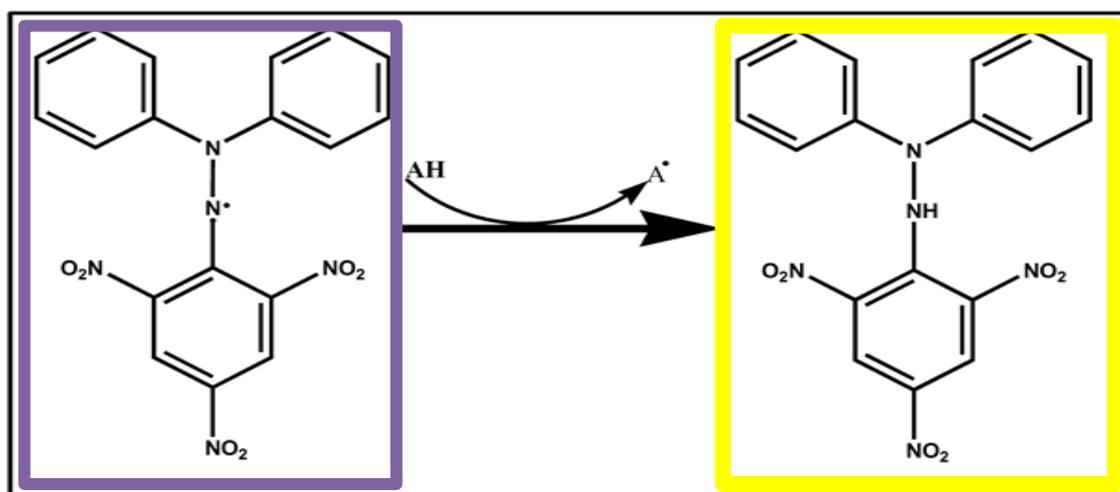


Figure III.3: Mécanisme réactionnel du test DPPH°.

La réduction fait changer la couleur de la solution, du violet au jaune.

Le degré de changement de couleur est directement proportionnel à la concentration et à l'efficacité de l'antioxydant, et la réponse est ensuite quantifiée en mesurant l'absorbance de la solution par spectrophotométrie à 517 nm. Chaque composé antioxydant réagit avec le DPPH (2,2-diphényl-1-picryl-hydrayl) selon sa propre cinétique [64].

III.5.2.2. Protocole

L'activité antiradicalaire des extraits de deux espèces G.A et G.Q a été évaluée en utilisant la méthode du DPPH° (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl).

Tous les extraits ont été préparés dans le méthanol avec une concentration de 50% de méthanol et 50% d'extrait. Ensuite, dans:

- La première étape on ajoute 6 ml de la solution précédente dans le tube -1- (concentration 100%) solution mère. Après dans chaque tube on met 3 ml de la solution précédente en ajoutant 3 ml de MeOH (dilution), on doit faire 3 essais.
- La deuxième étape, on doit refaire 3 essais en portant 0,4 ml de la solution précédente et en ajoutant 1,6 ml de la solution de DPPH (4 mg de DPPH /100 ml de MeOH) jusqu'à l'absorbance à (0,55-0,57), en répétant la même procédure pour les autres tubes.

Après 30 min d'incubation dans une chambre noire à température ambiante, les absorbances des échantillons ont été mesurées avec un spectrophotomètre à 517 nm [65].

Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition (I%).

$$PI (\%) = [(Abs \text{ contrôle} - Abs \text{ échantillon}) / Abs \text{ contrôle}] \times 100$$

L'expérience a été répétée trois fois et les résultats ont été exprimés en valeurs des IC₅₀ (concentration inhibitrice de 50% des radicaux DPPH°). Elle a été calculée à partir du graphe de pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'échantillon en utilisant Microsoft Excel. [65,66].

La détermination d'IC₅₀:

La CI₅₀ représente la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % des radicaux DPPH. Elle est calculée graphiquement par la régression linéaire des graphes tracés [67].

III.6. Dosage des composés phénoliques

III.6.1. Dosage des Polyphénols totaux

III.6.1.1. Principe

Les polyphénols totaux sont déterminés par la méthode adoptée par Singleton et Ross (1965) ont utilisé le réactif de Folin-Ciocalteu [68]. Le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué d'un mélange de deux acides : acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols pour former un complexe bleu stable d'oxydes de tungstène et de molybdène. La coloration produite, dont l'absorption maximum est au voisinage de 760 nm, est proportionnelle à la quantité des composés phénoliques présents dans les extraits végétaux [64]. La quantification des polyphénols totaux a été faite à l'aide d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y=ax$), réalisée dans les mêmes conditions que celles de l'échantillon, en utilisant l'acide gallique comme standard (Figure III.4). Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalents de l'acide gallique par gramme de matière végétale sèche et en poudre (mgEAG/g MS).

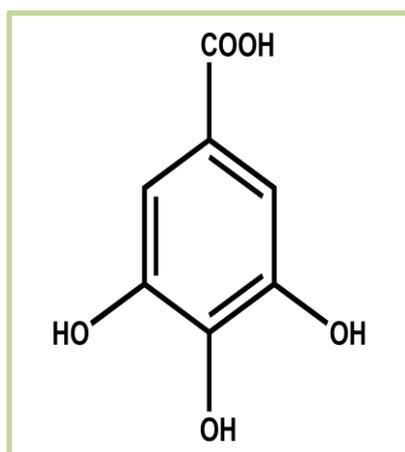


Figure III.4: Structure de l'acide gallique

III.6.1.2. Protocole

La teneur totale en polyphénols a été déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu. 0,5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu (1N) ont été mélangés avec 0,25 ml de chaque extrait préparé dans l'eau distillé avec une concentration de (1 mg/ml),

après 4 min à température ambiante et à l'obscurité, 2,5 ml de carbonate de sodium (20%) ont été ajoutés. Après 2 heures d'incubation à température ambiante, l'absorbance des échantillons et de la solution étalon ont été mesurés à 760 nm avec un spectrophotomètre. Des concentrations croissantes d'acide gallique (7,81- 250 µg/ml) ont été utilisées pour obtenir une courbe standard. Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait (µgAGE/mg) [69].

Cette procédure est résumée dans le schéma ci-dessous (Figure III.5) :

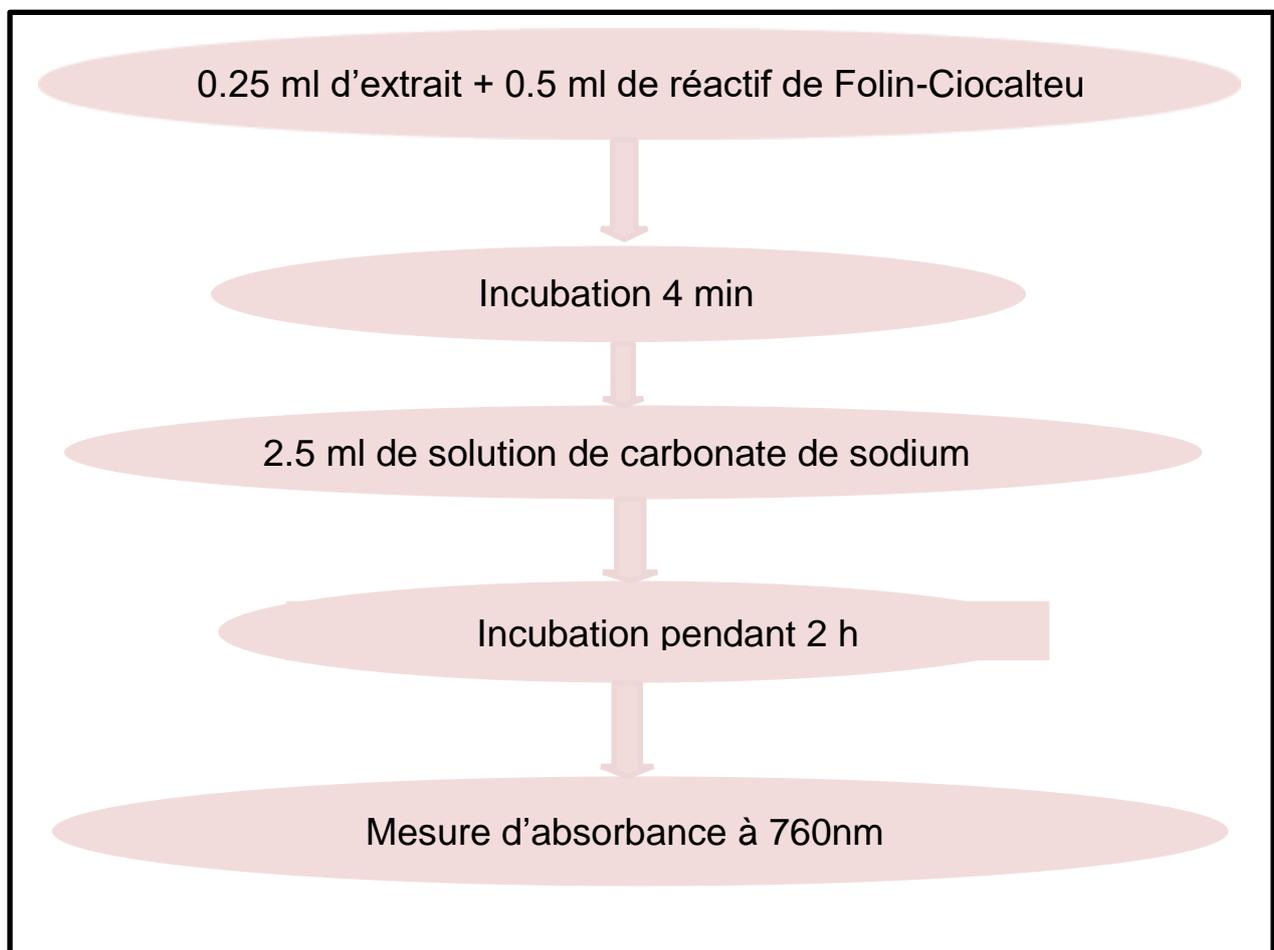


Figure III.5: Protocole de dosage des polyphénols totaux. [69]

IV.1. Les résultats du screening phytochimique

Les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles des métabolites secondaires dans l'extrait n-butanol de l'espèce G.A et G.Q par des réactions qualitatives. La détection de ces composées chimiques est basée sur des réactions de précipitation, un changement de couleur spécifique ou un examen sous la lumière ultraviolette. Les tests de caractérisation phytochimique réalisées sur des extraits n-butanol contenant des substances naturelles, les résultats globaux sont rassemblés dans les tableaux IV.1 et IV.2.

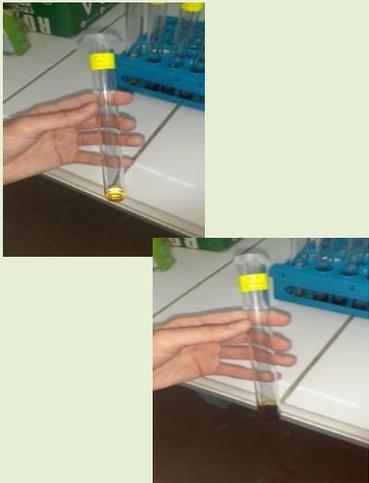
Sachant que :

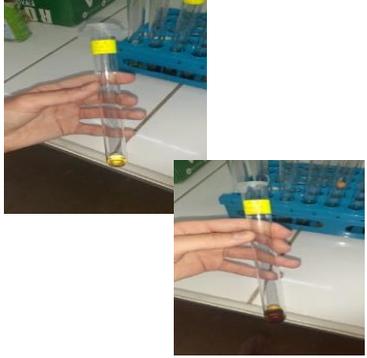
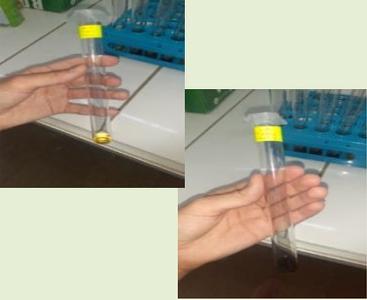
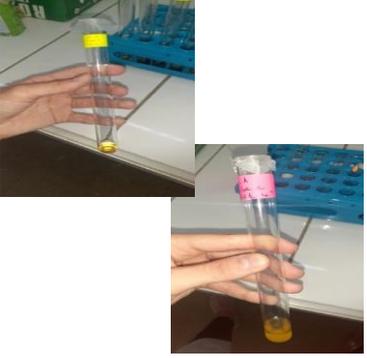
++ indique une forte présence.

+ indique une présence moyenne.

- indique une présence nulle.

Tableau IV.1: Résultats des tests du screening phytochimique de l'extrait n-butanol des deux espèces G.A et G.Q.

Les Constituants	L'observation D'Extrait n-butanol « G.A »	Présence/ Absence	L'observation D'Extrait n-butanol « G.Q »	Présence/ Absence
Flavonoïdes (flavonols et flavanone)		++ flavonols		++ flavonols

<p>Flavon3,4 diols</p>		<p>-</p>		<p>-</p>
<p>Tannins</p>		<p>-</p>		<p>-</p>
<p>Alcaloïdes</p>		<p>+</p>		<p>++</p>
<p>Triterpènes</p>		<p>-</p>		<p>-</p>
<p>Stérols</p>		<p>++ Dégagement de gaz</p>		<p>++ Dégagemen t de gaz</p>

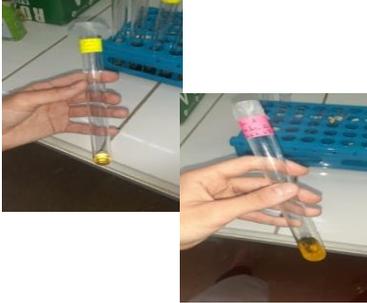
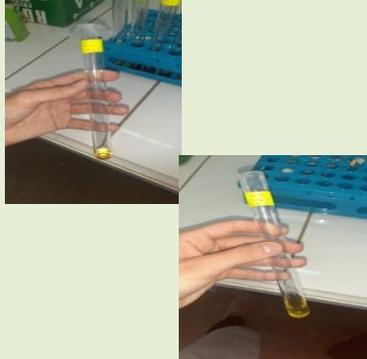
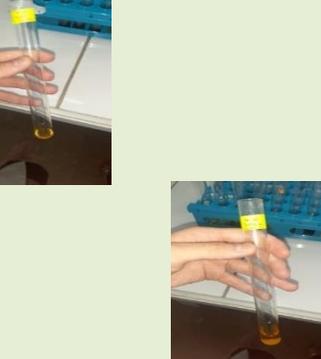
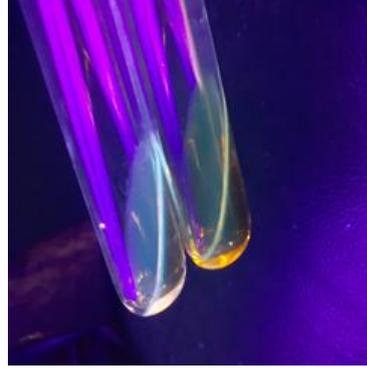
<p>Anthraquinones</p>		<p>-</p>		<p>+</p> <p>On remarque des filles rouges</p>
<p>Sucres</p>		<p>+</p> <p>Précipité jaune-orangé</p>		<p>+</p> <p>Précipité jaune-orangé</p>
<p>Saponosides</p>		<p>+</p>		<p>-</p>
<p>Coumarines</p>		<p>-</p>		<p>-</p>

Tableau IV.2: Résultats de la caractérisation des groupes chimiques d'extrait n-butanol de G.A et G.Q.

Groupes chimiques	Extrait n-butanol de G.A	Extrait n-butanol de G.Q
Flavonoïdes (flavonols et flavanone)	++	++
Flavon 3,4 diols	-	-
Tannins	-	-
Alcaloïdes	+	++
Triterpènes	-	-
Stérols	++	++
Anthraquinones	-	+
Sucres	+	+
Saponosides	+	-
Coumarines	-	-

L'analyse de ces résultats expérimentaux nous ont conduit aux conclusions suivantes :

1. Les flavonoïdes, les alcaloïdes, les stérols, sont présents dans l'extrait n-butanol en quantités variables.
2. Les flavons 3,4 diols, les tannins, les triterpènes, les coumarines sont totalement absents dans l'extrait n-butanol.

Le screening chimique de deux espèces étudiées *G.aspalathoides* Lamk. ssp. *Erinaceoides* (lois.) et *G. quadriflora* Munby a relevé la présence des flavonoïdes, tanins, stérols, alcaloïdes, triterpènes, spanonines, et des leucoanthocyanes. [26-30].

Sur l'ensemble des résultats obtenus, nous remarquons que l'extrait n-butanol étudié est plus ou moins riche en métabolites secondaires.

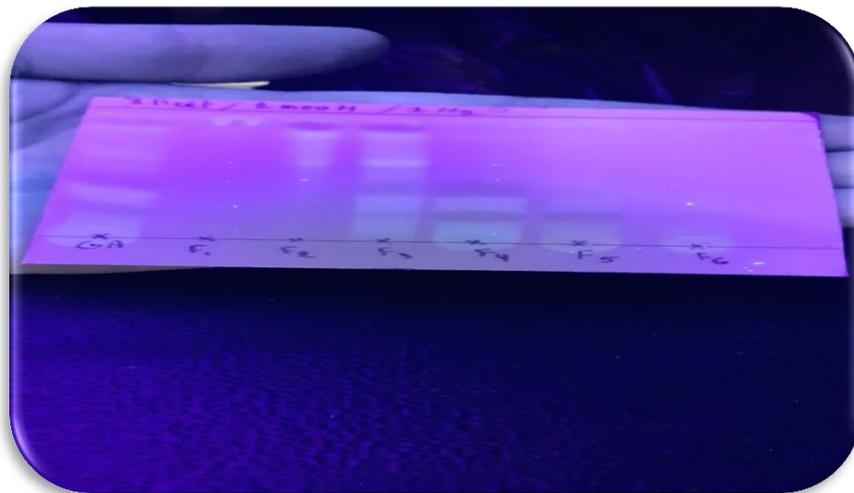
IV.2. Les résultats du fractionnement de l'extrait n-butanol

L'extrait n-butanol de (*G.aspalathoides* Lamk.) a subi un premier fractionnement par chromatographie liquide sous vide (VLC) sur gel de silice greffé en C₁₈ éluée avec un gradient de CH₂Cl₂-MeOH. La révélation de la plaque CCM par l'iode.

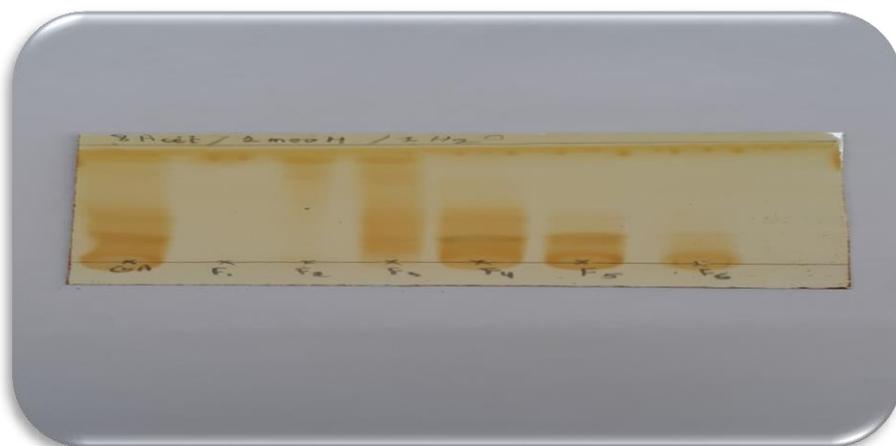
Tableaux IV.3 : L'interprétation probable des couleurs sous UV-visible des composés naturels [70] est comme suit :

L'interprétation des couleurs	Résultats de l'extrait (G.A) dans UV-visible.
Rouge : Anthocyanidine-3-glucoside	-
Rose : Anthocyanidine-3,5-diglucoside	-
Orange : Anthocyanidine-3-glucoside	-
Orange pale : Anthocyanidine-3-glucoside	-
Jaune : Flavonols	+
Jaune pâle : Flavonols	+
Vert : Rutine	-

Bleu sombre : Flavonols, flavonones, aurones	-
Bleu vif : Hydroquinones	-
Bleu pâle : Acide phénolique	+
Bleu blanc fluo : Acide phénolique	+
Violet : Flavonols, flavonones, isoflavonones, flavone	+
Pourpre sombre : chalcones	-



(1)



(2)

Figure IV.1 : Les fractions de la VLC sur C₁₈ de l'extrait n-butanol des parties aériennes de *G. aspalathoides Lamk.*

(1) sous la lumière UV 365 nm.

(2) après révélation par l'iode.

D'après l'interprétation des résultats par UV-visible on peut conclure que l'extrait n-BuOH de *G.A* possède une richesse de métabolites secondaires notamment en flavonoïdes (les taches jaunes et violettes), et l'acide phénolique (les taches bleues pâle) (Tableaux IV. 3). Ces résultats obtenus sont en accord avec les travaux des auteurs [71,72] qui ont travaillé sur les flavonoïdes du Genre *Genista*.

IV.3.Les résultats de l'activité antioxydante

IV.3.1.La méthode bio autographique

La révélation de la plaque chromatographique par la solution de DPPH a montré que l'extrait n-BuOH des deux espèces (*G.A* et *G.Q*) a une activité anti-radicalaire. Cette activité est marquée par la présence de spots jaunes selon les figures IV.2 et IV. 3.

G. aspalathoides Lamk

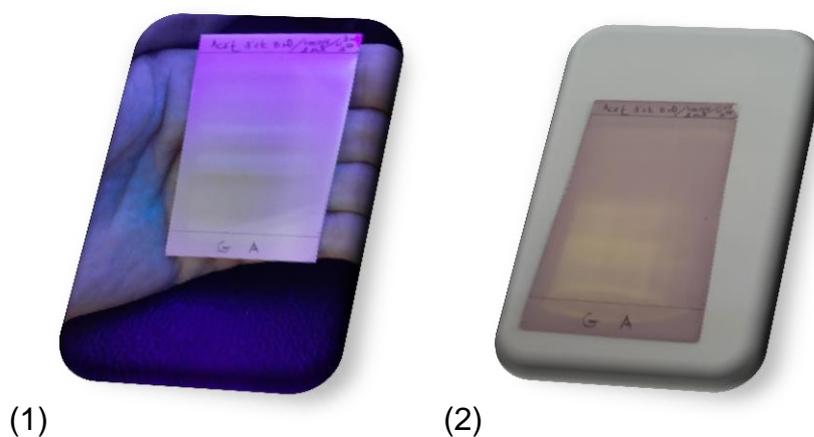


Figure IV.2 : Le chromatogramme de l'extrait n-butanol des parties aériennes de *G. aspalathoides Lamk*

(1) sous la lumière UV 365 nm. (2) après révélation avec le DPPH

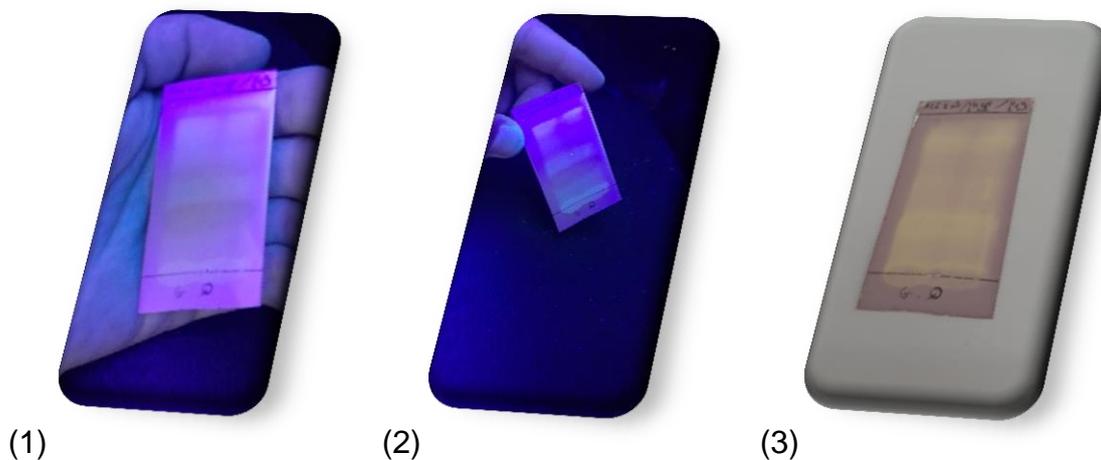
G. quadriflora Munby

Figure IV.3:Le chromatogramme de l'extrait *n*-butanol des parties aériennes de *G. quadriflora* Munby

(1) et (2) sous la lumière UV 365 nm. (3) Plaque CCM après révélation avec le DPPH.

IV.3.2. La méthode colorimétrique

L'activité anti radicalaire de tous les extraits étudiés a été exprimée en valeurs IC_{50} (une valeur faible d' IC_{50} indique une forte capacité de l'extrait, tandis qu'une valeur élevée indique une faible activité de l'extrait).

Selon les mesures effectuées sur l'extrait *n*-butanol des espèces *G.A* et *G.Q*, on a calculé le pourcentage d'inhibition de DPPH selon la formule indiquée dans la partie précédente. Les résultats obtenus sont représentés comparativement à l'acide ascorbique dans le tableau suivant.

Tableau IV. 4 : Les pourcentages d'inhibition d'extraits du DPPH en comparaison avec l'acide ascorbique.

Concentration (mg/ml)	% d'inhibition de DPPH		
	A.ascorbique	Extrait n-BuOH de G.A	Extrait n-BuOH de G.Q
100	96,99±0,4950	90±1,0748	89,35±0,6337
50	95,86±0,2433	80,8±0,1272	84,82±0,5787
25	95,29±0,0981	69,63±1,3576	71.03±0,1079
12,5	94,24 ±0,35	57.94±2.1213	55,85±0.6158
6,25	84,12±0,4725	51,83±0,6225	44.68±0,7511
3,125	56.37±0,3365	47,64±1.5132	40±0.9945
IC50	2,81±0,0529	4,92±0,0566	9,70±0.0709

Les résultats obtenus par ce test permettent de tracer les graphes de la variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration pour l'extrait n-BuOH de deux espèces G.A et G.Q (Figure IV.4). Ces courbes montrent que l'extrait ainsi que le standard (acide ascorbique) réduisent de manière dépendante le radical DPPH, C'est-à-dire, le pourcentage de réduction augmente avec l'augmentation de la concentration d'extraits jusqu'à un seuil ou le pourcentage d'inhibition se stabilise avec l'élévation de la concentration.

Les pourcentages d'inhibition en fonction des différentes concentrations sont reportés sur la figure suivante :

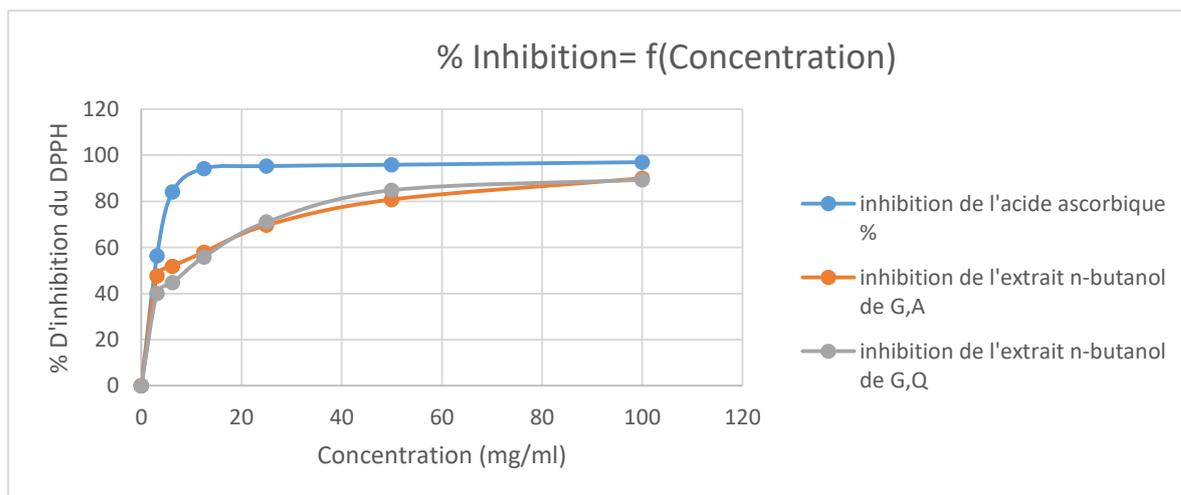


Figure IV.4 : Les courbes des pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations.

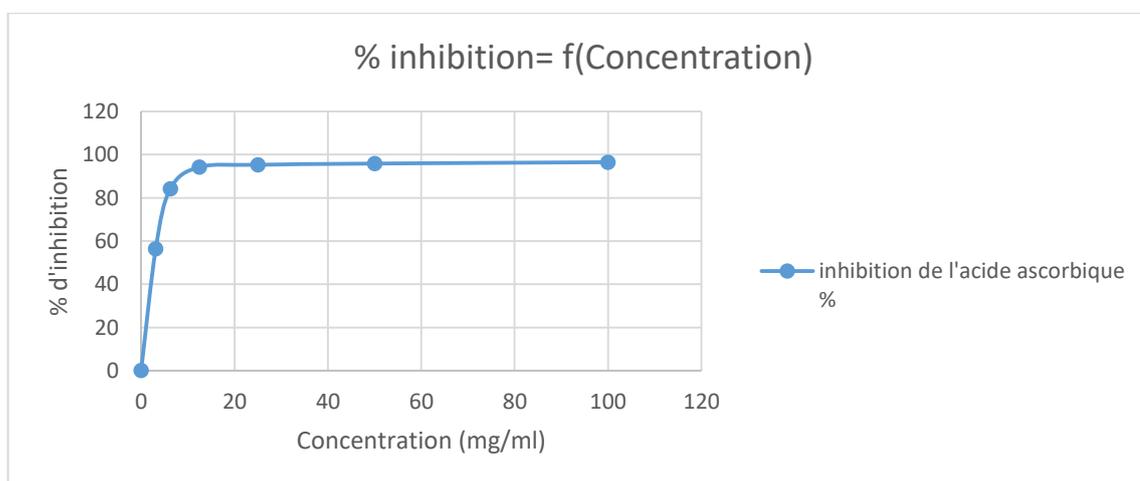


Figure IV.5 : La courbe de pourcentage d'inhibition du DPPH d'acide ascorbique (standard) en fonction de la concentration.

- D'après ces résultats, on comparant les valeurs de IC_{50} , on constate que l'extrait n-BuOH de G.A a présenté une activité antioxydante puissante ($IC_{50}=4,92\pm 0,0566$ mg/ml) significativement importante par rapport au standard d'acide ascorbique ($IC_{50}=2,81\pm 0,0529$ mg/ml).
- A montré que l'extrait *n-BuOH* de G.Q a montré une activité antioxydante moyenne ($IC_{50}=9,70\pm 0.0709$ mg/ml) par rapport au standard d'acide ascorbique ($IC_{50}= 2,81\pm 0,0529$ mg/ml).

Conclusion

Les résultats du test DPPH et la méthode bio autographique de l'activité antioxydante des deux extraits butanol de *Genista* .Ont montré que les extraits de ce genre *Genista* ont une efficacité significative par rapport aux normes utilisées dans l'expérience, où nous avons constaté que l'extrait butanol de *G.aspalathoides* Lamk a une activité plus élevée que l'extrait de butanol de *G.quadriflora* Munby et cela est dû à la possibilité que *G.aspalathoides* Lamk contienne des composés ayant une activité antioxydante supérieure à celle des composants non détenus par *G.quadriflora* Munby.

IV.4.Les résultats de dosage des polyphénols totaux

La détermination de la teneur en polyphénols totaux a été réalisé selon la méthode du réactif de folin-ciocalteau, l'acide gallique est le standard le plus souvent employé dans cette méthode (dans ce mémoire on doit travailler par la courbe d'étalonnage de la solution d'acide gallique déjà préparée et nous utilisons comme référence indiquée dans la partie précédente pour comparer les résultats).

La courbe montre une linéarité de l'absorbance en fonction des concentrations, déterminées à partir de la courbe d'étalonnage suivant :

$$y=0,0145x+0.1477 ; R^2=0.9929$$

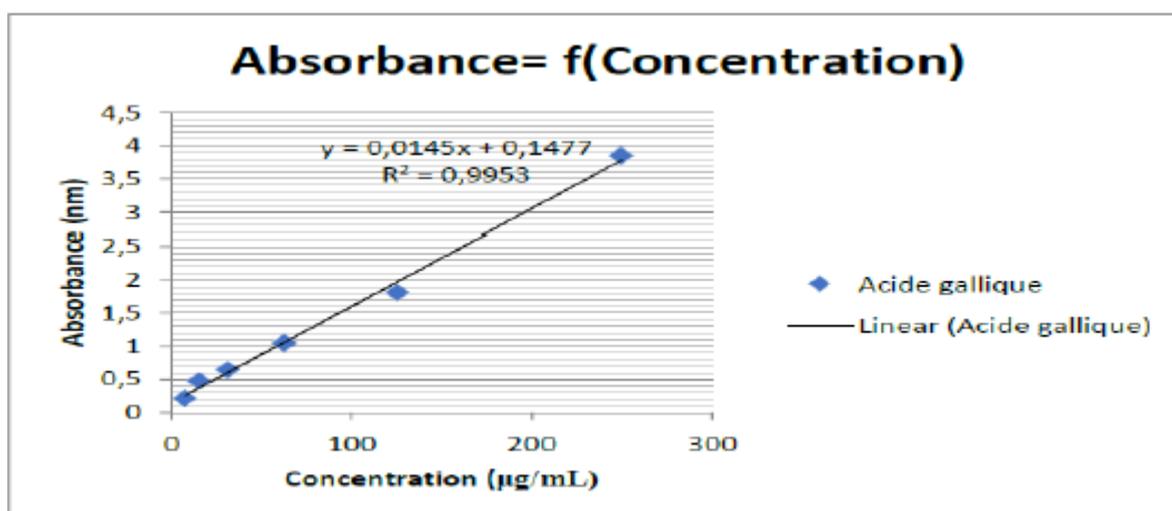


Figure IV.6: La courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

La teneur en polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique et elle est exprimée en mg d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait).

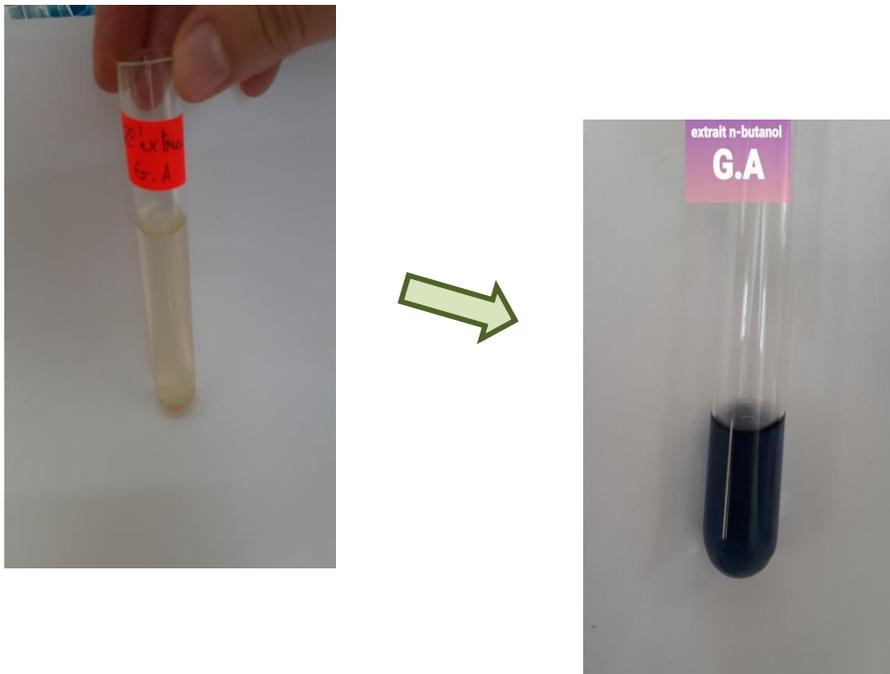


Figure IV.7 : Dosage polyphénols de l'espèce *G. aspalathoides* Lamk.

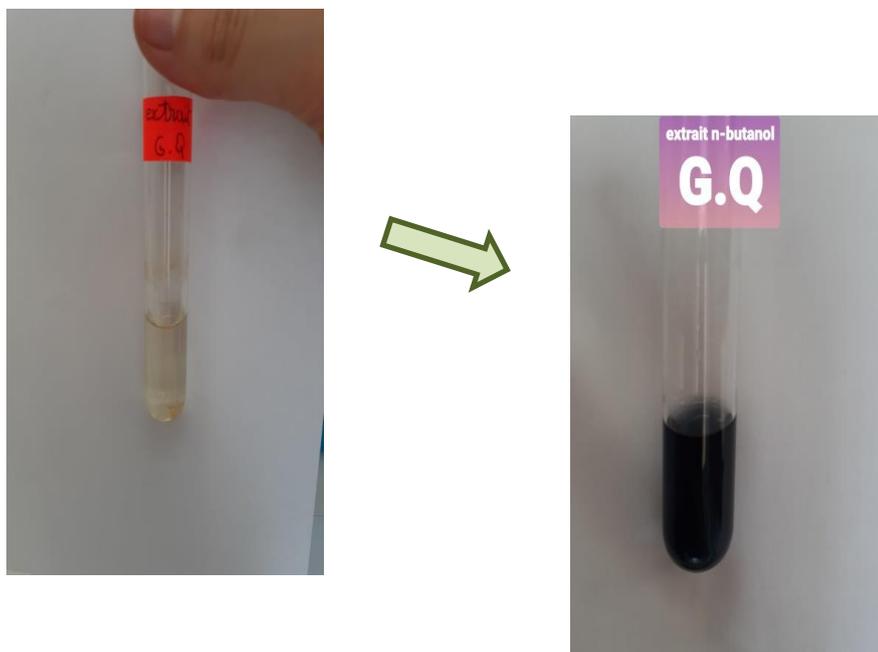


Figure IV.8 : Dosage polyphénols *G. Quadriflora* Munby.

La quantification des polyphénols des extraits a été représentée dans le tableau suivant :

Tableau IV.5 : Résultats du dosage des polyphénols.

L'extrait n-butanol	Absorbance 1	Absorbance 2	Absorbance 3	Moyenne	La teneur polyphénols (mg EAG/g)
G.A	0.898	0.873	0.920	0,897	51.68±0,02352
G.Q	1.407	1.367	1.364	1,3793	84.94±0,02401

Les résultats présentés dans le tableau ci-dessus montrent que les teneurs en polyphénol totaux varient considérablement entre l'extrait n-BuOH de deux espèces (G.A et G.Q).

Les teneurs en polyphénols totaux montrent que l'extrait n-BuOH de espèce (G.Q) représente la teneur la plus élevée de l'ordre de 84.94 mgEAG /g (mg équivalent acide gallique par g d'extrait), tandis que la teneur la plus basse a été obtenue avec l'extrait n-BuOH de espèce (G.A) de l'ordre de 51,68 mg EAG/g.

Nous avons remarqué que l'extrait n-BuOH de (G.Q) renferme plus de composés polyphénols que l'extrait n-BuOH de (G.A). Les résultats sont résumés dans la figure suivante :

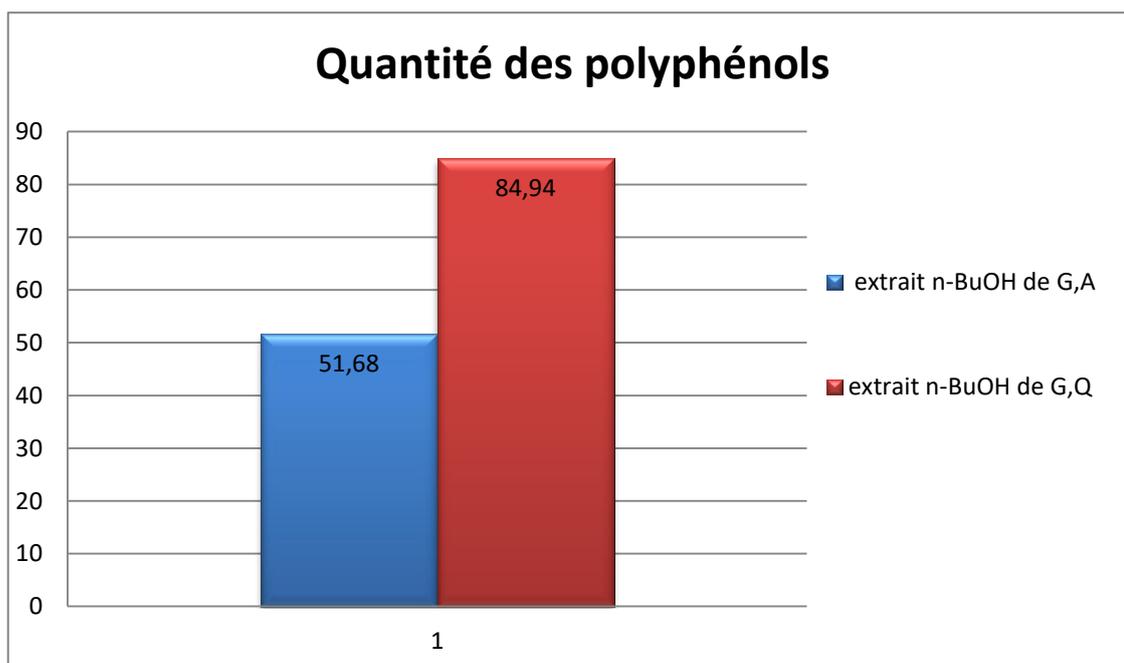


Figure IV.9 : L'histogramme de la quantité en (mg EAG/g) des polyphénols dans l'extrait *n-BuOH* de deux espèces *G.Q* et *G.A* .

Les composés phénoliques semblent être de bons candidats pour leurs activités antioxydantes du fait de la présence de nombreux hydroxyles, pouvant réagir avec les radicaux libres [73,74]. Le dosage des polyphénols totaux de (*Genista aspalathoides* et *quadriflora*) a montré que l'extrait butanolique de *G.quadriflora* *Munby* contenant des pourcentages élevés de polyphénols et présentant une activité antioxydante inférieure par rapport à l'extrait de *G.aspalathoides* *Lamk* contenant des pourcentages inférieurs de polyphénols .Ceci indique que la concentration de ces groupes chimiques n'est pas le seul facteur révélateur des activités antioxydantes.

Cette différence entre le pourcentage de teneur en phénols et l'activité antioxydante peut s'expliquer par la teneur de l'extrait *G.aspalathoides* *Lamk* en acides phénoliques, en flavonoïdes et en isoflavones, ces derniers étant le composé dominant dans cet extrait, ce qui conduit à la possibilité que ce soit l'un des facteurs importants dans l'augmentation de l'activité antioxydante.

Conclusion générale

Notre recherche basée sur l'étude des extraits buthanoliques, de *G. aspalathoides Lamk* et *G. quadriflora Munby*, qui s'est faite par les différents tests de screening dosages des polyphénols totaux, évaluation de l'activité antiradicalaire par la méthode bio autographique, par la méthode colorimétrique et par le fractionnement de l'extrait butanol du Genre (*G.aspalathoides Lamk*).

Les résultats obtenus grâce au screening phytochimique nous ont permis de mettre en évidence la présence de multiples métabolites secondaires ayant des activités antioxydante connues tels que : les flavonoïdes, les alcaloïdes les stérols, au niveau des extraits de l'espèce *G. aspalathoides Lamk* et *G. quadriflora Munby*.

Le fractionnement par chromatographie liquide sous vide (VLC) de l'extrait BuOH de *G. aspalathoides Lamket* d'après l'interprétation des résultats par UV-visible nous concluent que l'extrait n-BuOH de G.A possède une richesse de métabolites secondaires notamment en flavonoïdes.

La quantification des polyphénols par les méthodes colorimétriques et enfin une évaluation de l'activité antioxydante des deux espèces par le test au DPPH et celui de la méthode Bio autographie sur des plaques CCM. Les résultats qu'on a obtenus nous prouvent une bonne activité antioxydante de l'extrait butanol *G.aspalathoides Lamk*.

LES REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

[1].Macheix, J.-J., A. Fleuriet, and C. Jay-Allemand, (2005). Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique: PPUR pressespolytechniques.

[2].Verpoorte, R., (2000). Pharmacognosy in the new millennium: leadfinding and biotechnology. *Journal of pharmacy and pharmacology*, 52(3): p 253-262.

[3]. Quezel P, Santa S, (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome I, C.N.R.S. Paris.

[4].Wojciechowski M.F, Lavin M, Sanderson M.J, (2004). A phylogeny of Legumes (Leguminosae) based on analysis of the plastid *MATK* gene resolves many wellsupportedsubclades within the family. *American Journal of Botany*, 11, p1846 .

[5]. J.I. Guignard, (1994). Abrégé de botanique, 9eme édition, éditeur Masson, 276.

[6].P. Quezel, and S. Santa, (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome I, C.N.R.S.Paris.

[7].Botineau, M. (2010). Botanique systématique et applique des plantes à fleurs. Editions TEC & DOC, Lavoisier, p. 597-639.

[8].Heywood, V.H. (1996). Flowering Plants of the World.3th edition, Oxford University Press, Oxford, p 141-145, 149-152.

LES REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

[9].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.

[10].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. 3ème édition, Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne,p 202-211.

[11]. I. Haieb, F. Harzallah-Skhiri, and R. Chemli, (1999). Contribution à une étude ethnobotanique de la flore en Tunisie (cas de la région deSfax); travaux de fin d'études E.S.H.E.

[12]. Y. Mahmoudi, (1980).La thérapeutique par les plantes communes en Algerie.Palais de livre Blida.

[13]. L. Bézanger-beauquesne, M. Pinkas et M. Torck, (1986). Les plantes dans la thérapeutique moderne. Editeur Maloine, p 469.

[14].Ibraheim Z.Z, Khalifa A.A. (2000). *Bull. Pharm. Sci*, 23, p 177-186.

[15].Maire R, Quezel P, (1987). Flore de l'Afrique du Nord, Dicots. Leguminosae. Part16.

[16].Noccioli C, Meini L, Cecilia Loi M, Potenza D, pistelli L. (2011).Anew plpinumisoflavone derivative from Genistapichisermolliana.*Phytochem.Lett.*4(3), p 342.

LES REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

[17].Judd W.S, Campbell C.S, Kellogg E.A, Stevens P. (2002). Botanique systématique : une perspective phylogénétique. Bruxelles : De Boeck Université.

[18].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.

[19].Azzoui O, ES-Sgaouri A, &Fennane M. (2000). Valeur écologique et biogéographique du genre *Genista* L. du Maroc. *Lagascalia*. 21(2), p 263-278.

[20]. Kacem N, Goossens G.F, Duhal N. (2014). Determination of alkaloids in endemic *Genistaquadriflora*Munby (Fabaceae).*Biochemical Systematics and Ecology*. 56, p 83-87.

[21].Pistelli L, Bertoli A, Giachi I, Morrelli I, Roubioli P, Bicchi C.(2001).
Quinolizidineallaloides from *Genistaephedroides*.*Biochem.Sys. Ecol.* 29, p 137-141.

[22].Erdemoylu N, Ozkan S, Duran A, Yoson F. (2009). GC-MS analysis and antimicrobial activity of alkaloid extract from *Genistavuralii*. *Pharmaceutical Biology*. 47(1), p 81-85.

[23].Mekkiou R, Touahar H, Marie-Geneviève, Dijoux-Franca, Anne-Marie Mariotte,

Benayache S, Benayache F. (2005).A new Isoflavone from *Genistasaharae* (Fabaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*.33(6), p 635.

[24].Boumaza O, Mekkiou R, Seghiri R, Benayache S, Garcia V.P, Bermejo J, (2011).

LES REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

Secondary metabolites from chloroform extract of *Genistatricuspidata*. *Chemistry of Natural Compounds*. 47(2), p 277-278.

[25]. **Kerkatou M, Menad A, Sarri D, leon F, Brouard I, Bouldjedj R, Chalard P, Benayache F.** (2012). Secondary metabolites from *GenistaaspalathoidesLamk* ssp. 5(5),p 285-289.

[26]. **Rice E.C.A, Miller N.J, Bolwell P.G, Bramley P.M, Pridham J.B,** (1995). The relative antioxidant activities of plant derived polyphenolic flavonoids. *Free Radical Research*, 22,pp 375-383.

[27]. **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, HelderMota-Filipe R.P.** (2009). Bioactivity studies and chemical profile of the antidiabetic plant *Genistatenera*. *Journal of Ethnopharmacology*. 122, p 384–393.

[28]. **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 17th century. *Journal of Ethnopharmacology*. 121, p 343–359.

[29]. **Guarrera P.M, Leporatti M.L.** (2007). Ethnobotanical remarks on Central and Southern Italy. *Journal of EthnobiologyEthnomedicine*. 3, p 23.

[30]. **Boukaabache R, Boumaza O, Mekkiou R, Seghiri R, Benayache F, Benayache S.** (2015). PreliminaryPhytochemicalAnalysis and ChemicalConstituentsfrom*GenistaaspalathoidesLamk.ssp.erinaceoides* (Lois.) M. (Fabaceae). *RJPBCS*. 6(2), p 551-554.

LES REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

[31]. *Genista quadriflora* Munby, (1855). *Bulletin de la Société Botanique de France*, 2, p 283.

[32]. Huxtable R.J, (1990). Activation and pulmonary toxicity of Pyrrolizidine Alkaloids, *Pharmacology & Therapeutics*, 47, p 371-389.

[33]. Keeler R.F, (1989). Quinolizidine alkaloids in Range.25, and Grain Lupins in « Toxicants of Plant Origin » (Cheeke P. R. éd.), *Alkaloids, Chemical Rubber Company*, 1, p 133-168.

[34]. Salwa F, Farag, Amany S. Ahmed Kenji T, Yoshiaki T, Messatake N, (2001). Isoflavonoidsglucosides from *Dalbergiasissoo*. *Phytochemistry*, 57, p 1263-1268.

[35]. Bilia A.R, Flammini F, Fammini G, Morelli I, Masili A, (1993). *Phytochemistry*, 34(1) ,p847-852.

[36]. Bensalah F, (2014). Contribution à l'étude Phytochimique et l'effet hémolytique del'extrait brut hydroalcoolique de la partie aérienne de *Marrubiumvulgare*L. Mémoire de Master University Abou BakrBelkaid -Tlemcen.

[37]. R. A. Dixon, (1999). In *Comprehensive Natural Products Chemistry*. Sankawa U., ed. (Elsevier Oxford UK).1, p. 773-823.

[38]. Martins.A, M.A A-F, Borges.C, Rauter.A.P, Brum-Bousquet.M, Tillequin.F, Gonzalez.A.G and Bermejo.J. (2002). Flavonoids from *Genistatenera*. *Natural Products in the New Millennium: Prospects and Industrial Application*, p 111-117.

LES REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

[39].Pistelli.L, Bertoli.A, Giach.I and Manumata.A. (1998).

Flavonoids from *Genistaephedroides*.Journal of Natural Product, 61, p 1404-1406.

[40].Noccioli.C, Meini.L, Loi.M.C, Potenza.D and Pistelli.L. (2011). A new alpinum isoflavone derivative from *Genista pichisermolliana*.Phytochemistry Letters, 4, p 342-344.

[41].Pistelli.L, Giachi.I, Potenza.D and Morelli.I. (2000).A New Isoflavone from *Genistacorsica*. Journal of Natural Product, 63, p504-506.

[42].Giachi.I, Manunta.A, Morelli.I and Pistelli.L. (2002). Flavonoids and isoflavonoids from *Genistamorisi*.Biochemical Systematics and Ecology, 30, p801-803.

[43].Venditti.A, Frezza.C, .Foddai.S, Serafini.M and Bianco.A. (2016). A rare bis- rhamnopyranosyl-aromadendrin derivative and other flavonoids from the flowers of *Genistacilentina*Vals, an endemic species of southern Italy.Arabian Journal of Chemistry.

[44].Boumaza.O, Mekkiou.R, Seghiri.R, Sarri.D, Benayache.S, Garcia.P.V, Bermejo.J and Benayache.F. (2006). Flavonoids and isoflavonoids from *Genistatricuspidata*. Chemistry of Natural Compounds, 42, p 730-731.

[45].Boutaghane.N, Voutquenne-Nazabadioko.L, Harakat.D, Simon.A and Kabouche.Z. (2013). Triterpenesaponins of *Genistaulicina*Spach.Phytochemistry, 93,p 176-181.

LES REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

[46]. Iserin, P., Masson, M., Restellini, J-P., Ybert, E., Moulard, F., Zha, E. ; (1996).

Larousse encyclopédie des plantes médicinales, les éléments actifs des plantes, 2^{éd}, pp14.

[47]. G. Richter, (1993). Métabolisme des végétaux, physiologie et biochimie. Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne.

[48]. Pistelli L., Bertoli A., Giachi I., Morelli I., Rubiolo P., Bicchi C. (2001). Quinolizidine alkaloids from *Genista ephedroides*. *Biochemical Systematics and Ecology*. 29, p137-141.

[49]. **MenthaSpicata, L.**, SCREENING PHYTOCHIMIQUE D'UNE PLANTE MEDICINALE : *MenthaSpicata* L.

[50]. **BOUKAABACHE RABIA**, (2015). Thèse de doctorat Recherche et détermination des métabolites secondaires des plantes issues de la famille des fabacées, page 62.

[51]. **Bruneton J.** Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales. 1993. 2^{ème} édition Tec et Doc (Ed) Paris. p 914.

[52]. **Dohou N., YamniK., Gmiran., Idrissi Hassani L.M.** Etude de polyphénols des feuilles d'une endémique ibéro Marocaine, *Thymelaea lychroides*. 2003. *Acta Botanica Malacitana*. 29 :233-239.

[53]. **Benkaza I, Chouiter Y**, Constantine Polyphénols totaux, activité antiradicalaire et activité antibactérienne des extraits d'une plante médicinale de la famille des Solanaceae, page16.

[54]. **Malec, L.S. and A.** (2003) Pamilio, Herbivory effects on the chemical constituents of *Bromuspictus*. *Mol. Med. Chem.* 1 : p. 30-38.

LES REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

[55]. **Bekro, Y.-A., et al.**,(2007) Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthiana* (Baill.) Herend. Et Zarucchi (Caesalpinaceae). *Sciences & Nature*. 4(2) : p. 217-225.

[56]. **N'Guessan, K., et al.**, (2009) Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Sciences & Nature*. 6(1).

[57]. **Khalfalah H, Lounis H**, (2014-2015). Investigation phytochimique de la plante médicinale *Genistanumidicaspach*, page 24.

[58]. **Mahdjar, S.**(2013) Contribution à l'étude de la composition chimique de la plante *Matricaria pubescens* et l'évaluation de son activité antioxydante, Mémoire de master, Université de Ouargla.

[59]. **GUILLOUTY A**, (2016). Plantes médicinales et antioxydants, page 44.

[60]. **RACHED W**, (2008-2009). Évaluation du potentiel antioxydant de plantes médicinales et analyse phytochimique, page 50.

[61]. **Takao, T., et al.**,(1994) A simple screening method for antioxidants and isolation of several antioxidants produced by marine bacteria from fish and shellfish. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, .58(10) : p. 1780-1783.

[62]. **Bassène, E.**,(2012). Initiation à la recherche sur les substances naturelles: Extraction-Analyse- Essais Biologiques. Presses universitaires de Dakar. P. 150.

[63]. **Khelfallah A**, (2012-2013). Etude comparative du contenu phénolique et du pouvoir antioxydant de quelques plantes médicinales et des céréales alimentaires, p 73.

LES REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

[64].HAMIDI K, CHERIBI M, (2018-2019). Etude phytochimique, biologique d'une plante Algérienne de la famille Asteraceae, p 27.

[65]. Blois, M.S., (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature 4617 (181), 1119–1200.

[66].Koleva, I.I., et a., (2002) Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques. 13(1): p. 8-17.

[67].Öztürk, H., U. Kolak, and C. Meric, (2011) Antioxidant, anticholinesterase and antibacterial activities of *Jurinea consanguinea* DC. Records of naturel products. 5(1) : p. 43.

[68].Zerdazi F Z, Rebbah M, (2016-2017).

Etude phytochimique et activité antioxydante d'une plante médicinale Algérienne du Genre *Genista* (Fabaceae), page 41.

[69].Marian, N.; Fereidoo, S.(2004) Extraction and analysis of phenolics in food, Journal of Chromatography A, 1054, 95-111.

[70].Singleton, V.L., Orthofer, R. Lamuela-Raventos, R.M.(1999) Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. Methods in Enzymology, 299, 152-178.

[71].Markham, K.R., (1982): Techniques of flavonoid identification. Academicpress London. Vol. 36.

LES REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

[72]. Pistelli L., Bertoli A., Giachi I., Manumata A. (1998). Flavonoids from *Genista ephedroides*. Journal of Nat. Prod. (11).61: 1404-1406.

[73]. Giachi I., Manunta A., Morelli I., Pistelli L. (2002). Flavonoids and isoflavonoids from *Genista morisii*. Biochemical Systematics and Ecology. 30: 801-803.

[74]. Mahmoudi, S., M. Khali, and N. Mahmoudi, (2013). Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). Nature & Technology, (9): p. 35.