

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
جامعة عمار تليدجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT
كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم علوم المادة
DEPARTEMENT SCIENCES DE LA MATIERE



Mémoire de Master
Domaine : Sciences de la Matière
Filière : Chimie
Option : Chimie organique

Par :
Mlle. FERHAT Fadhila
Mlle. MILOUDI Maissa

THEME

**Etude Phytochimique et évaluation de l'activité
antioxydante des extraits des feuilles et des fleurs
d'une plante médicinale locale : *Cytisus villosus* pourr**

Soutenu publiquement devant le jury composé de :

Mr. KORIBA Bakhti	M.A.A	Président
Mme. NOURDDINE Asmaa	M.C.B	Examinatrice
Mme. BOUZIANE Amel	M.C.B	Promotrice

Année Universitaire : 2020- 2021

SOMMAIRE

Remerciements

Liste des abréviations	I
------------------------	---

Liste des figures et des schémas	II
----------------------------------	----

Liste des tableaux	III
--------------------	-----

Introduction générale	1
-----------------------	---

Partie I : Synthèse bibliographique

Introduction	3
--------------	---

I. Les métabolites secondaires	3
--------------------------------	---

I.1. Les polyphénols	3
----------------------	---

I.1.1. Les composés phénoliques	4
---------------------------------	---

I.1.2. Les Flavonoïdes	5
------------------------	---

I.1.3. Les tanins	6
-------------------	---

I.2. Le rôle et l'intérêt des composés phénoliques	7
--	---

II. L'activité antioxydante	8
-----------------------------	---

II.1. Les radicaux libres	8
---------------------------	---

II.2. Le stress oxydatif	9
--------------------------	---

II.3. Les maladies liées au stress oxydatif	9
---	---

II.4. Les antioxydants	10
------------------------	----

II.5. Le système de défense antioxydant	10
---	----

II.5.1. Les antioxydants enzymatiques	10
---------------------------------------	----

II.5.2. Les antioxydants non enzymatiques	10
---	----

III. <i>Cytisus villosus pourr</i>	11
------------------------------------	----

III.1. Description botanique de la plante	11
---	----

III.2. Classification systématique	12
------------------------------------	----

III.3. Répartition géographique de <i>Cytisus villosus pourr</i>	12
--	----

III.4. Composition chimique du genre <i>Cytisus</i>	13
III.5. Utilisation du genre <i>Cytisus</i> en médecine traditionnelle	13
III.6. Importance économique du genre <i>Cytisus</i>	14

Partie II : partie expérimentale

I. Etude phytochimique	15
I.1. Matériel végétal	15
I.1.1. Séparation, broyage et tamisage	15
I.1.2. Extraction et préparation des extraits	16
I.2. Analyses qualitatives et quantitatives des extraits de plante	17
➤ Rendements des extraits végétaux	17
I.2.1. Analyses qualitatives	17
I.2.2. Analyses quantitative	19
➤ Dosage des polyphénols totaux (PPT)	19
➤ Dosage des flavonoïdes totaux (FVT)	21
➤ Dosage des flavonols totaux	22
II. Etude de l'activité antioxydante des extraits étudiés	23
II.1. Le potentiel antioxydant	23
II.1.1. Test de piégeage du radical DPPH	24
II.1.2. Test de pouvoir réducteur du fer (FRAP)	25
III. Résultats et discussions	27
III.1. Résultats des rendements des extraits phénoliques	27
III.2. Résultats des analyses qualitatives	28
III.3. Résultats des analyses quantitatives	30
➤ Teneur en polyphénols totaux	30
➤ Teneur en flavonoïdes totaux	32
➤ Teneurs en flavonols	33
III.4. Résultats des activités antioxydantes	34

III.4.1. Résultats du test DPPH	34
III .4.2. Résultats du test FRAP	35
Conclusion	37
Références bibliographiques	
Annexe	
Résumé	

Remerciements

Nous remercions avant tout **DIEU** le Tout Puissant qui nous a donné la force et la patience pour mener à bien ce travail.

Un remerciement spécial pour mon encadreur Mme : **BOUZIANE AMEL**, pour sa disponibilité, sa patience, sa compréhension. Merci pour votre gentillesse, vos précieux conseils et votre soutien à tous les instants, et surtout merci pour vos qualités scientifiques et humaines et sa contribution au succès de ce travail.

Je remercie chaleureusement Mr. **KORIAA Bakhti** de m'avoir fait l'honneur de présider le jury, de ce mémoire.

Mes sincères remerciements à Mme. **NOUREDDINE Asmaa** d'avoir accepté de juger et d'examiner ce travail.

Nos remerciements vont aussi à tous les enseignants et le chef de département de science de la matière, Mr **HAMDI Ahmed**

Et en particulier, nous remercions les ingénieurs de laboratoire de département Science de la matière.

Enfin, nous tenons à exprimer notre reconnaissance à tous nos amis et collègues de la promotion de chimie organique appliquée 2021 et à toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail

Merci à tous

Dédicaces

C'est avec un cœur rempli de joie et de bonheur, je dédie ce travail :

A ma très chère mère Aucune dédicace très chère maman, ne pourrait exprimer la profondeur des sentiments que j'éprouve pour vous, vos sacrifices innombrables et votre dévouement firent pour moi un encouragement. Vous avez guetté mes pas, et m'avez couvé de tendresse, ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Vous m'avez aidé et soutenu pendant de nombreuses années avec à chaque fois une attention renouvelée. Puisse Dieu, tout puissant vous combler de santé, de bonheur et vous procurer une longue vie.

A mon très cher père Tout l'encre du monde ne pourrait suffire pour exprimer mes sentiments envers un être très cher. Vous avez toujours été mon école de patience, de confiance et surtout d'espoir et d'amour. Vous êtes et vous resterez pour moi ma référence, la lumière qui illumine mon chemin.

A ma Sœur Fatima tu es la sœur qui assure sone rôle comme il faut, je n'oublierais jamais ton encouragement et ton soutien le long de mes études, je t'estime beaucoup et je t'aime beaucoup. Et **A mon frère Mohamed** Je vous souhaite beaucoup de succès, de prospérité et une vie pleine de joie et de bonheur.

Et toute la famille Ferhat.

A ma grand-mère, Puisse Dieu, le Très Haut, t'accorder santé, bonheur et longue vie.

Et toute la famille Yah.

A ma chère binôme Maïssa, je veux te dire merci pour tous les moments inoubliables que j'ai passés avec toi, reçois tous mes remerciements et mon amitié.

A mes chères amies, Ihssane, Fatima, Imane, Khadîdja, Afaf.

Fadhila Ferhat

Dédicace

-C'est avec un énorme plaisir, à cœur ouvert je dédie ce modeste travail à :

*_ A celle qui m'a donné la vie, ma source d'amour et de tendresse, à **ma très chère mère**, celle qui m'a toujours comblée avec sa douceur et son affection, aidée et épaulée.*

*_ **A mon pilier, mon père** celui qui attend avec patience les fruits de sa bonne éducation, pour tous les sacrifices qu'il a consentis pour mon bien être et les conseils qu'il m'a prodigué tout au long de mon éducation, chère père que Dieu te procure santé et longévité.*

A la mémoire de mon grand-père

*_ Ce travail est dédié à **mon grand-père** décédé très tôt, et qui m'a toujours motivé dans mes études. J'espère qu'il appréciera cet humble geste en signe de gratitude pour la petite-fille qui a long temps prié pour le salut de son âme, baignée par Dieu tout-puissant de sa sainte miséricorde.*

*_ **A mes grands-mères**, c'est ma plus profonde gratitude pour amour éternel, j'espère que ce reportage sera le plus beau cadeau que je puisse vous faire.*

*_ A ma chère sœur qui m'a toujours encouragé et soutenu **Houda**, que dieu t'aide dans ta vie afin que tu atteignes, toutes nos joies et nos douleurs, je te dédie ce travail qui est le fruit de nos efforts.*

*_ A mes chères sœurs : **Bouchra**, **Hadjer** et mes chères frères : **Housseem**, **Abd El Malek**, qui je le sais, ma réussite est très importante à leurs yeux, que Dieu vous garde pour moi.*

*A toute ma famille paternelle « **Miloudi** » surtout ma tante **Fatima Miloudi** et a toute ma famille maternelle « **Teggar** ».*

*Ames chères cousines **Manel**, **Loubna**, **Naziha** , **Hiba**.*

_ A mon adorable binôme Fadhila au nom de notre belle amitié, pour tous les souvenirs qui nous lient, toutes nos joies et nos douleurs, je te dédie ce travail qui est le fruit de nos efforts.

*_ A mes chères amis et mes sœurs **Soulaf** et **Maya**.*

*_ A mes amis et mes collègues **Fatima** et **Afaf**.*

_ A tous ceux qui me sont chers et que j'ai omis de citer.

Liste des abréviations

C° : Degré Celsius

DPPH : 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

FRAP : Pouvoir réducteur des ions ferriques

IC50 : Concentration inhibitrice à 50%

PI% : Pourcentage d'inhibition

g : Gramme

g /mol : Gramme par mol

s : Seconde

Min : Minute

h : Heure

Mg : Milligramme

Mg /ml : Milligramme /Millilitre

Mg /g : Milligramme / Gramme

ml : Millilitre

Nm : Nanomètre

Mg EAG/g : Milligramme d'équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait

Mg ERG/g : Milligramme d'équivalents de rutine par gramme d'extrait

UV : Ultras violets

Liste des figures et des schémas

Figure 1 : Structure de la base des flavonoïdes.....	5.
Figure 2 : Les différentes classes des flavonoïdes.....	6
Figure 3 : Structure de l'acide gallique(a) et structure de l'acide ellagique(b).....	7
Figure 4 : La balance d'équilibre entre les systèmes pro-oxydants et les antioxydants.....	9
Figure 5 : Photo de l'arbuste <i>Cytisus villosus pourr</i> , ses feuilles et ses fleurs.....	11
Figure 6 : Carte de répartition géographique du genre <i>Cytisus</i>	12
Figure 7 : Les parties récoltées de <i>cytissus villosus pourr</i> (feuilles / fleurs).....	15
Figure 8 : Structure de l'acide gallique.....	19
Figure 9 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux....	20
Figure 10 : Structure de la rutine.....	21
Figure 11 : Courbe d'étalonnage de la rutine pour le dosage des flavonoïdes totaux.....	22
Figure 12 : Courbe d'étalonnage de la rutine pour le dosage des flavonols totaux.....	23
Figure 13 : Mécanisme réactionnel d'un antioxydant avec le DPPH•.....	24
Figure 14 : Rendements des extraits phénoliques de la plante étudiée.....	27
Figure 15 : Teneurs en polyphénols totaux des extraits phénoliques de la plante étudiée..	30
Figure 16 : Teneurs en flavonoïdes totaux des extraits phénoliques de la plante étudiée...	32
Figure 17 : Teneurs en flavonols totaux des extraits phénoliques de la plante étudiée.....	33
Figure 18 : Les valeurs d'IC 50 des deux extraits du radical DPPH.....	34
Figure 19 : Les valeurs d'IC 50 des deux extraits de test FRAP.....	36
Schéma 1 : Protocole expérimentale d'extraction des extraits phénoliques.....	16

Liste des tableaux

Tableau 1 : Principales classes de composés phénoliques.....	4
Tableau 2 : Classification systématique de <i>Cytisus villosus</i> pourr.....	12
Tableau 3 : Les rendements des extraits phénoliques.....	27
Tableau 4 : Les tests phytochimiques des différents extraits de la plante étudiée (feuilles et fleurs).....	28
Tableau 5 : Teneurs en polyphénols totaux des extraits phénoliques de la plante étudiée..	30
Tableau 6 : Teneurs en flavonoïdes totaux des extraits phénoliques de la plante étudiée..	31
Tableau 7 : Teneurs en flavonols totaux des extraits phénoliques de la plante étudiée.....	33
Tableau 8 : Les valeurs d'IC 50 des deux extraits du radical DPPH.....	34
Tableau 9 : Les valeurs d'IC 50 des deux extraits de test FRAP.....	35

INTRODUCTION GENERALE

Introduction générale

Depuis longtemps, l'homme a utilisé des remèdes traditionnels à base de plantes (tisanes, poudres et décoctions), pour se soigner. Les plantes médicinales représentent une des principales sources pour la découverte des médicaments. L'intérêt de l'étude et de l'utilisation des plantes médicinales a mené à la caractérisation et à l'identification de molécules majeures et à l'isolation de composés chimiques actifs d'une importance thérapeutique incontestable (**Leduc et al., 2006**).

Selon l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé), près de 65 à 80% de la population mondiale, essentiellement dans les pays en développement, utilisent principalement des plantes médicinales traditionnelles pour leurs soins de santé primaires, en raison de la pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne. Malgré les progrès remarquables dans le domaine de la chimie organique au XXe siècle, plus de 25% des médicaments prescrits dans les pays développés tirent leurs actifs directement ou indirectement des plantes médicinales traditionnelles (**Newman et al., 2000**).

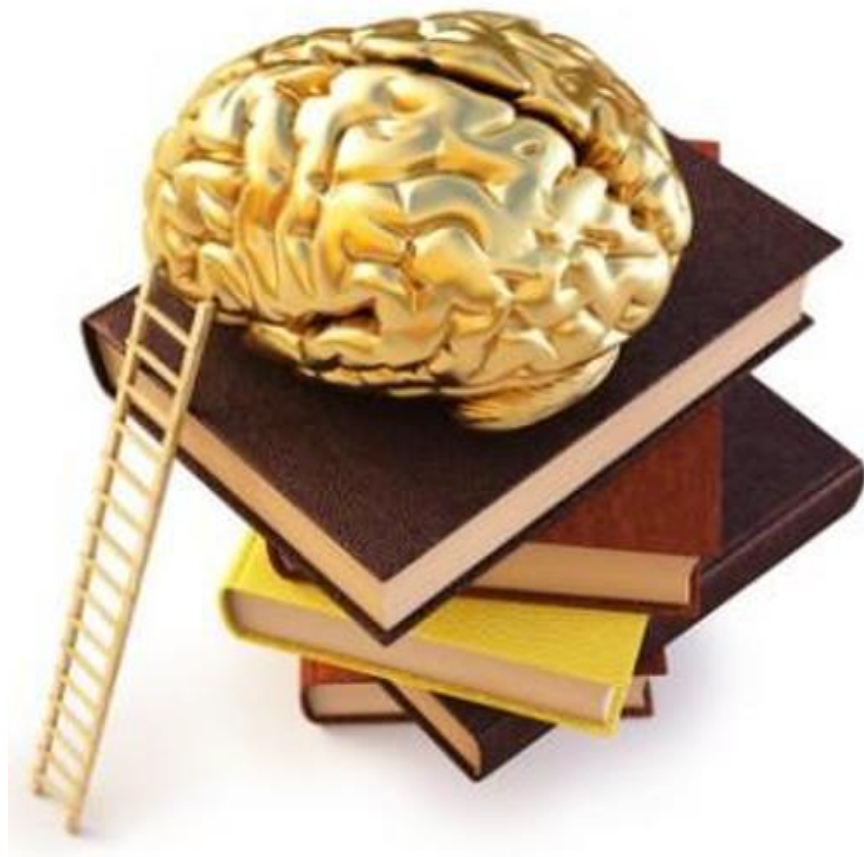
L'Algérie, de sa position géographique, présente une large gamme d'étages bioclimatiques, induisant une biodiversité de plantes utilisées comme condiments, aliments naturels et pour des buts thérapeutiques (**Emberger, 1971**). Elle possède une flore représentée par 4125 plantes vasculaires inventoriées, réparties en 123 familles botaniques (**Kaabèche, 2013**). Cette richesse fait que l'étude de la flore algérienne présente un énorme intérêt scientifique pour les chercheurs en ethnobotanique, pharmacopée ou dans le domaine de la valorisation des substances naturelles.

Notre travail s'inscrit dans ce contexte général, et a pour objectif d'étudier la composition phytochimique et la quantification des composés polyphénoliques des extraits de *Cytisus villosus* pourr, une plante de la famille des Fabacées nommée localement **alquassa** qui porte un intérêt thérapeutique dans la région d'Aflou wilaya de Laghouat. Cette espèce est répartie dans la région méditerranéenne, et elle est très répandue dans les frontières montagneuses entre Bejaia et Tizi Ouzou. Elle est utilisée en médecine traditionnelle algérienne pour traiter les douleurs abdominales, la cicatrisation des plaies et comme hémostatique et antifongique. En outre, les feuilles sont utilisées pour traiter et teindre les cheveux.

L'objectif de notre travail vise à :

- ✓ La préparation des extraits à partir des feuilles et des fleurs de *Cytisus villosus* pourr
- ✓ Analyses qualitatives des extraits.
- ✓ Affirmer la richesse de notre plante en polyphénols et en flavonoïdes.
- ✓ L'étude de l'activité antioxydante des extraits de la plante par le test de piégeage du radical DPPH et le test de pouvoir réducteur du fer (FRAP).

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE



Introduction

Les plantes produisent une gamme impressionnante de substances chimiques. La plupart de ces produits sont basés sur le carbone et connus sous le nom de métabolites primaires et secondaires. Les métabolites primaires sont communs pour toutes les espèces et peuvent être subdivisés aux protéines, lipides, glucides et acides nucléiques (**Sell, 2003**). Les métabolites secondaires sont des molécules ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante, ils sont nécessaires à sa défense contre les agressions extérieures. Ces composés marquent de manière originale, un genre, une famille ou une espèce de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique. On trouve ces métabolites secondaires dans toutes les parties des plantes, mais ils sont distribués différemment selon leurs rôles, cette distribution varie d'une plante à l'autre (**Epifano et al, 2007**).

I. Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des composés appartenant à des groupes chimiques extrêmement divers, tels que les acides organiques, les composés aromatiques, les terpènes, les stéroïdes, les alcaloïdes, les carbonyles, et les composés phénoliques etc... (**Kintzios S. E. et Barberaki M. G., 2004**). Leur fonction dans les plantes est habituellement liée à la régulation métabolique, la croissance, le processus de lignification, la coloration de certaines parties des plantes et la protection contre l'attaque des organismes pathogènes (**Bratt M., 2000**). Les métabolites secondaires sont classés essentiellement en trois grandes familles : les polyphénols ou bien les composés phénoliques, les terpènes et les **alcaloïdes** (**Lutge U. et al., 2002 ; Abderrazak M. et Joël R., 2007**).

I.1. Les polyphénols

Composés aromatiques possédant au moins 1 groupement phénol. Il en existe plusieurs sous-groupes : composés phénoliques, flavonoïdes, coumarines, tanins. Toute la classe des polyphénols est surtout utilisée dans les phytomédicaments pour traiter les troubles de la circulation veineuse. Les molécules sont souvent sous forme d'hétérosides (ce qui est très rarement le cas pour les alcaloïdes). Ces composés jouent un rôle important dans la croissance et la reproduction, offrant une protection contre les agents pathogènes (**Bravo.,1998**) en plus de contribuer vers la couleur et de caractéristiques sensorielles fruits et légumes. Le bénéficiaire effets dérivés de composés phénoliques a été attribué à leur activité antioxydante (**Boulanger et al., 1969 ; Balasundram et al., 2006**). Ces composés ont été signalés de posséder non seulement

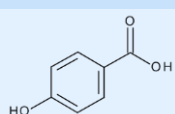
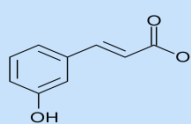
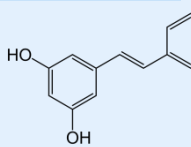
une activité antioxydante, mais aussi des propriétés antiviraux et antibactériens (**Kan y et al., 2007**).

I.1.1. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires qui constituent un des groupes le plus représenté et largement distribué dans le monde végétal avec plus de 8000 structures phénoliques. L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside (**Bruneton, 2015 ; Saponjac et al., 2016**).

En s'appuyant sur la structure carbonée de base, on peut dégager les principales classes de composés phénoliques (**Harborne.,1989**) présentées dans le (**tableau 1**) Les phénols simples Ceux sont les composés renfermant une ou plusieurs unités phénoliques. Les dérivés de l'acide benzoïque et ont une structure de base de type C6-C1 (**Ignat et al., 2011**). Ces acides hydroxy benzoïques sont très communs, aussi bien sous forme libre que sous forme d'esters ou d'hétérosides (**Bruneton., 2015**). Les dérivés de l'acide hydroxy cinnamique ils ont une structure de base de type C6-C3 (**Ignat et al., 2011**). Les fonctions phénols (OH) de ces dérivés peuvent aussi être méthylés (-O-CH₃). Les stilbènes ce sont les composés ayant comme structure de base 1,2-diphenylethylène (C6-C2-C6).

Tableau 1 : Principales classes de composés phénoliques

Squelette Carboné	Classe	Exemple	Formule	Origine
C6	Phénols simples	Hydroquinone		Busserole
C6-C1	Acides hydroxybenzoïques	Acide Phydroxybenzoïque		Epices, fraises
C6-C3	Acides Hydrox cinnamique	Acide Pcoumarique		Tomates, ail
C6-C2-C6	Stilbenoides	Trans resveratrol		Raisin

I.1.2. Les flavonoïdes

Le terme « flavonoïde » désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. La classe flavonoïdes est l'une des plus abondantes, et à ce jour, plus de 6500 structures naturelles ont été isolées et caractérisées, répartie en 12 squelettes de base. Ce groupe de composés est défini par une structure générale en C15 caractérisée par un enchaînement C6-C3-C6 ; les trois carbones servant de jonction entre les deux noyaux benzéniques notés A et B forment généralement un hétérocycle oxygéné C (**Figure1**) (**Jensen, 1992**).

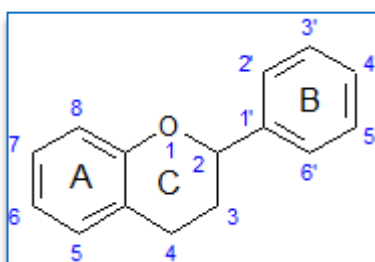


Figure1 : Structure de la base des flavonoïdes.

➤ Classification des flavonoïdes

Les flavonoïdes forment une sous classe des polyphénols ; ils représentent une source importante d'antioxydants dans notre alimentation .il y en a plus de 9000 à avoir été décrits chez le règne végétal où ils sont présents le plus souvent sous la forme soluble d'hétérosides (**Martens et al, 2005**), les plus importants sont les flavones, les isoflavones, les flavanones, les flavanols, les dihydroflavonols, les chalcones, les anthocyanes, et les aures (**Figure 2**).

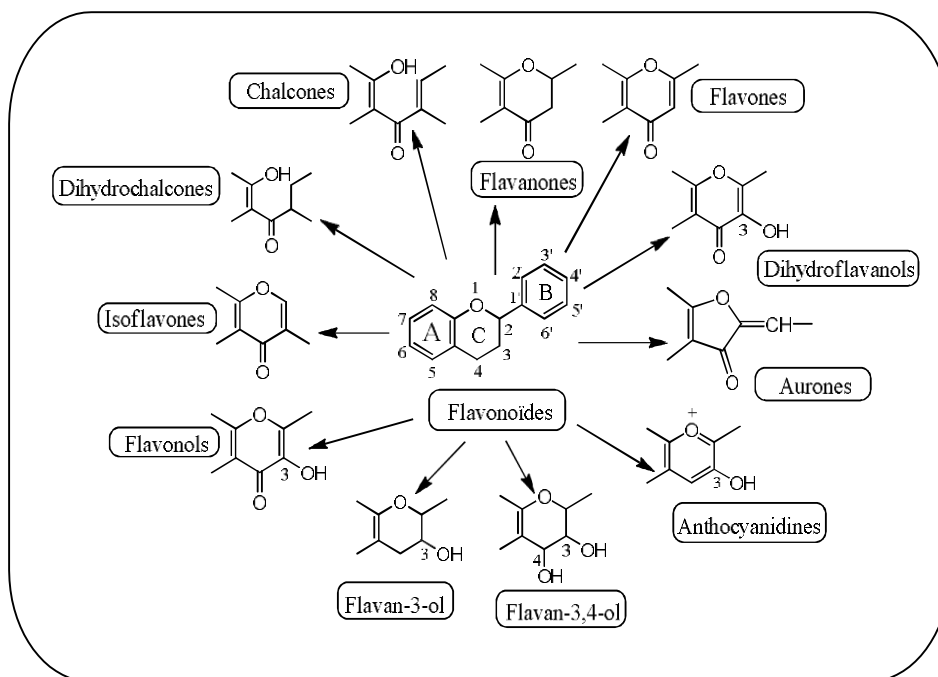


Figure 2 : Les différentes classes des flavonoïdes

I.1.3. Les tanins

Les tanins sont des composés phénoliques hydrosolubles, capables de précipiter les protéines (Enzymes digestifs et autres, protéines fongiques et viral) (**Benkiki, 2006**). De masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 Da, ils sont classés selon leur structure en tanins hydrolysables et en tanins condensés (**Ghesten et al., 2001**). Les tanins hydrolysables sont des esters d'acide phénolique, les tanins condensés plutôt sont des polymères de polyhydroxyflavan-3-ols (**Fogliani., 2002**).

➤ Les tanins hydrolysables ou galliques

Ce sont des esters de l'acide gallique ou de ses dérivés, en particulier l'acide ellagique, associés à un polyol (habituellement le glucose) (**Figure3**) (**Clifford., 2000**). Ils sont divisés en ellagitanins et en gallo tanins. Ces tanins subissent facilement une hydrolyse acide et basique, ils s'hydrolysent aussi sous l'action enzymatique (**Conrad et al., 1998**).

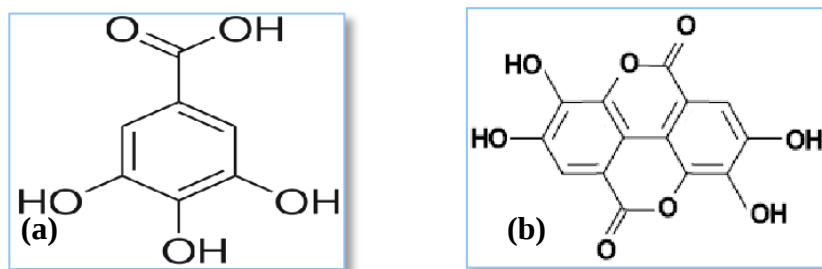


Figure 3 : Structure de l'acide gallique(a) et structure de l'acide ellagique(b)

➤ Les tanins condensés

Les tanins condensés sont des polyphénols de masse molaire élevée. Ils résultent de la polymérisation auto oxydative ou enzymatique des unités de flavan-3,4-diols liées majoritairement par les liaisons C4-C8 (parfois C4-C6) des unités adjacentes, et se nomment ainsi pro anthocyanidines de type B. Lorsque la condensation se produit entre les unités adjacentes par la liaison C4-C8 et par une liaison d'éther additionnelle entre C2 et C7, les pro anthocyanidines sont dits de type A (**Wollgast *et al.*, 2000**).

I.2. Le rôle et l'intérêt des composés phénoliques

Les polyphénols constituent les principes actifs de nombreuses plantes médicinales ; ils ont la capacité de moduler l'activité d'un grand nombre d'enzymes et de certains récepteurs cellulaires. Ces composés sont réputés aussi pour leur caractère antioxydant, neutralisant les radicaux libres et limitant ainsi certains dommages oxydatifs responsables de plusieurs maladies. En outre, un grand nombre de polyphénols sont reconnus pour leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antifongiques, antivirales et anticancéreuses. Plusieurs études ont été réalisées sur l'impact de la consommation de végétaux sur la santé. La plupart d'entre elles ont mis en évidence une baisse du facteur de risque pour de nombreuses affections telles que l'infarctus et le cancer (**Fiuza *et al*, 2004 ; Sumner *et al*, 2005**)

• Chez les plantes :

Les composés phénoliques peuvent intervenir dans certains nombres de fonctions telles que :

- La physiologie de la plante (lignification et contrôle de la croissance).
- Les interactions plantes-microorganismes (avec les bactéries, les champignons, les

insectes et la résistance aux rayons UV).

- La pigmentation des fleurs, des fruits et des graines. De ce fait, ils jouent un rôle important dans la pollinisation entomophile et la dispersion des graines.
- La fertilité des plantes et la germination du pollen (**Fleuriet et al, 2005**).
- **Chez les humains :**

Les composés phénoliques font partie d'un groupe de métabolites secondaires possédant nombreuses propriétés thérapeutiques. Ils sont exploités en phytothérapie à cause de leur rôle dans la protection contre certaines maladies (**Fleuriet et al, 2005**). On attribue aux flavonoïdes, spécifiquement, des propriétés variées telles que leurs actions anti-radicalaires et anti-oxydants.

II. L'activité antioxydante

II.1. Les radicaux libres

Une espèce chimique (atome, molécules ou fragment de molécule contenant au moins un électron célibataire ou non apparié sur sa couche électronique externe ce qui augmente sa réactivité par nécessité de se combiner avec un autre électron pour devenir stable (**Bonnerfont et al, 2003**).

Les radicaux libres proviennent à la fois de sources endogènes (mitochondrie, réticulum endoplasmique, cellules phagocytaires...) et de sources exogènes (pollution, alcool, fumée de tabac, solvants industriels, pesticides et rayonnement) (**Phaniendra et al., 2015**).

Lorsque ces radicaux livres sont produits plus rapidement ils ne peuvent être neutralisés par les systèmes de défense antioxydant ce qui permet le développement de stress oxydatif (**Picchi, 2006**).

II.2. Le stress oxydatif

C'est la perturbation de l'équilibre endogène entre radicaux libres et antioxydants de courte ou longue durée, provoque des effets délétères dus, soit à une défense antioxydante défaillante, soit à un état pro-oxydatif accru, nommé stress oxydant (**Biesalski H. K. et al., 1997**). Ce déséquilibre pro-oxydant/antioxydant peut avoir une origine exogène : molécules oxydantes, toxines telles que les métaux lourds toxiques ; ou une origine endogène : dysfonctionnements de certaines sources de production et systèmes d'élimination des ROS

(Figure 4) (Favier A., 2003 ; Servais S., 2004).

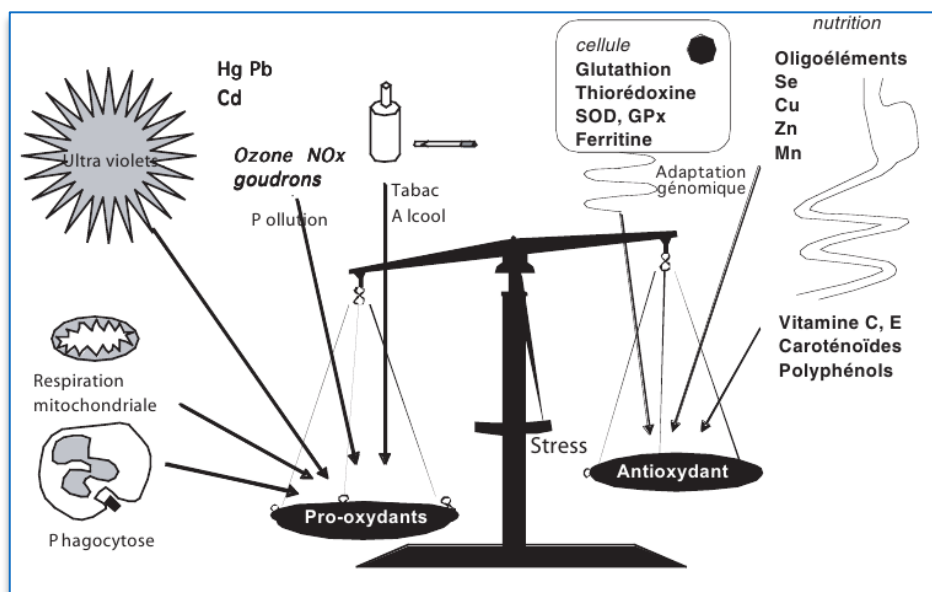


Figure4: La balance d'équilibre entre les systèmes pro-oxydants et les antioxydants

II.3. Les maladies liées au stress oxydatif

Le stress oxydatif engendre diverses altérations biochimiques intracellulaires telles que :

Oxydation de l'ADN, Oxydation des protéines, Oxydation des composés lipidiques, oxydation du glucose (**Loft et al., 2008**).

Le stress oxydant est principalement la cause initiale de plusieurs maladies : cancer, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré, le diabète, maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (**Favier, 2003**).

II.4. Les antioxydants

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques de ROS. L'organisme réagit donc de façon constante à cette production permanente de radicaux libres (**Favier, 2003**).

II.5. Le système de défense antioxydant

L'organisme possède un ensemble de systèmes de défenses antioxydants très efficaces afin de diminuer la concentration des espèces oxydantes dans l'organisme. Ce système est divisé

en deux grandes catégories.

II.5.1. Les antioxydants enzymatiques

- Superoxydes dismutases
- Catalase
- Glutathion peroxydase

II.5.2. Les antioxydants non enzymatiques

D'après **Pincemail et al (2002)**, parmi ces antioxydants on cite les oligoéléments, les vitamines : E (tocophérol), les caroténoïdes agissent en piégeant les radicaux et en neutralisant l'électron non apparié, les transformant ainsi en molécules stables. Aussi que les composés phénoliques issus des végétaux (**Kanoun, 2011**).

III. *Cytisus villosus pourr*

III.1. Description botanique de la plante

Cytisus villosus pourr appartient à la famille des Fabacées (Légumineuse), une famille de distribution cosmopolite, avec environ 730 genres et 19400 espèces, ce qui la met en troisième place après la famille des Astéracées et celle des Orchidacées par le nombre d'espèces (**Judd et al., 2007**). Cette grande richesse en espèces se reflète dans une grande diversité morphologique et chimique, d'où découlent de multiples utilisations (**Waterman et al., 1994**). *Cytisus* est un genre important et diversifié de plantes dicotylédones comprenant environ 50 espèces de plantes à fleurs de la famille des Fabacées, particulièrement abondantes autour de la mer Méditerranée, mais également se trouve dans des régions géographiques distinctes comme le nord et le sud de l'Afrique, l'Europe occidentale et centrale, la mer Noire et la Turquie (**Andriam-parany et al., 2014**). *Cytisus* est l'un des nombreux genres de la tribu Genisteae, communément appelés balais. Les balais sont des arbustes dressés de 4 à 5 pieds de hauteur avec des feuilles alternes. Les fleurs sont disposées en têtes et sont généralement jaunes ou blanches. *Cytisus villosus pourr* est un arbuste à tige dressée de 1-2 m, et s'étend à de nombreuses rameaux allongée. Les jeunes rameaux sont anguleux et couverts de longs poils blancs, d'apparence grisâtre. Les feuilles sont caduques, pétiolées et composées de trois folioles ovales arrondies ; densément hispides, soyeuses des deux côtés. La floraison a lieu en avril-mai. Les fleurs sont striées de jaune avec corolle papilionacée et pédonculées. Les fruits sont des gousses brunes (3-3,5cm), poilues et contiennent de 6-8 graines brunes (**Pereira et al., 2013**).



Figure 5: Photo de l'arbuste *Cytisus villosus* Pourr, ses feuilles et ses fleurs

III.2. Classification systématique

La classification taxonomique de *Cytisus villosus* Pourr. Dans le règne végétal (Auvra et al, 2013)

Tableau 2 : Classification systématique de *cytissus villosus* Pourr.

Règne :	Plantes
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Fabales
Famille	Fabaceae (Papilionaceae)
Sous-famille	Faboideae
Groupe	Genisteae
Genre	<i>Cytisus</i>
Espèce	<i>Cytisus villosus</i> Pourr. (Syn. <i>Cytisus triflorus</i> L'Hérit.)
Nom commun	Balai, Cytise à trois fleurs
Non français	Cytise velu
Nom Arabe	بوهاريس, جيكيو

III.3. Répartition géographique de *Cytisus villosus* Pourr

Cytisus villosus pousse fréquemment en Algérie, en France, en Italie, en Espagne, au Portugal et en Tunisie. Dans Algérie, elle est commune dans la région du Tell Algéroconstantinois (Quezel.1963) (Figure 6).

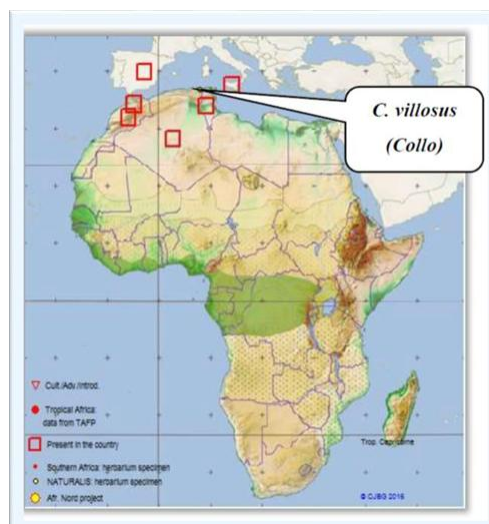


Figure 6 : Carte de répartition géographique du genre *Cytisus* (**Brum-Bousquet et al., 1977**)

III.4. Composition chimique du genre *Cytisus*

Le genre *Cytisus* contient des alcaloïdes de quinolizidine, des flavonoïdes, des phényléthylamines, des lectines et des monoterpènes. Les principaux composés isolés de ce genre comprennent les alcaloïdes spartéine, lupanine, isosparteine, ammoderien et dérivés apparentés (**Andriamparany et al., 2014**), la tyramine, l'épinine, la salsolidine et la phényléthylamine apparentée, la génistéine, la quercétine et leurs glycosides ainsi que les acides phénoliques : acide P-coumarique et l'acide caféique. Les graines contiennent des lectines et l'analyse de l'huile volatile donne de l'eugénol, du phénol, du crésol, de l'acide isovalérique, de l'acide benzoïque et de l'alcool benzylique, ainsi que du cis-3hexén-1-ol et du 1-octène-3-ol.

III.5. Utilisation du genre *Cytisus* en médecine traditionnelle

Le cytise fit l'objet de quelques recherches en tant que plante médicinale, et il fut découvert récemment que son feuillage était bien plus efficace que d'autres plantes, il réussit à traiter les plaies et les brûlures, en ne laissant pratiquement aucune cicatrice et même celles du troisième degré. Les feuilles et les graines étaient préconisées contre les troubles psychonévrotiques pour stopper les migraines et en traitement des maladies du foie. En usage externe, le jus extrait de ces feuilles soignait les blessures et les plaies. En cosmétologie ; les femmes utilisent cette plante pour faire leur sourcil. Il est utilisé en médecine traditionnelle comme diurétique et dans le traitement de l'hypertension légère.

Une décoction de ses feuilles est utilisée pour traiter les affections thoraciques (**Hanganu et al., 2010**). Plusieurs espèces du genre *Cytisus* utilisées en médecine traditionnelle présentent des activités antioxydantes, cytoprotectrices, diurétiques, hypnotiques, anxiolytiques, sédatives,

hépatoprotectrices, antispasmodiques, hypotensives, antiparasitaires, antidiabétiques et oestrogéniques (Sundararajan et al., 2006 ; Di Giorgio et al., 2008 ; Nirmal et al., 2008 ; Barros et al., 2012 ; González et al., 2013 ; Jalili et al., 2013). En outre, l'espèce *C. multiflorus* a été utilisée comme médicament ethnopharmacologique pendant des siècles principalement en raison de ses propriétés diurétiques, anti-inflammatoires, antihypertenseurs et antidiabétiques (Gião et al., 2007).

La cytisine, un alcaloïde extraire pour la première fois à partir des graines de *Cytisus laburnum* était utilisée en Europe centrale et orientale pour aider les gens à cesser de fumer pouvant exercer un effet antidépresseur (Mineur et al., 2007). *Cytisus scoparius* est l'espèce la plus connue dans la médecine traditionnelle chinoise.

Elle est utilisée pour revigorer le cœur et le foie, bien connue comme tonique cardiaque et diurétique stimulant, utile pour traiter l'insuffisance et l'œdème cardiaques (Sundararajan et Koduru., 2014). *Cytisus multiflorus* (balai espagnol) était utilisée dans la médecine traditionnelle ayant divers effets bénéfiques sur la santé, notamment des propriétés anti-inflammatoires (Nedelcheva et al., 2007). *Cytisus villosus* (plante sous enquête) a été utilisée par les populations rurales comme remède efficace contre les plaies (Ait KaciAourahoun et al., 2015).

III.6. Importance économique du genre *Cytisus*

Les familles fabacées sont des plantes les plus importantes sur le plan économique, Plusieurs membres des Fabacées ont été utilisés comme sources de bois (Duke, 2012 ; Wiersema et Leon, 2016). Dans le terme socioéconomique, leur importance pour la santé et l'alimentation humaine est mise en évidence, ils fournissent également des ressources en bois et des colorants, des résines, des insecticides, des fibres, du fourrage, etc. (Andriamparany et al., 2014 ; Bennett, 2010). La valeur nutritive des Fabacées est en grande partie en raison de leur capacité à fixer l'azote atmosphérique pour la synthèse des protéines (Dias, 2012). Les Différentes espèces de *Cytisus* sont largement utilisées comme plantes ornementales, ainsi que pour la nutrition animale. D'autres applications de cette plante incluent la collecte de leur pollen à des fins apicoles et la fertilisation des terres en agriculture (García Ciudad et al., 2004 ; Rodríguez-Riaño et al., 2004 ; Rodríguez-Riaño et al., 2006 ; Rodríguez Riaño et al., 1999).

PARTIE EXPERIMENTALE



I. Etude phytochimique

I.1. Matériel végétal

Notre travail a porté sur la partie aérienne d'une plante de sud Algérien. Il s'agit de *Cytisus villosus* pourr récoltée dans la région d'Aflou wilaya de Laghouat, au mois de Mai 2019.

L'identification botanique de l'espèce a été réalisée au niveau du laboratoire de Biologie Végétale, Université de Laghouat, par le **Pr. KOUIDRI Mohammed**.

I.1.1. Séparation, broyage et tamisage

Les parties récoltées ont été séparées (feuilles ; fleurs) et par la suite broyées à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre très fine, puis tamisées par un tamiseur, la poudre obtenue a été conservée dans des sacs en papier et stockée à l'abri de la lumière et de l'humidité jusqu'à l'utilisation (**figure 7**).



Figure 7 : Les parties récoltées de *cytissus villosus* pourr (feuilles / fleurs)

I.1.2. Extraction et préparation des extraits

➤ Principe :

L'extraction est une étape très importante avant l'analyse quantitative et qualitative proprement dite. Le solvant utilisé, le pH et la température, jouent également un rôle important dans cette procédure (Muanda, 2010).

Dans la présente étude, la méthode utilisée est celle de l'extraction par macération, en utilisant l'éthanol comme un solvant afin d'obtenir des extraits enrichis en molécules d'intérêt (composés phénoliques).

➤ Mode opératoire

L'extraction a été effectuée par macération de 5 g de la poudre du matériel végétal de chaque partie : Feuilles et fleurs dans 50ml de l'éthanol sous agitation magnétique et à une température ambiante. Cette macération est répétée 2 fois avec renouvellement du solvant toutes les 24 heures. Les extraits filtrés sont regroupés et évaporés à l'aide d'un évaporateur rotatif sous pression réduite à 40C°. Les résidus phénoliques sont repris dans 15 ml d'éthanol et conserver au réfrigérateur jusqu'à le temps d'analyse. L'organigramme suivant explique les différentes étapes d'extraction des composés phénoliques (Schéma 1).

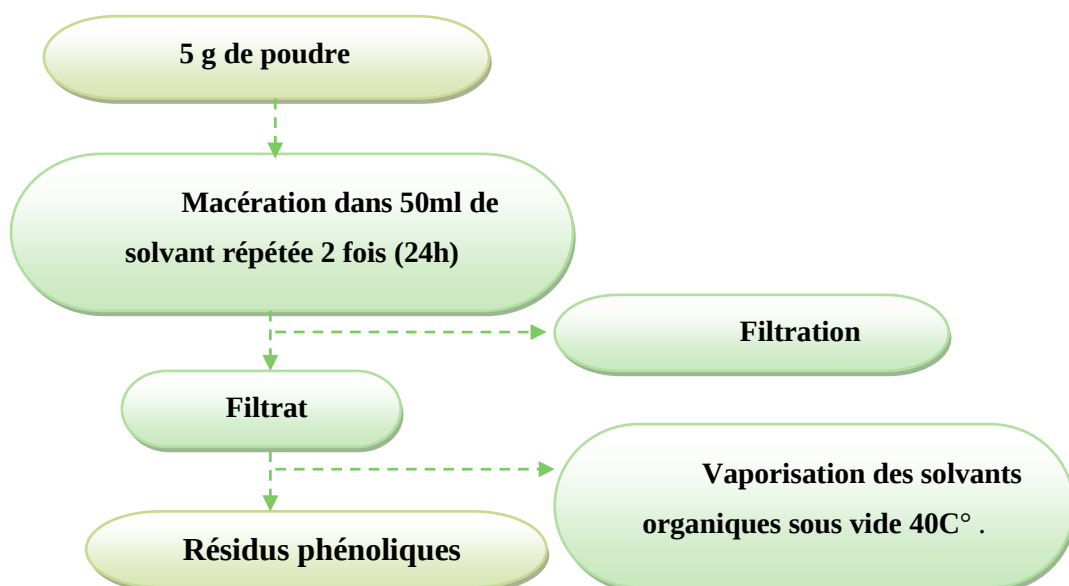


Schéma 1 : Protocole expérimentale d'extraction des extraits phénoliques.

I.2. Analyses qualitatives et quantitatives des extraits de plante

➤ Rendements des extraits végétaux

Les rendements des extraits sont estimés par le rapport des masses des extraits obtenus et de la matière végétale sèche. Il est exprimé en pourcentage (%).

$$\text{Rdt} = [(\text{ME}) / (\text{MVS})] * 100$$

Où :

ME : Masse des extraits (g) ;

MVS : Masse de la matière végétale sèche (g).

I.2.1. Analyses qualitatives

Les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles de composés existant dans un extrait de la plante, pour mettre en évidence leur présence ou absence. Ces tests sont basés sur des réactions de coloration et/ou de précipitation ainsi qu'à des examens en lumière ultraviolette.

Nous avons caractérisé la présence des métabolites secondaires (saponosides, alcaloïdes, flavonoïdes, Anthocyanes, tanins et coumarines) en se référant aux techniques décrites par **Bruneton (1999)**, (**Karumi et al., 2004**) et **Oloyede (2005)**.

- **Flavonoïdes**

On ajoute 1 ml de l'extrait dilué à 1 ml de solution AlCl_3 (2%). Et l'ensemble est porté à température ambiante pendant 15 minutes. Un test positif est indiqué par l'apparition d'une couleur jaune.

- **Anthocyanes**

Dans un tube on met 1ml de l'extrait dilué on ajoute 1ml de H_2SO_4 et 1ml NH_4OH . Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleu violacé.

- **Tanins**

Dans un tube on met 1ml de l'extrait dilué, on ajoute 2 à 3 gouttes de la solution de FeCl_3 à 1%. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleu-noire (tanins galliques) ou bleu verdâtre (Tanins catéchiques).

- **Alcaloïdes**

Réactif de Wagner : est préparé comme suite : dans 75 ml d'eau distillée, dissoudre 2g de KI et 1.27g de I_2 le volume obtenu est ajusté à 100 ml avec l'eau distillée.

La présence des alcaloïdes est déterminée quantitativement par : un volume de 2.5 ml d'extrait dilué est ajouté à 1 ml de HCl (10%) (Solution A), et on met la solution A dans un bain marie jusqu'à ébullition. On sépare ce mélange en 2 tubes, le 1er tube constitue le témoin qui contient 1ml de la solution A, le 2ème tube contient 1ml de la solution A et quelques gouttes du réactif de Wagner. Si le test est positif, on a l'apparition d'une précipitation brune dans le 2ème tube.

- **Saponosides**

Leur présence est déterminée qualitativement par : 10 ml d'extrait dilué bien agité pendant 15s. Après un repos de 15 min en position verticale, on mesure la hauteur de la mousse persistante en cm.

- **Coumarines**

Un volume de 5 ml d'extrait dilué est évaporé au bain marie. Au résidu sec, on ajoute 2 ml d'eau chaude. La solution obtenue est divisée en deux parties égales dont :

La première représente un témoin ; Alors que la deuxième est traitée avec 0.5 ml d'ammoniaque (NH_4OH) à 10% L'examen est réalisé sous la lumière ultraviolette et l'apparition d'une fluorescence intense révèle la présence de coumarines.

I.2.2. Analyses quantitatives

➤ Dosage des polyphénols totaux (PPT)

❖ Principe

Le principe de cette méthode est basé sur la réduction du réactif Folin (un acide de couleur jaune, constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$) par des composés phénoliques en milieu neutre (grâce à

l'ajout du carbonate de sodium), ceci entraîne la formation d'un mélange de tungstène et de molybdène de couleur bleue, dont l'absorption maximale à 765 nm est proportionnelle aux taux de polyphénols présents dans l'extrait (**Enneb H. et al., 2015**).

La quantification des polyphénols totaux a été faite à l'aide d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y = ax + b$), réalisée dans les mêmes conditions que celles de l'échantillon, en utilisant l'acide gallique comme standard (**figure 8**).

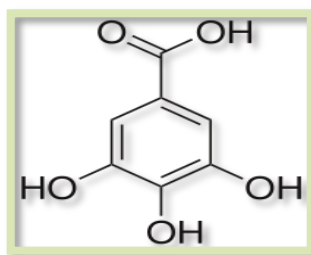


Figure 8 : Structure de l'acide gallique.

❖ Mode opératoire

Un volume de 200 µl d'extrait dilué été mélangés avec 1000 µl de réactif de Folin Ciocalteu (10%) dilué dans l'eau, après agitation pendant 5 min, 800 µl de carbonate de sodium (7.5%) est ajouté à l'ensemble. Les échantillons ont été incubés à température ambiante pendant 30 minutes. L'absorbance de chaque échantillon a été mesurée à 765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (SP-3000nano UV). Une solution éthanolique d'acide gallique a été testée en parallèle pour obtenir une courbe d'étalonnage.

La teneur en composés phénoliques des échantillons analysés est calculée par la formule suivante :

$$\text{TCP} = \text{C.V/m}$$

C : Concentration de l'extrait

V : Volume de solvant utilisé pour l'extraction

m : Masse en grammes de la prise d'essai

❖ Courbe d'étalonnage

L'acide gallique a été utilisé comme standard et la teneur en PPT est exprimée en milligramme d'équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g extrait).

La courbe d'étalonnage est effectuée par l'acide gallique à différentes concentrations, elle montre une proportionnalité de l'absorbance en fonction des concentrations (**Figure 9**).

La teneur en polyphénols a été calculée à partir d'une courbe d'étalonnage ($y = 9.501x + 0.041$) et $R^2 = 0.996$ et réalisée par l'acide gallique à différentes concentrations (0.01-0.09mg/ml).

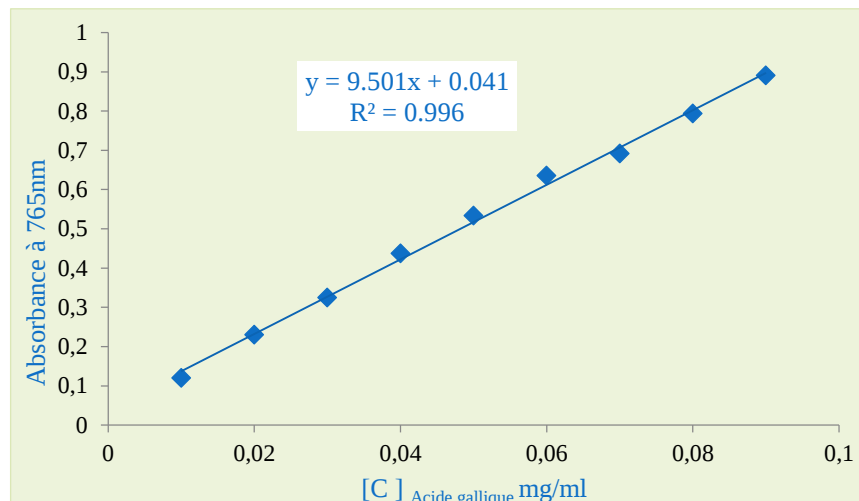


Figure 9: Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

➤ Dosage des flavonoïdes totaux (FVT)

❖ Principe

Le dosage des flavonoïdes est effectué par la méthode de trichlorure d'Aluminium (AlCl_3). En effet, les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement CO, un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium. Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (fer et aluminium). Ceci traduit le fait que le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons (**RibéreauGayon P., 1968**).

❖ Mode opératoire

Une prise de 1ml d'extrait ou standard est additionnée à 1 ml d'une solution fraîchement préparée d' AlCl_3 (3.6% dans l'eau distillée). Après 30 min de réaction, l'absorbance est lue au spectrophotomètre (SP-3000 nano UV) à 430 nm. La concentration des flavonoïdes est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la rutine (**Figure 10**).

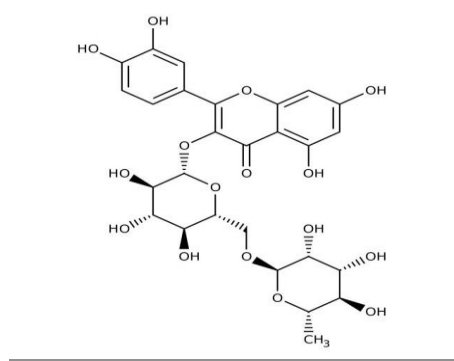


Figure 10 : Structure de la rutine

❖ Courbe d'étalonnage

A partir d'une solution mère de la rutine de 0.1 mg/ml, une série de solutions filles est ainsi préparée, de concentrations allant de 0.01 à 0.09 mg/ml. La courbe d'étalonnage de la rutine est représentée dans la figure ci-dessous :

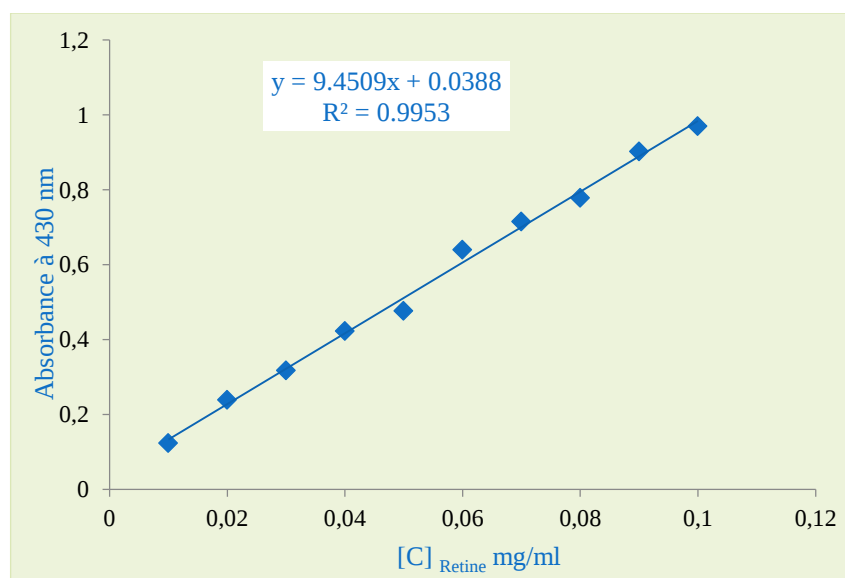


Figure 11 : Courbe d'étalonnage de la rutine pour le dosage des flavonoïdes totaux

➤ Dosage des flavonols totaux

❖ Principe

La méthode du trichlorure d'aluminium AlCl_3 (Kosalec et al., 2004) est utilisée pour déterminer les teneurs en flavonols.

❖ Mode opératoire

Un volume de 500µl d'extrait est ajouté à 500 µl d'acétate de sodium (5%) et 750µl de chlorure d'aluminium (2%). La lecture de l'absorbance est faite à 440 nm après 2 heures et 30min d'incubation à l'aide d'un spectrophotomètre (SP-3000 nano UV).

Une courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la rutine comme contrôle positif à différentes concentrations. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent de rutine par gramme (mg ER/g).

❖ Courbe d'étalonnage

La rutine a été utilisée comme étalon à différentes concentrations. La teneur en flavonols est exprimée en milligramme d'équivalent de rutine par gramme d'extrait (mg ER/g extrait). La teneur en flavonols a été calculée à partir d'une courbe d'étalonnage ($y = 9.4367x + 0.0396$) et $R^2 = 0.993$ et réalisée par la rutine à différentes concentrations (0.01-0.09mg/ml) (**Figure 12**).

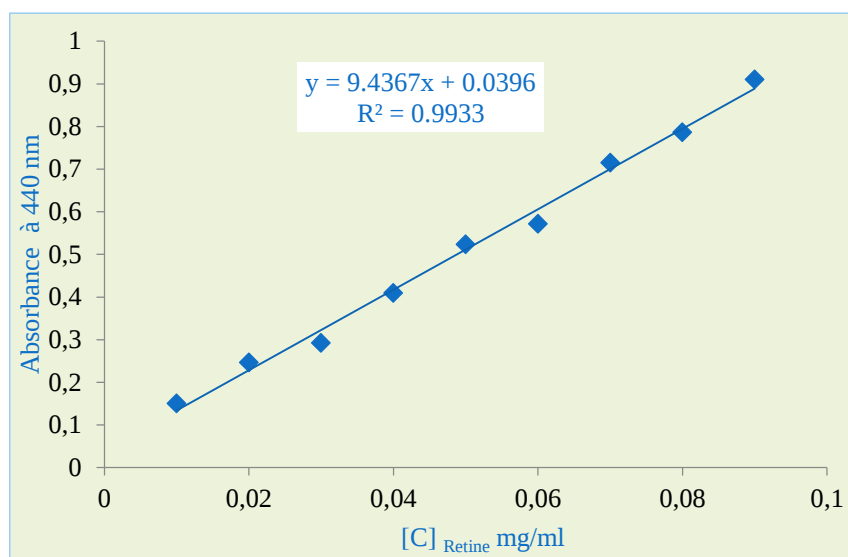


Figure 12 : Courbe d'étalonnage de la rutine pour le dosage des flavonols totaux

II. Etude de l'activité antioxydante des extraits étudiés

II.1. Le potentiel antioxydant

Plusieurs tests sont utilisés pour évaluer les activités antioxydantes des extraits. La plupart de ces tests sont basés sur la coloration ou la décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel. Notre étude est basée sur deux tests : le piégeage des différents radicaux, le 2,2-

diphényl-1-picryl-hydrazyl (DPPH), pouvoir réducteur des ions ferriques (FRAP) , ces tests témoignent l'aptitude d'une molécule ou d'un extrait naturel à neutraliser les radicaux libres par transfert d'électron et/ou de proton issus de phénomènes d'oxydations (**Prior et al., 2005**).

Le pourcentage d'inhibition (PI) de l'activité anti-radicalaire est calculé selon l'équation suivante :

$$PI\% = [(Abs_C - Abs_E) / Abs_C] \times 100$$

Abs_C : Absorbance du contrôle négatif.

Abs_E : Absorbance de l'échantillon testé.

Les résultats sont exprimés par la moyenne de trois mesures. L'étude de la variation de l'activité antioxydante en fonction de la concentration des fractions permet de déterminer la concentration qui correspond à 50% d'inhibition (IC50). Une faible valeur de IC50 correspondant à une grande efficacité de l'extrait (**Perron et al ; 2009**).

II.1.1. Test de piégeage du radical DPPH :

❖ Principe :

La réduction de radical libre DPPH• (2,2'-diphényle-1-picrylhydrazyl) par un antioxydant peut être suivie par spectrométrie UV-Visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par les antioxydants (**Molyneux et al., 2014**).

En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH de couleur violette se réduit en 2,2-Diphényle 1 picryl hydrazine de couleur jaune (**Figure 13**) (**Maataoui et al., 2006**).

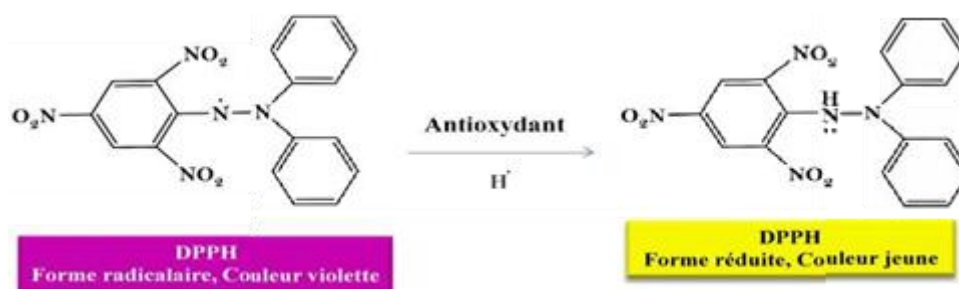


Figure 13 : Mécanisme réactionnel d'un antioxydant avec le DPPH•

La réduction du DPPH• en DPPH-H induit une perte de sa couleur pourpre qui peut être suivie à 517 nm. En présence de composés anti-radicalaires, le radical DPPH• est réduit et change de couleur en virant au jaune, ce qui entraîne une diminution de son absorbance. La décoloration de DPPH• est représentative de la capacité des composés phénoliques à piéger ces radicaux libres indépendamment de toutes activités enzymatiques.

❖ Mode opératoire

L'activité du piégeage du radical DPPH a été mesurée selon le protocole décrit par **lopes-Lutz et al (2008)**.

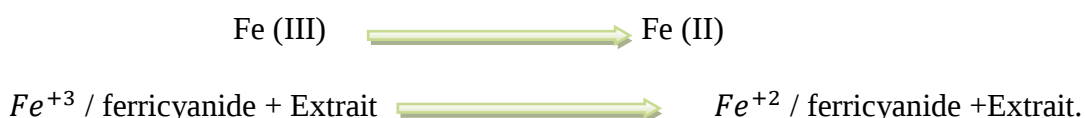
Un volume de 50µl de chaque solution de fraction à différentes concentrations sont ajoutés à 1950 µl de solution éthanoïque du DPPH. Parallèlement, un témoin négatif est préparé en mélangeant 50 µl d'éthanol avec 1950 µl de la solution de DPPH. La lecture d'absorbances est faite contre un blanc pour chaque concentration à 517 nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard (acide ascorbique) dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration.

II.1.2. Test de pouvoir réducteur du fer (FRAP)

❖ Principe

Le test de la réduction du fer est considéré comme un test direct et rapide est utilisé pour mesurer le pouvoir des antioxydants non enzymatiques. Le test de FRAP (**Ferric Reducing Antioxydant Power**) est effectué selon la méthode décrite par Oyaizu (**Oyaizu et al., 1986**). Cette méthode est basée sur la réaction de réduction du Fe^{3+} présent dans le complexe ferrocyanure de potassium en Fe^{2+} , la réaction est révélée par le virage de couleur jaune du fer ferrique (Fe^{3+}) en couleur bleu vert du fer ferreux (Fe^{2+}), l'intensité de cette coloration est mesurée par spectrophotométrie à 700 nm. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (**Doukani K et al., 2014**).

Le principe de ce test est basé sur la réaction chimique suivante :



❖ Mode opératoire

Le pouvoir réducteur a été déterminé suivant la méthode préconisée par **Oyaizu**. Un volume de 25 µl de différentes concentrations de chaque fraction diluée dans l'éthanol est mélangé avec 500 µl de la solution tampon (pH 6.28) et 500 µl de ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ à 1%. Les mélanges sont incubés à 50°C pendant 20 min. après, un volume de 500µl de l'acide trichloracétique (10%) est additionné avec 100µl $FeCl_3$ (0,1%). L'absorbance est mesurée à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif dans cette expérience dans les mêmes conditions opératoires.

III. Résultats et discussions

III.1. Résultats des rendements des extraits phénoliques

La technique d'extraction qu'on a utilisée permis d'obtenir des rendements de deux extraits différents (feuilles et fleurs) sont présentés dans le **tableau 3**.

Tableau 3: Les rendements des extraits phénoliques.

Extraits	Feuilles	Fleurs
Rendements	43.3 %	8.0 %

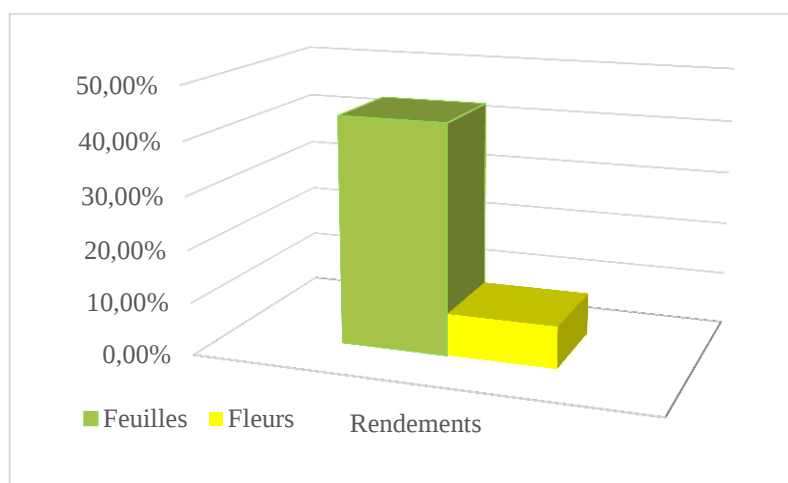


Figure 14 : Rendements des extraits phénoliques de la plante étudiée

D'après les résultats obtenus, nous avons constaté que l'extrait des feuilles de *Cytisus villosus pourr* a donné un rendement plus élevé (43.3%) par rapport à celle de l'extrait des fleurs (8%). Donc le meilleur rendement est obtenu par les feuilles.

D'une manière générale le rendement d'extraction varie en fonction de l'espèce végétale, l'organe utilisé dans l'extraction, la richesse de chaque espèce en métabolites, aussi qu'il varie selon des facteurs environnementaux, des conditions et la durée de stockage, la période de récolte et la méthode d'extraction appliquée ; En outre il dépend de type du solvant utilisé

III.2. Résultats des analyses qualitatives

L'analyse phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence de métabolites secondaires au niveau des tissus végétaux de notre plante. La détection de ces composés chimiques est basée sur des essais de solubilités des constituants, des réactions de précipitation et de turbidité, un changement de couleur spécifique ou un examen sous la lumière ultraviolette. Le **Tableau 4** présente les analyses qualitatives réalisées sur les différents extraits (feuilles et fleurs).

Tableau 4 : Les tests phytochimiques des différents extraits de la plante étudiée (feuilles et fleurs).

Extraits	Feuilles	Fleurs
Flavonoïdes	+	+
Anthocyanes	-	-
Tanins	+	+
Alcaloïdes	-	+
Saponosides	+	+
Coumarines	+	+

Les tests photochimiques, réalisées sur les deux extraits, ont rapporté la présence des flavonoïdes, tanins galliques, saponosides et coumarines dans l'extrait des feuilles, mais ils n'ont pas décelé la présence des alcaloïdes et anthocyanines

De notre côté, ont rapporté la présence des flavonoïdes, tanins galliques, alcaloïdes, saponosides et coumarines dans l'extrait des fleurs, mais ils n'ont pas décelé la présence des anthocyanines.

Les travaux concernant les tests photochimiques de même espèce étudiée ont été réalisés (ils utilisaient tous les organes aériens de la plante).

Le travail de **Larit et al (2016)** sur la même espèce *C.villosus* obtenu en d'autres sites (Constantine-Algérie) est constaté la présence des tanins, des flavonoïdes, des Alcaloïdes, des stéroïdes et des terpénoïdes avec l'absence des saponosides et des anthocyanes.

Un autre travail de **Khadri (2019)** concernant les tests phytochimiques montre que le *Cytisus triflorus* récoltée du Nord-est de l'Algérie est riche et variée en métabolites secondaires où les flavonoïdes, les tanins et les alcaloïdes sont présents en quantités importantes alors que les

saponosides, les stérols et triterpènes existent en faibles quantités avec l'absence de composés réducteurs et des anthocyanes.

De nombreux exemples issus des travaux scientifiques tirés de la bibliographie étayent notre étude. Il s'agit essentiellement :

Les flavonoïdes jouent un rôle dans la coloration des végétaux (**Ribéreaugayon et Reynaud., 1968**), aussi ils possèdent des rôles très importants dans les plantes, en les protégeant contre le stress hydrique et génèrent une tolérance des plantes aux métaux lourds présents dans les sols, aussi les flavonoïdes sont des antioxydants par excellence reconnus (**D'abroscaet al., 2007**). Outre leur pouvoir antioxydant, ils sont antitumoraux, antiallergiques, anti-inflammatoires, hypotenseurs et protègent du cancer et de la cataracte (**Bruneton et al., 2007**).

En parallèle, la présence des tanins donne un goût amer à l'écorce ou aux feuilles et les rendent impropres à la consommation pour les insectes ou le bétail (**Eberhard et al. 2005**). En outre les tanins ont un effet antiseptique, antibactérien et antifongique (**Bruneton, 2009**).

Les saponosides possèdent des propriétés anti-inflammatoires et antioédémateuses, ils sont particulièrement toxiques pour les poissons et autres animaux aquatiques (**Bouhadjera, 2005**). Aussi ces molécules ont des propriétés analgésiques (**Roux et Catier, 2007**). Et parfois ils sont actifs in vitro, sur des virus (**Bruneton, 2009**).

Les alcaloïdes forment un groupe important de substances naturelles d'intérêt thérapeutique par leur diversité structurale et l'éventail de leurs activités pharmacologiques. Ce sont des substances azotées qui dans certains cas, peuvent être toxiques, faisant que la plante doit être manipulée avec prudence (**Bruneton, 1999**). Ainsi les alcaloïdes peuvent expliquer des activités biologiques diverses (**Milcent et Chau, 2003**). Ils jouent, à faibles doses, le rôle d'anesthésiques locaux, d'analgésiques, d'antibiotiques, d'antiparasitaires, d'antipaludiques, d'antitumoraux et d'amoebicides (**Chenni, 2010**).

Les coumarines et des furocoumarines résident dans la défense de la plante contre les attaques par des pathogènes ; on les qualifie de phytoalexines (**Beier et Oertli, 1983**).

III.3. Résultats des analyses quantitatives

❖ Teneur en polyphénols totaux

Les différents extraits bruts, ont été analysés quantitativement par spectrophotomètre UV-visible pour leur contenu en polyphénols (**Tableau 5**) et (**Figure 15**).

Tableau 5 : Teneurs en polyphénols totaux des extraits phénoliques de la plante étudiée.

Les extraits	Mg EAG/g extrait
Feuilles	3241.8± 91.8
Fleurs	701 ± 49.3

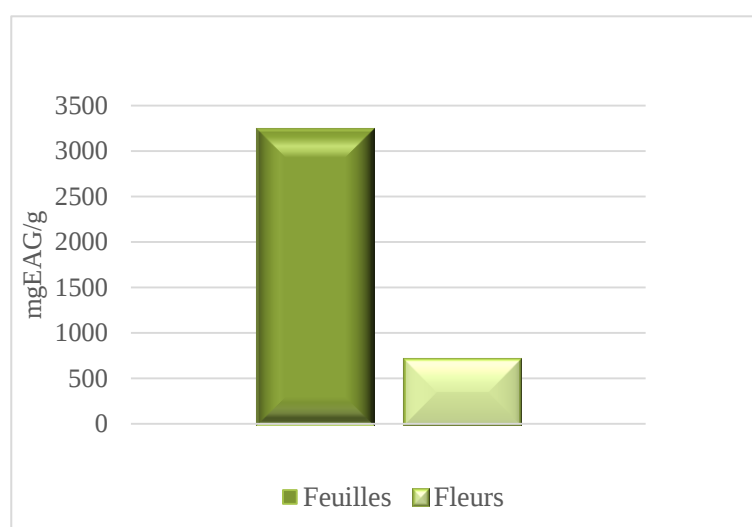


Figure 15 : Teneurs en polyphénols totaux des extraits phénoliques de la plante étudiée

Les résultats de dosage des polyphénols totaux (PPT) des différents extraits de *C. villosus* montrent que l'extrait des feuilles présente la teneur la plus élevée (3241.8 ± 91.8 mg EAG/g extrait) par rapport à l'extrait des fleurs (701 ± 49.3 mg EAG/g extrait).

Aucun résultat de dosage des polyphénols sur les fleurs de *C.villosus* n'a été rapporté par d'autres auteurs pour pouvoir comparer nos résultats mais peu de travaux concernant les teneurs en composés phénoliques de même espèce étudiée ont été réalisés (ils utilisaient tous les organes aériens de la plante).

Un travail de même famille avec un autre espèce du genre *Cytisus* ; c'est le cas de *Cytisus scoparius* dont la teneur en polyphénols de l'extrait éthanolique était de 225.32 mg EAG/g (**González et al., 2013**).

La méthode d'extraction et la méthode de quantification peuvent également influencer l'estimation de la teneur des phénols totaux (**Lee et al., 2004**). Plusieurs facteurs peuvent influencer la teneur en composés phénoliques, tels que : des facteurs géographiques et climatiques, les facteurs génétiques, ainsi que le degré de maturation de la plante et la durée de stockage ont une forte influence sur le contenu en polyphénols (**Aganga et al. 2001**). Ainsi l'état physiologique de la plante au moment de la récolte, en effet la composition chimique d'une drogue varie avec son cycle végétatif, ces variations peuvent être qualitatives : apparition d'un principe actif et disparition d'un autre, et/ou quantitatives : la teneur en principes actifs peut passer par un maximum et décroître ensuite rapidement, donc le choix de la période de récolte est très important (**Khadri, 2019**).

D'autre part, le réactif de Folin-Ciocalteu est extrêmement sensible à la réduction de tous les groupes d'hydroxyles non seulement celles des composés phénoliques, mais également de certains sucres et de protéines etc. (**Vuorela, 2005 ; Gomez-Caravaca et al., 2006**). Le solvant d'extraction élu des substances non phénoliques comme les sucres, les protéines et les colorants qui peuvent interférer pendant toute évaluation phénolique (**Djeridane et al., 2006**), donc le dosage par ce réactif donne une évaluation brute de tous les composés phénoliques d'un extrait. Il n'est pas spécifique aux polyphénols, mais beaucoup de composés peuvent réagir avec le réactif, donnant un taux phénolique apparent élevé (**Tawaha et al., 2007**). La faible spécificité du réactif de Folin-Ciocalteu est l'inconvénient principal du dosage colorimétrique.

❖ Teneur en flavonoïdes totaux

La teneur en flavonoïdes totaux (FVT) des extraits a été déterminée selon la méthode du trichlorure d'aluminium (**Tableau 6**) et (**Figure 16**).

Tableau 6 : Teneurs en flavonoïdes totaux des extraits phénoliques de la plante étudiée

Les extraits	mg ER/g extrait
Feuilles	781.31 ± 34.8
Fleurs	292.06 ± 34.92

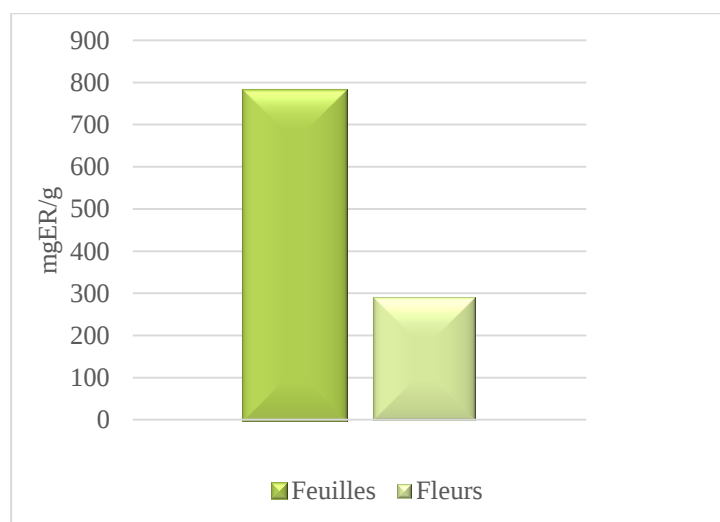


Figure 16 : Teneurs en flavonoïdes totaux des extraits phénoliques de la plante étudiée

Les résultats de dosage des flavonoïdes totaux des différents extraits de *C. villosus* montrent que l'extrait des feuilles présente la teneur la plus élevée (781.31 ± 34.8 mg ER/g extrait) par rapport l'extrait des fleurs (292.06 ± 34.92 mg ER/g extrait).

Aucun résultat de dosage des flavonoïdes sur les fleurs de *C.villosus* n'a été rapporté par d'autres auteurs pour pouvoir comparer nos résultats mais peu de travaux concernant les teneurs en composés phénoliques de même espèce étudiée ont été réalisés (ils utilisaient tous les organes aériens de la plante).

L'étude effectuée par **Ait-Kaci et al. (2015)** a révélé que la teneur en flavonoïdes pour l'extrait hydroéhanolique de *C.villosus* (la partie aérienne) est égale à (52.13 ± 1.69 mg EQ/g d'extrait.)

Les flavonoïdes sont reconnus comme des substances potentiellement antioxydantes (**Popovici et al., 2010**). L'effet scavenger des flavonoïdes est attribué à leur faible potentiel redox qui les rend thermodynamiquement capables de réduire les radicaux libres par un transfert d'atome d'hydrogène à partir des groupements hydroxyle (**Siddhuraju et Becker, 2007 ; Ghedadba et al., 2015**).

❖ Teneurs en flavonols

La teneur en flavonols totaux des extraits a été déterminée selon la méthode du trichlorure d'aluminium (**Tableau 7**) et (**Figure17**).

Tableau 7 : Teneurs en flavonols totaux des extraits phénoliques de la plante étudiée.

Les extraits	mg ER/g extrait
Feuilles	441.92 ± 10.76
Fleurs	97.60 ± 0.73

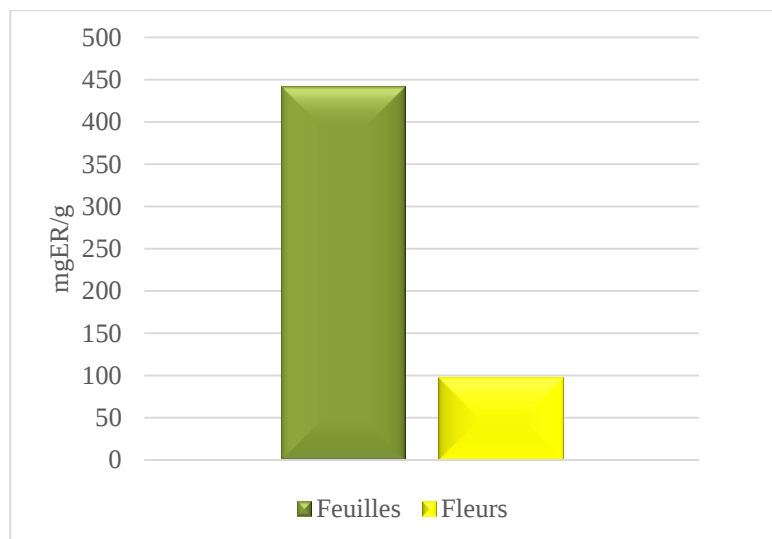


Figure 17 : Teneurs en flavonols totaux des extraits phénoliques de la plante étudiée

Les résultats de dosage des flavonols totaux des différents extraits de *C. villosus* montrent que l'extrait des feuilles présente la teneur la plus élevée (441.92 ± 10.76 mg ER/g extrait) et la teneur très faible de l'extrait des fleurs (97.60 ± 0.73 mg ER/g extrait).

Aucun résultat de dosage des flavonols sur les fleurs et les feuilles de *C.villosus* n'a été rapporté par d'autres auteurs pour pouvoir comparer nos résultats.

III.4. Résultats des activités antioxydantes

III.4.1. Résultats du test DPPH

La valeur IC 50 a été déterminée pour chaque extrait, c'est la concentration de l'échantillon exigé pour donner une diminution de 50% de l'absorbance de la solution contrôle constituée d'éthanol et DPPH. (**Le tableau 8**) donne les valeurs d'IC50 des deux fractions testées et de l'antioxydant standard.

Tableau 8 : Les valeurs d'IC 50 des deux extraits du radical DPPH.

Les extraits phénoliques	IC 50 (mg/ml)
Les feuilles	0,0047 ± 0,0002
Les fleurs	0,044 ± 0,0007
Acide ascorbique	0,0031 ± 0,0001

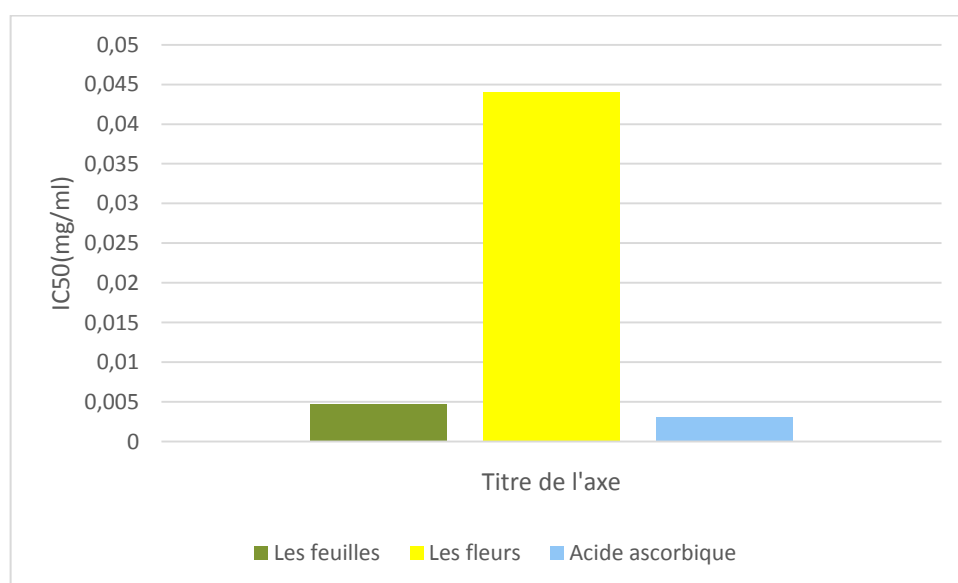


Figure 18 : Les valeurs d'IC 50 des deux extraits du radical DPPH.

L'étude a montré que les deux extraits (feuilles et fleurs) de *C. villosus* étudiées possédaient des pourcentages d'inhibitions importants. L'activité antioxydante des fractions est exprimée en IC50, elle est définie comme la concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50% du radical DPPH, l'IC50 la plus faible présente l'activité la plus forte.

Les valeurs de IC50% sont de l'ordre de ($0,0047 \pm 0,0002$ mg/ml) pour l'extrait des feuilles, l'extrait des fleurs a enregistré un $IC_{50\%} = 0,044 \pm 0,0007$ mg /ml, sachant que le paramètre IC50 est inversement proportionnel à l'activité antioxydante, on peut constater que pouvoir anti radicalaire de l'extrait des feuilles est plus important que l'extrait des fleurs.

Une étude menée par **Ait-kaci et al. (2015)** sur la même espèce de plante a montré des IC50 de 19,17 µg/ml et 77,81 µg/ml des feuilles et des fleurs respectivement.

La différence dans l'activité anti-radicalaire au DPPH entre les extraits analysés est probablement due à leur composition en différents composés phénoliques. La réduction du DPPH n'est généralement pas due à l'action d'un seul composé mais aux interactions entre plusieurs composés, ces interactions peuvent exister dans un extrait pas dans un autre, conduisant ainsi à cette différence d'activité entre les extraits.

III.4.2. Résultats du test FRAP

Dans ce test, la couleur jaune de la solution d'essai change en différentes nuances de vert et de bleue, selon le pouvoir réducteur de chaque composé. La présence de réducteurs (antioxydants) provoque la conversion du complexe du fer ferrique ($Fe^{3+} (CN^-)_6$) en fer ferreux ($Fe^{2+} (CN^-)_6$) (Wu et al., 2015).

En générale cette méthode est basée sur la capacité des polyphénols à réduire le fer ferrique (Fe^{3+} en fer ferreux (Fe^{2+}). Les résultats obtenus sont représentés dans (**le tableau 9**).

Tableau 9 : Les valeurs d'IC 50 des deux extraits de test FRAP.

Les extraits phénoliques	IC 50 (mg/ml)
Les feuilles	0,006±0,0001
Les fleurs	0,06±0,004
Acide ascorbique	0,003 ± 0,0002

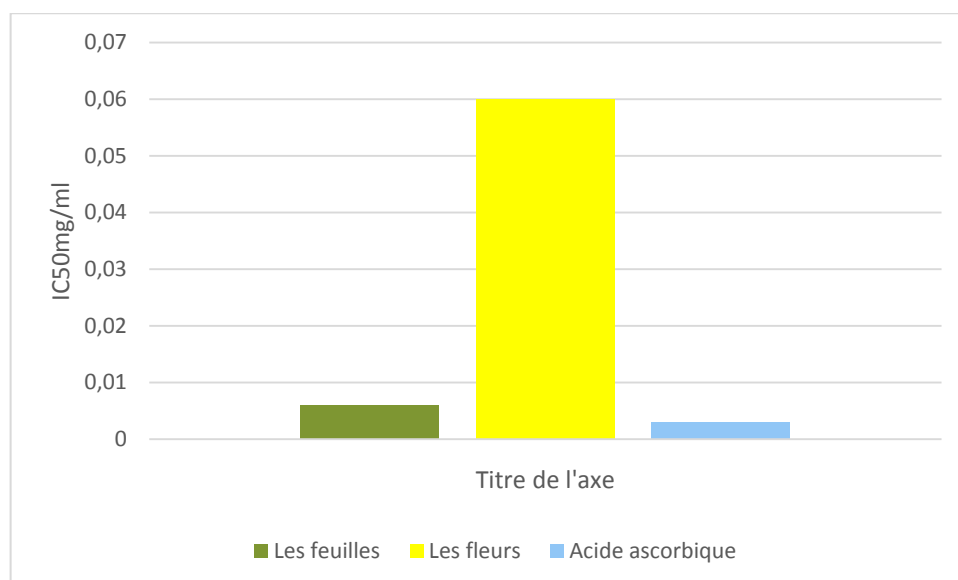


Figure 19 : Les valeurs d'IC 50 des deux extraits de test FRAP.

Selon les résultats du test de FRAP mentionnés sur le **(Tableau 9)**, Nous constatons que l'extrait des feuilles a présenté une valeur d'IC50 ($0,006 \pm 0,0001$ mg/ml) ce qui signifie une meilleure capacité à réduire le fer. Par contre l'extrait des fleurs a montré le pouvoir le plus faible avec une valeur d'IC50 très élevée qui de $0,06 \pm 0,004$ mg/ ml.

La capacité réductrice d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle **(Yildirin et al., 2001 ; Yan et al., 2008)**. **Bentabet et ses collaborateurs (2014)** ont indiqué qu'il y a une relation directe entre les activités antioxydantes et la puissance de réduction des composants de quelques plantes. Ce processus d'autoxydation dépend de multiples paramètres tels que la concentration de l'ion métallique et du polyphénol, la température, le pH et la présence d'agents complexant **(Ghedadba et al., 2015)**.

CONCLUSION GENERALE

Conclusion

Les plantes médicinales continuent toujours d'être la provenance idéale des métabolites secondaires, ce qui explique leur exploitation accrue en industrie pharmaceutique. Les polyphénols sont les composés végétaux les plus intéressants et les plus étudiés de nos jours.

L'évaluation des plantes médicinales pour leurs activités biologiques a augmenté considérablement en Algérie. Ceci montre que les molécules isolées à partir des plantes médicinales sont certainement intéressantes pour être utilisées comme thérapie alternative ou comme modèle pour la synthèse de nouvelles substances.

Dans le cadre de notre travail, nous sommes intéressées à l'étude phytochimique et du pouvoir antioxydant des extraits des feuilles et fleurs de « *Cytisus villosus pourr* ».

Dans le premier volet de ce travail, nous avons procédé à l'extraction des molécules bioactives par macération en utilisant l'éthanol comme un solvant d'extraction, l'étude phytochimique a montré la présence des flavonoïdes, les tanins, saponosides et les Coumarines dans les extraits des feuilles et les fleurs, et l'existence des alcaloïdes seulement dans l'extrait des fleurs, et l'absence des Anthocyanes dans tous les extraits.

Dans le deuxième volet, il y avait l'évaluation du contenu des phénols et des flavonoïdes totaux, et des flavonols totaux qui révèle que l'extrait éthanolique des feuilles possède les taux les plus élevés par rapport l'extrait des fleurs.

Dans le dernier volet, l'évaluation de l'activité antioxydante est mise en évidence par deux tests différents : l'analyse par le radical stable DPPH• et l'estimation du pouvoir réducteur FRAP.

Nous avons constaté pour l'activité antioxydante par le piégeage du radical libre DPPH• et en comparant les IC50 des différents extraits testés par rapport à celles de l'acide ascorbique, nous avons remarqué une activité antiradicalaire très importante pour l'extrait des feuilles comparativement à l'extrait des fleurs.

Cependant, l'activité antioxydante par la méthode FRAP, l'extrait des feuilles a une capacité de réduire le fer très important par rapport à l'extrait des fleurs.

À la suite de ces résultats, il serait donc intéressant d'étendre l'éventail de l'isolement et l'identification des composés actifs dans les différents extraits en vue de les déterminer. Aussi, une étude in vivo est souhaitable, pour obtenir des résultats plus approfondis sur les activités antioxydantes et les autres activités biologiques, à cause de l'ignorance de cette plante par la population algérienne.

Références bibliographiques

A

Aganga., Mosase K. (2001). Tannin content, nutritive value and dry matter digestibility of *Lonchocarpus capassa*, *Zizyphus mucronata*, *Sclerocarya birrea*, *Kirkia acuminata* and *Rhus lancea* seeds. *Anim. Feed Sci. Technol.* 91 (1/2), 107-113.

Ait-KaciAourahoun K., Fazouane F. and Benayache S. (2015). Pharmacological potential of *Cytisustrif-lorusl'Hérit.* extracts as antioxidant and anti-inflammatory agent. *Der Pharmacia Lettre.* 7(5), 104-110.

Andriamparany J.N., Brinkmann K., Jeannoda V. and Buerkert A. (2014). Effects of socio-economic household characteristics on traditional knowledge and usage of wild yams and medicinal plants in the Mahafaly region of south-western Madagascar. *Journal of ethnobiology and ethnomedicine.* 10, 61-69.

Auvray G., Malécot V. (2013). A revision of *Cytisus* sections *alburnoides*, *spartopsis* and *verzinum* (genisteae, fabaceae). *Edinburgh Journal of Botany.* 70, 61-120.

B

Balsundram N., Sundram K., et Samman S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-Industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry.* 99,191–203.

Bonnefont-Rousselot D., Thérond P., Delattre J. (2003). Radicaux libres et antioxydants. En : Delattre J., Durand G., Jardillier J-C. *Biochimie pathologique.* Flammarion, Paris, 317 p.

Benkiki N. (2006). Etude phytochimique des plantes médicinales algérienne. *Ruta montana*, *Matricaria pubescens* et *Hypericum perfoliatum*. Thèse de Doctorat, Université Al-Hadj Lakhdar Batna .112-133.

Biesalski H. K., Böhles H., Esterbauer H., Fürst P., Gey F. & Hundsdörfer G. (1997). Antioxidant vitamins in prevention. Consensus statement. *Clin. Nutr.* 16, 151-5

Beier R.C., Ivie G.W., Oertli E.H. & Holt D.L. (1983). HPLC analysis of linear furanocoumarins (psoralens) in healthy celery (*Apium graveolens*). *Food and Chemistry Toxicology.* 11,163-165

Bouhadjera K. (2005). Contribution à l'étude chimique et biologique de deux plantes médicinales sahariennes *Oudneya africana* R.Br. et *Aristida pungens* L. Thèse de Doctorat en chimie organique appliqué. Université Abou Bakr Belkaid, Tlemcen. Algérie. P143.

Bratt M., Broom M., Kelber S. & Lostocco L. (2000). Influence of stress and nursing leadership on job satisfaction of pediatric intensive care unit nurses. *Pubmed9* (5), 07-17.

Bravo L. (1998). Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *NutritionReviews*.56.317–333.

Brum-Bousquet M., Tillequin F., Paris R. (1977). From the twigs of *Sarothamnus scoparius* Koch has been isolated a new C-Glycosyl flavone: The 6"-O acetyl scoparin. *Lloyd*.40,591.

Bruneton J. (2015). Pharmacognosie (5 Ed.) Phytochimie - Plantes médicinales, Tec and Doc, Lavoisier, Paris.504p.

Bruneton J. (1999). Pharmacognosy phytochemistry medical plants Lavoisier publishing, USA, New York .555-558.

Bruneton J. (2009). Pharmacognosie : Phytochimie, plantes médicinales. (4 Ed). Éditions médicales internationales (Tec&Doc), Paris.1288.

C

Chenni M. (2010). Contribution à l'étude chimique et biologique de la racine d'une plante médicinale : *Bryonia dioica* Jacq. Thèse de Magister. Université d'Oranes- Senia, Oran. Algérie. P138.

Clifford M. N. (2000). Appendix 1. A nomenclature for phenols with special reference to tea, Washington, DC, CRC Press, Boca Raton Florida. 41 (5), 393-397.

Conrad J, Vogler B, Klaiber I, Roos G, Walter U, Kraus W. (1998). Two triterpene esters from *Terminalia macroptera* bark, *Phytochemistry*. 48, 647-650.

D

D'Abrosca, B., Pacifico S., Cefarelli G., Mastellone C., & Fiorentino A. (2007). 'Limoncella' apple, an Italian apple cultivar: Phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity. *Food Chemistry*, 104 (4), 1333-1337.

Djeridane A., Yousfi M., Najemi B., Boutassouna D., StockerP. et Vidal N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. Foodchemistry.97,654-660.

Dias J.S. (2012). Nutritional quality and health benefits of vegetables: a review. Food and NutritionSciences.3,1354.

Doukani K, Tabak S, Derrriche A, Hacini Z. (2014). Revue Ecologie- Environnement 10,37-49.

Duke J. (2012). Handbook of legumes of world economic importance. Springer Science & Business Media.

E

Eberhard T., Robert A., Annelise L. (2005). Plantes aromatiques, épice aromates, condiments et huiles essentielles. Ed. Tec et Doc, Paris. France. P 521.

Emberger, L. (1971). Travaux de botanique et d'écologie \$ L. Emberger : Masson. Epifano, F., Genovese, S., Menghini, L., & Curini, M. (2007). Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites. Phytochemistry, 68(7), 939-953.

Enneb H., Belkadhi A., Cheour F. & Ferchichi A. (2015). Comparaison des composés phénoliques et du pouvoir antioxydant de la plante de henné (Lawsonia inermis L.). Journal of New Sciences, Agriculture and Biotechnology20 (2), 788-793.

F

Favier A. (2003). Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité Chimique13, 108-115.

Fogliani B. (2002). De la connaissance physiologique des Cunoniaceae endémiques de la Nouvelle-Calédonie, à la recherche des caractéristiques physico-chimiques et biologiques de leurs substances bioactives d'intérêt. Thèse de Doctorat en chimie végétale et phytochimie. P 42-52.

Fiuza, S., Gomes, C., Teixeira, L., Da Cruz, M. G., Cordeiro, M., Milhazes, N., . . . Marques, M. (2004). Phenolic acid derivatives with potential anticancer properties—a structure– activity relationship study. Part 1: Methyl, propyl and octyl esters of caffeic and gallic acids. Bioorganic & medicinal chemistry, 12(13), 3581-3589.

G

García Ciudad A., Santos B.F., de Aldana B.V., Zabalgoceazcoa I., Gutierrez M., Criado B.G. (2004). Use of near infrared reflectance spectroscopy to assess forage quality of a Mediterranean shrub. *Communications in soil science and plant analysis*. 35, 665-678

Ghedadba N., Hambaba L., Ayachi M. C., Aberkane H., Bousselsela S.M. and OueldMoukhtar. (2015). Polyphénols totaux, activités antioxydant et antimicrobienne des feuilles de *Marrubium deserti* de Noé. *Phytothérapie*. 13(2), 118 -129.

Ghestem A., Seguin E., Paris M., Orecchioni A.M. (2001). Le préparateur en pharmacie dossier 2ème Ed TEC&DOC. Paris. P275.

Gião M.S., González-Sanjosé M.L., Rivero-Pérez M.D., Pereira C.I., Pintado M.E., Malcata F.X. (2007). Infusions of Portuguese medicinal plants: Dependence of final antioxidant capacity and phenol content on extraction features. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 87, 2638-2647.

González N., Ribeiro D., Fernandes E., Nogueira D.R., Conde E., Moure A., Vinardell M.P., Mitjans M., Domínguez H. (2013). Potential use of *Cytisus scoparius* extracts in topical applications for skin protection against oxidative damage. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 125, 83-89.

H

Harborne. (1999). The Handbook of Natural Flavonoids, Wiley. P1800.

Hanganu D., Vlase L., Olah N. (2010). LC/MS analysis of isoflavones from Fabaceae species extracts. *Farmacia*. 58(2), 177-183.

I

Ignat I., Volf I., Popa V. I. (2011). A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables, *Food Chemistry*. 126, 1821-1835.

J

Jensen, S. R. (1992). Systematic implications of the distribution of iridoids and other chemical compounds in the Loganiaceae and other families of the Asteridae. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 284-302.

Judd W.S., Campbell C.S., Kellogg E.A., Jachak S.M. and Saklani A. (2007). Challenges and opportunities in drug discovery from plants. *Current science*. 92(9), 1251-1257.

K

Kaabèche, M., (2013) la flore d'Algérie. Ressource de développement durable ou source de biopiraterie. 1st International Seminar on Medicinal Plants, Health and Environment (SIPMSE'13), University of M'sila, Faculty of Sciences, Department of Nature and life Sciences in collaboration with Arab Federation of Medicinal and Aromatic Plants. 20-21 October

Khadri S. (2019). Evaluation de l'activité antibactérienne, anti-oxydant et cicatrisante des brûlures thermiques des composés phénoliques extraits de la plante médicinale *Cytisus triflorus* de l'Est Algérien. Thèse doctorat Biochimie Appliquée. Université d'Annaba.

Kanoun K.2011.Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus Communis* L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine). Mémoire de Magister en Biologie, Université Aboubakar Belkaid, Tlemcen, 118p.

Kany Y., Gokbulut A., Kartel M., Konuklugil B., Yilmaz G. (2007). Development and Validation of a LC Method for the Analysis of Phenolic Acids in Turkish *Salvia* Species. *Chromatographia Supplement*. 66, 147-152.

Kintzios S. E.& Barberaki M. G. (2004). Plants that Fight Cancer. CRC Press, Beth Budny, USA.P: 93.

Karumi Y., Onyeyli P.A., Oyugbuaja V.O. (2004). Identification of active principal of *M. Balsamia* (Balsam Apple) leaf extract *J. Med.Sci* .4 (3),179-182

Kosalec I., Bakmaz M., Pepeljnjak S., Vladimir-Knežević S. (2004). Quantitative analysis of the flavonoids in raw propolis from northern Croatia. *Acta Pharmacy*. 54,65-72.

L

Leduc C, Coonishish J, Haddad P, Currier A. (2006). Plants used by Cree Nation of Eeyou Istchee (Quebec, Canada) for treatment of diabetes: A novel approach in quantitative ethnobotany. *Journal of Ethnopharmacology* 105(1-2): 55-63.

Lee J., Koo, N. et Min D. B. (2004). Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 3 (1), 21-33.

Loft, S., Møller, P., Cooke, M.S., Rozalski, R. & Olinski, R. (2008). Antioxidant vitamins and

cancer risk: is oxidative damage to DNA a relevant biomarker (2):19- 28.

Lutge U., Kluge M. & Bauer G. (2002). Botanique 3ème Ed : Technique et documentation Lavoisier, p : 564- 582.

M

Maataoui B.S., Hmyene A., Hilali S. (2006). Activités anti-radicalaires d'extraits de jus de fruits du figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*). Libanaise Science Journal. 7(1), 3-8.

Milcent R., Chau F. (2003). Chimie organique hétérocyclique : Structure fondamentale, chimie et biochimie des principaux composés naturels. Ed. Francois chau EDP. Paris. France 846.

Mineur Y.S., Somenzi O., Picciotto M.R. (2007). Cytisine, a partial agonist of high affinity nicotinic acetylcholine receptors, has antidepressant-like properties in male

C57BL/6J mice. Neuropharmacologie. 52(5), 1256-1262

Muanda FN, Soulimani R, Diop B, Dicko A. (2010). Study on chemical composition and biological activities of essential oil and extracts from *Stevia rebaudiana* Bertoni leaves. LWT-Food Science and Technology 44, 1865-1872.

N

Nedelcheva A.M., Dogan Y., Guarrera P.M. (2007). Plants traditionally used to make brooms in several European countries. Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine. 3(2),1-11.

Newman DJ, Cragg GM, Snader KM. (2000). The influence of natural products upon drug discovery. Natural Product Report 17(3): 215-234.

O

Oloyede O.I. (2005). Chemical profile of Unripe Pulp of *Carica papaya*. Pakistan journal of nutrition .4, 379-381.

Oyaizu M. (1986). Studies on Products of Browning Reactions: Antioxidative Activities of Product of Browning Reaction Prepared from Glucosamine. Japan Journal of Nutrition. 44, 307-315.

P

Pereira O.R., Silva A.M., Domingues M.R., Cardoso S.M. (2012b). Identification of phenolic constituents of *Cytisus multiflorus*. Food Chemistry .131, 652-659.

Perron JT., Kirchner JW., Dietrich W.E. (2009). Formation of evenly spaced ridges and valleys. *Nature*. 460, 502–505.

Pincemail J., Bonjean K., Cayeux K., Defraigne J.O. (2002). Physiological action of antioxydant defences. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. 16: 233-239.

Phaniendra A., Jestadi D.B., Periyasany L. (2015). Free radicals: properties, sources, Targets, and their implication in various diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. 30 (1):11-26.

Picchi A. (2006). Tumor necrosis factor-alpha induces endothelial dysfunction in the prediabetic metabolic syndrome. *Circ. Res*, 99 : 69-77 p.

Popovici C., Saykova I. and Tylkowskib. (2010). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie Industriel*. 4, 18.

Prior R.L., Wu X., Schaich K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53, 4290-4302.

Q

Quezel P., Santa S. (1962, 1963). Nouvelle Flore d'Algérie et des Région Désertiques Méridionales .2 Tomes, Editions CNRS, Paris.1170.

R

Ribereau-gayon J., Reynaud E. (1968). Les composés phénoliques des végétaux. Ed. Edition Dunod, Paris. France. P254.

Roux D., Catier O. (2007). Botanique, pharmacognosie, phytothérapie. 3ème édition. Ed. Wolters Kluwer, Dalian. China. P141.

S

Šaponjac V.T., Canadanovic-Brunet J., Cetkovic G., Djilas S. (2016). Chapter 6: Detection of Bioactive Compounds in Plants and Food Products. In: Nedovic, Emerging and Traditional Technologies for Safe, Healthy and Quality Food. Food Engineering Series. Springer International Publishing, Switzerland. Seaman. F.C 1982. Botanical Review. 48(2),121-595.

Siddhuraju P., Becker K., (2007). The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) seed extracts. *Food Chemistry*. 101(1), 10- 19.

Sundararajan R., Haja, N.A., Venkatesan K., Mukherjee K., Saha B.P., Bandyopadhyay A., Mukherjee P.K. (2006). Cytisus scoparius link-A natural antioxidant. BMC Complementary and Alternative Medicine. 6, 1-7.

Sell, C. (2003). A fragrant introduction to terpenoid chemistry The Royal Society of Chemistry. Thomas Graham House, Scientific Park, Milton Road, Cambridge, UK, 410.

Sundararajan R., Koduru R. (2014). Cytisus scoparius: A review of ethnomedical, phytochemical and pharmacological information. Indo American Journal of Pharmaceutical Research. 4(4), 2151-2169.

T

Tawaha K., Alali F. Q., Gharaibeh M., Mohammad M. et El-Elmat T. (2007). Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. Food Chem. 104, 1372-1378.

V

Vuorela S. (2005). Analysis, isolation and bioactivities of rapeseed phenolics. Ed. University of Helsinki, Helsinki, P76.

W

Waterman P.G., Sprent J., McKey D. (1994). Costs and benefits of secondary metabolites to the Le-guminosae. Advances in Legume Systematics. 5, 129-149. White E. (1964). Alkaloids of the Leguminosae. Part XXVII. The structure of monspessulanine. Journal of the Chemical Society (Resumed). 879, 4613-4614.

Wollgast J., Anklam E., (2000). Review on polyphenols in Theobroma cacao: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. Food Research International. 33, 423 – 447.

Y

Yan, J., Guo, J. et Yuan, J. (2008). In vitro antioxidant properties of rutin, LWT. 41, 1060-1066.

Yildirim, A., Mavi A. et Kara A.A. (2001). Determination of antioxidant and antimicrobial activities of Rumex crispus L. extracts, Journal of Agricultural and Food Chemistry. 49, 4083-4089.

ANNEXE

Annexe

1. Appareillage

Appareils et matériels	Caractéristiques
-Agitateur automatique	WiseStir (MSH-20A)
-Bain Marie	WiseBath
- Balance de precision	(OUAUS 0,001)
-Barreau magnétique	
- Ballon	De 250mL
- Béchers	
- Cuves	
- Etuve	
- Erlenmeyer	De 250mL
- Eprouvette	De 100mL
- Fiole	De (25mL et 50mL et 100mL et 200mL)
-Micropipette	(précision 10-100 et 100-1000)
-Papier aluminium.	
-Papier filtre.	
- Potentiel d'Hydrogène-mètre (pH-mètre)	Adwa (AD1030)
-Pipette	De 10mL
- Réfrigérateur	
- Spectrophotomètre UV	(OPTIMA SP-3000 Nano)
- Spatule	
- Tubes	
- Evaporateur rotatif	

2. Produits chimiques :

Produits	formule chimique	Propriétés
- Eau distillé	H ₂ O distillé	Ultra-pure
-Acide trichloracétique (TCA)	C ₂ HCl ₃ O ₂	PROLABO
- 2, 2'-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH)	C ₁₈ H ₁₂ N ₅ O ₆	SIGMA-ALORICH
- Hexacyanoferrate de potassium	K ₃ Fe(CN) ₆	(BDH) laboratory reagents
- Ethanol	C ₂ H ₆ O	BIOCHEM Chemopharma
-Folin Ciocalteu		SIGMA (Life Science)
- Chlorure d'aluminium	AlCl ₃	VWR CHEMICALS
- Acide gallique	C ₇ H ₈ O ₅	SIGMA (Life Science)
- Acide chlorhydrique	HCl	Honeywell Fluka
- sulfate de sodium	Na ₂ SO ₄	SIGMA-ALORICH / BIOCHEM Chemopharma
- sulfate de sodium hydraté	Na ₂ S ₂ O ₃	Fluka
- Carbonate de sodium	Na ₂ CO ₃	SIGMA-ALORICH
- Dihydrogénophosphate de potassium	KH ₂ PO ₄	Fluka.chemika
-Hydrogénophosphate de potassium	K ₂ HPO ₄	Applichem Panreac
-Chlorure de fer III hexahydraté	FeCl ₃ .6H ₂ O	PROLABO
-Iodure de potassium	KI	SIGMA-ALORICH
-Diode	I ₂	SIGMA-ALORICH

villosus cytisus هو نبات طبي ويستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي الغرض من هذا العمل هو تحديد المركبات الفينولية وتحديد النشاط المضاد للأكسدة انطلاقا من مستخلص الأوراق والزهور . استخدمنا الاختبارات الكيميائية النباتية من خلال العديد من الأساليب النوعية القائمة على ظواهر الترسيب أو اللون باستخدام للكواشف المحددة حيث تؤكد نتائج الفحص الكيميائي ثراء هذا النبات بالمركبات البوليفينول والفلافونويد والفلافنول. اظهر ان مستخلص الأوراق يقدم المحتوى الأكثر أهمية (91.8 ± 3241 ملغ/غ , 34.8 ± 781.31 ملغ/غ , 10.76 ± 441.92 ملغ/غ) بالإضافة إلى ذلك تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة لمستخلص الأوراق بنسبه HPPD (0.0047 ± 0.0002 ملغ/مل) و PARF (1000.0 ± 600.0 ملغ/غ) .

الكلمات المفتاحية : *Cytisus villosus* ، تحليل فيتو كيميائي ، بوليفينول ، نشاط مضاد للأكسدة ، DDPH ، FRAP.

Résumé

Cytisus villosus est une plante médicinale de la famille des Fabacées, largement utilisée en médecine traditionnelle à l'échelle mondiale. Le but de ce travail est le dosage des composés phénoliques et détermination de l'activité antioxydante de *Cytisus villosus pour* . à partir des feuilles et des fleurs. Nous avons eu recours à des tests phytochimiques par plusieurs méthodes qualitatives basées sur des phénomènes de précipitations ou de coloration à l'aide des réactifs spécifiques. Les résultats de ce screening phytochimiques confirme la richesse de cette plante en composés phénoliques. L'estimation quantitative des polyphénols totaux et des flavonoïdes. Et flavonol totaux a montré que l'extrait des feuilles de ***cytissus villosus pourr*** présente la teneur la plus importante (3241.8 ± 91.8 mg EAG/g extrait ; 781.31 ± 34.8 mg ER/g extrait ; 441.92 ± 10.76 mg ER/g extrait) En outre, une évaluation de l'activité antioxydante de cette espèce vis-à-vis de DPPH (0.0047 ± 0.0002 mg/ml) et FRAP (0.006 ± 0.0001 mg/ml).

Mots clés : *Cytisus villosus* ; analyse phytochimique ; polyphénols ; l'activité antioxydante ; DDPH ; FRAP.

Abstract

Cytisus villosus which is a medicinal plant from Fabaceae family, used widely in traditional medicine across the world. The aim of this research is the determination of polyphenols and flavonoids content, and the evaluation of the antioxidant activity of *cytissus villosus pour*. from leaves and flowers. We used photochemical tests with several qualitative methods based on precipitation or staining phenomena using specific reagents. The results of this phytochemical screening confirm the richness of this plant in phenol compounds. The quantitative estimate of total polyphenols and flavonoids. And Flavonol Total has shown that the extract of the leaves of *cytissus villosus rot* presents the most important content (3241.8 ± 91.8 mg EAG / g extract; 781.31 ± 34.8 mg er / g extract; 441.92 ± 10.76 mg er / g extract) in addition, an assessment of the antioxidant activity of this species vis-à-vis DPPH (0.0047 ± 0.0002 mg / ml) and FRAP (0.006 ± 0.0001 mg / ml).

Keywords: *cytissus villosus*, photochemical analysis, antioxidants activity, polyphenols, FRAP, DPPH