



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine  
Faculté des Sciences de la Nature et de la  
Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم... Biochimie et Biologie Cellulaire et Moleculaire

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Moléculaire et Santé

Intitulé :

---

# Investigation phytochimique de la plante médicinale

## *Genista numidica spach*

---

Présenté et soutenu par :

Le : 23 /06/2015

Khalfalah Houria

Lounis Hanane

Jury d'évaluation :

Président du jury : BOUSEBA Bachir MCB- UFM Constantine.

Rapporteur : BOUTAGHANE Naima MCB- UFM Constantine.

Examinatrice : SEMRA Ilhem MAA- UFM Constantine.

*Année universitaire*  
*2014 - 2015*



## *Remerciements*

*Ce mémoire a été réalisé au laboratoire d'Obtention de Substances Thérapeutique, Faculté des Science Exactes de l'Université des freres mentouri , sous la direction du Docteur **Naïma Boutaghane**, maître de conférence « B » au département de Biologie Faculté des sciences de la nature et de la vie.*

*Nous remercions tout d'abord **ALLAH** le tout puissant de nous avoir offert les capacités morales, physiques, et intellectuelles pour pouvoir accomplir ce travail.*

*On ne saurait remercier assez notre encadreuse **Dr. Boutaghane Naïma**, pour l'excellent sujet qu'elle n'a cessée de nous prodiguer et surtout pour disponibilité, pour les conseils qu'elle n'a cessée de nous prodiguer et surtout pour ses qualités humaines et scientifiques, son encadrement privilégié, sa patience et ses encouragements. Merci de tout cœur.*

*Nous remercions Madame le Professeur **Zahia Kabouche** pour nous avoir accueillies au sein du Laboratoire d'Obtention de substances Thérapeutique, Faculté des Sciences Exactes de l'Université de Constantine 1 et pour*

*nous avoir permis d'effectuer ce travail dans les meilleures conditions que soient.*

*Nous remercions aussi tous les membres de laboratoire d'Obtention de Substances Thérapeutique*

*Nos sincères remerciements vont également à monsieur Bousbaa Bachir et madame Samra Ilhem de l'Université de Constantine 1 d'avoir bien voulu juger ce travail.*

*Nous remercions également tout le personnel du Département de Biochimie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Constantine 1, pour les moyens qu'ils ont mis à notre disposition pour nous permettre de progresser tout au long de nos années d'étude.*

*Un grand merci pour tous nos enseignants pour leur meilleur enseignement, leurs aides, et leurs grands soutiens.*

***Houria & Hanane***



## *Dédicaces*

*A l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :*

*A la mémoire de mon père Lazzize Miloud et mon frère walid J'aurais aimé que vous soyez là pour voir s'accomplir le couronnement de mes dures années de sacrifice.*

*Qu'ils prient Dieu tout-puissant de lui accorder sa sainte miséricorde et de l'accueillir en son vaste paradis.*

*A mama Ratiba lahbibba pour l'amour, les sacrifices, les encouragements et les conseils qu'ils n'ont cessé de me prodiguer tout au long des mes études, que dieu me la garde*

*A mes frères : Samir et Mouhamed*

*A mes sœurs : Nadia et Merieme*

*A mes nièces et mes neveux : Sara, Walid, Adam, Maya et Marame que dieu les bénisse*

*A mes oncles et chères tantes et leur enfants chacun par son nom.*

*A mes chères amies : Hanene, Kawther, Hawa, Asma, Halima, Amina Amel, Hadjer, Khawla et Romaila*

*Houria*



*Grace à dieu tout puissante, je dédie ce modeste travail à tout les personnes qui m'ont aidé de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire et plus particulièrement :*

*A mon très cher père Ammar pour ses sacrifices et qui m'est encouragée durant mon cycle d'étude que dieu me le garde*

*A Ma très chère mère Oufia pour sa patience, ses prière et son amour que dieu me la garde*

*A mon cher mari Mehannaoui Sofiane : qui m'a aidé et m'a encouragé m'a conseillé, qui il me donné la force de continuer, tout mon respect que dieu me le garde*

*A mes très chers frères : bilal, saïd, iberahim et mohammed qui je ne cesse de remercier pour leur encouragement*

*A ma très chère sœur Meriem*

*A ma grande mère Akila A mes oncles et chères tantes*

*A ma belle mère et mes belles sœurs surtout Rommaïsa*

*A tous mes cousines Amira, Houda, Imene et Sammia*

*A mes meilleures chères amies Houria, Kawther, Asma, Hawa, Hadjer et Ilehame qui je l'aime beaucoup et que je lui souhaite une bonne chance dans ses vies et ses études.*

*Lounis Hanane*

# Table des matières

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

## *Chapitre I : Aperçu bibliographique sur la famille des Fabaceae et le genre Genista*

I.1. L'ordre de Fabales .....	3
I.1.1. Les Fabaceae.....	3
I.1.2. Classification systématique et aspects botaniques.....	3
I.1.3. Intérêts économiques et thérapeutiques de la sous-famille Faboideae.....	6
I.1.4. Toxicité de certains Fabaceae.....	6
I.2. Présentation du genre Genista.....	7
I.2.1. Description botanique.....	7
I.2.2. Usage traditionnel.....	7
I.2.3. Principaux métabolites secondaires des plantes du genre <i>Genista</i> .....	7
I.3. <i>Genista numidica</i> Spach.....	11
I.3.1. Description botanique.....	11
I.3.2. Distribution et place dans la systématique.....	12

## *Chapitre II : Les métabolites secondaire (flavonoïdes, saponosides)*

II.1. Les flavonoïdes .....	13
II.1.1. Définition.....	13
II.1.2. Biosynthèse.....	13

II.1.2.1. La voie de l'acide shikimique.....	13
II.1.2.2 La voie malonate .....	14
II.1.3. classification .....	15
II.1.4. Propriétés biologique des flavonoïdes .....	16
II.2. Saponosides.....	17
II.2.1.Définition.....	17
II.2.2. Classification .....	17
II.2.2.1. Génines triterpéniques .....	17
II.2.2.2. Génines stéroïdiques .....	19
II.2.2.3. Structure des hétérosides.....	19
II.2.3. Propriétés biologiques et pharmacologiques des saponines.....	19

### *Chapitre III : Les antioxydants*

III. Les antioxydants.....	21
III.1. Généralités .....	21
III.2. Définition d'un antioxydant.....	21
III.3. Principaux antioxydants.....	21
III.3.1. Les antioxydants endogènes .....	21
III.3.2. Les antioxydants exogènes .....	21
III.4.Mécanisme d'action d'un antioxydant.....	22

### *Chapitre IV : travaux personnel*

IV. Introduction.....	24
IV.1. Matériels végétale .....	24
IV.1.2. Récolte de la plante <i>Genista numidica Spach</i> .....	24

<b>IV.2. Matériel chromatographique.....</b>	<b>24</b>
<b>IV.2. 1. Chromatographie sur couche mince (CCM).....</b>	<b>24</b>
<b>IV.2. 2. Chromatographie liquide sous vide (VLC).....</b>	<b>24</b>
<b>IV.2.3. Chromatographie CLHP.....</b>	<b>25</b>
<b>IV.3. Extraction.....</b>	<b>25</b>
<b>IV.3.1. Extraction des tiges de <i>G. numidica</i> Spach.....</b>	<b>25</b>
<b>IV.3.2. Criblage phytochimique des extraits méthanoliques des tiges et de feuilles-fleurs de <i>G. numidica</i> Spach.....</b>	<b>26</b>
<b>IV.3.2. 1 Criblage phytochimique par CCM et CLHP.....</b>	<b>26</b>
<b>IV.3.2.2. Screening phytochimique par réactions colorées .....</b>	<b>26</b>
<b>A. Mise en évidence des flavonoïdes .....</b>	<b>26</b>
<b>B. Mise en évidence des polyphénols.....</b>	<b>27</b>
<b>C. Mise en évidence des stérols et triterpènes.....</b>	<b>27</b>
<b>D. Mise en évidence des saponines.....</b>	<b>27</b>
<b>E. Mise en évidence des alcaloïdes.....</b>	<b>28</b>
<b>IV.4. Fractionnement de l'extrait méthanolique.....</b>	<b>28</b>
<b>IV.5. Dosage des composés phénoliques.....</b>	<b>29</b>
<b>IV.5.1. Principe de la réaction des polyphénols.....</b>	<b>29</b>
<b>IV.6. Evaluation de l'activité antiradicalaire.....</b>	<b>30</b>

## ***Chapitre V : Résultats et discussion***

<b>V.1. Criblage phytochimique par CCM et CLHP Recherche des polyphénols.....</b>	<b>32</b>
<b>V.2. Screening phytochimique par réactions colorées.....</b>	<b>34</b>
<b>A. Recherche des polyphénols.....</b>	<b>35</b>

<b>B. Recherche des flavonoïdes.....</b>	<b>35</b>
<b>C. Recherche des stérols et triterpènes.....</b>	<b>35</b>
<b>D. Recherche des saponines.....</b>	<b>36</b>
<b>E. Recherche des alcaloïdes.....</b>	<b>36</b>
<b>V.3. Fractionnement de l'extrait méthanolique.....</b>	<b>37</b>
<b>V.4. Dosage des polyphénols totaux.....</b>	<b>38</b>
<b>V.8.valuation de l'activité antiradicalaire.....</b>	<b>40</b>
<b>Conclusion générale .....</b>	<b>42</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>43</b>

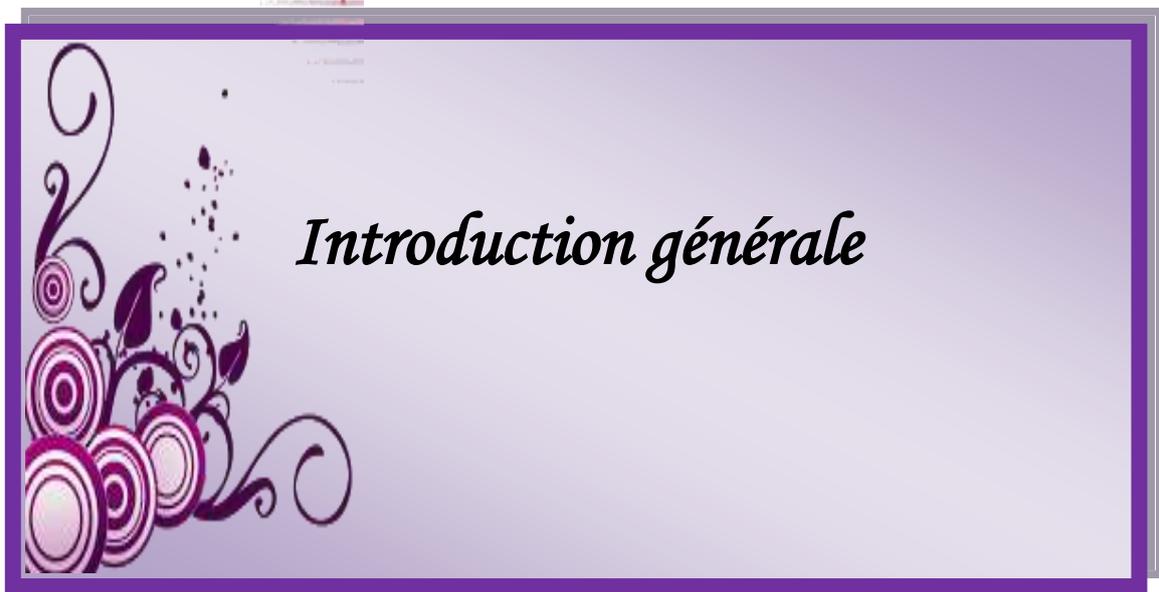
# Liste des figures

<b>Figure I.1 :</b> feuillet de La famille <b>Fabaceae</b> .....	4
<b>Figure I.2 :</b> Types de fleurs des <b>Fabaceae</b> : <i>Lathyrus latifolius</i> .....	5
<b>Figure I.3 :</b> fruits de la famille des Fabaceae.....	5
<b>Figure I.4:</b> Carte présente l'aire géographique de <i>Genista numidica</i> Spach.....	11
<b>Figure I.5 :</b> Espèce <i>Genista numidica</i> Spach.....	12
<b>Figure II.1 :</b> Structure de base des flavonoïdes.....	13
<b>Figure II.2 :</b> biosynthèse des flavonoïdes.....	14
<b>Figure II.3:</b> Les différentes classes des flavonoïdes.....	15
<b>Figure II.4 :</b> composition des saponines.....	17
<b>Figure III.1 :</b> Les différents mécanismes d'actions possibles des antioxydants.....	23
<b>Figure IV.1:</b> préparation de l'extrait méthanolique des tiges de <i>G. numidica</i> Spach.....	25
<b>Figure IV.2:</b> chromatographie liquide sous vide (VLC).....	29
<b>Figure IV.3:</b> Réaction du radical DPPH.....	30
<b>Figure V.1:</b> les chromatogrammes des 2extraits méthanolique des feuilles-fleurs (a) et des tiges (b).....	32
<b>Figure V.2 :</b> : Chromatogramme CLHP analytique de l'extrait méthanolique des feuilles-fleurs (a) et des tiges (a') à 325nm de <i>G. numidica</i> .....	33
<b>Figure V. 3:</b> Chromatogrammes CLHP analytique des deux extraits méthanolique des feuilles-fleurs (a) et des tiges (a') à 280 nm de <i>G.numidica</i> .....	33
<b>Figure V.4:</b> Caractérisation des polyphénols.....	35
<b>Figure V.5:</b> La réaction de cyanidine.....	35
<b>Figure V.6:</b> La réaction de Lieberman-Burchard.....	36

<b>Figure V.7:</b> Caractérisation des saponosides.....	<b>36</b>
<b>Figure V.8:</b> Caractérisation des alcaloïdes.....	<b>37</b>
<b>Figure V.9:</b> Profils CCM sur gel de silice de l'extrait méthanolique.....	<b>38</b>
<b>Figure V.10:</b> Droite d'étalonnage de l'acide gallique (moyenne $\pm$ SD de trois essais).....	<b>39</b>
<b>Figure V.11:</b> tneur en polyphénols totaux (en mg/g d'extrait).....	<b>40</b>
<b>Figure V.12:</b> Courbe de pourcentage d'inhibition de DPPH par l'extrait methanolique des tiges de G.....	<b>41</b>

# Liste des tableaux

<b>Tableau I.1 :</b> classification de la famille <b>Fabaceae</b> (Leguminosae).....	4
<b>Tableau I.2 :</b> métabolites secondaires des plantes du genre <i>Genista</i> .....	8
<b>Tableau I.3 :</b> classification de l'Espèce <i>Genista numidica</i> Spach.....	13
<b>Tableau II.1:</b> Molécules impliquées dans la biosynthèse des flavonoïdes.....	15
<b>Tableau II.2 :</b> Exemples de quelques classes de quelques des flavonoïdes.....	16
<b>Tableau II.3 :</b> Génines triterpéniques.....	18
<b>Tableau II.4 :</b> Génines stéroïdiques.....	19
<b>Tableau II.5:</b> Quelques propriétés biologiques et pharmacologiques des saponines.....	20
<b>Tableau III.1 :</b> Exemples d'antioxydants retrouvés dans les aliments.....	22
<b>Tableau IV.1:</b> Gamme de dilutions décroissante de l'extrait méthanolique pour la mesure de l'indice de mousse .....	28
<b>Tableau V.1:</b> Résultats du criblage phytochimique des tiges de G.....	34
<b>Tableau V.2:</b> VLC sur C <sub>18</sub> de l'extrait méthanolique de <i>G. numidica</i> .....	38
<b>Tableau V.3:</b> Les valeurs de CI <sub>50</sub> des extraits MeOHdu DPPH en comparaison avec la quercetine.....	41



# *Introduction générale*

# Introduction générale

---

## Introduction générale :

Les substances naturelles végétales sont recherchées en raison de leurs activités biologiques nombreuses qui promeuvent des effets positifs sur la santé. Ces activités comprennent des activités antivirales, antibactériennes, antifongiques, insecticides, antipaludiques, antioxydantes et anticancéreuses utilisées dans les secteurs industriels pharmaceutiques et de l'agriculture.

Bien qu'une grande partie du XX<sup>ème</sup> siècle ait été consacrée à la mise au point de molécules de synthèse, la recherche de nouveaux agents pharmacologiques actifs, via le repérage de sources naturelles a résulté la découverte d'un grand nombre de médicaments utiles qui commencent à jouer un rôle majeur dans le traitement de nombreuses maladies humaines [1].

Actuellement, environ 75 % de médicaments disponibles pour le traitement de diverses maladies dérivent de produits naturels. Nous citerons pour exemples révélateurs les Vinblastine et Vincristine, alcaloïdes indoliques isolés de la plante *Catharanthus roseus* connue sous le nom de pervenche de Madagascar. Ces produits naturels cités sont utilisés à des fins médicales, dans le traitement de diverses formes de cancer (poumon, sein, lymphomes). Leurs analogues hémisynthétiques, à savoir la vinorelbine et la vindésine, sont aussi utilisés pour leurs propriétés antinéoplasiques. Le taxol isolé de *Taxus brevifolia* ou if d'Amérique, médicament reconnu mondialement pour son action anticancéreuse hautement efficace, constitue également un parfait exemple. La morphine, substance naturelle isolée du latex d'une Papaveraceae appelée *Papaver somniferum* et médicament utilisé principalement contre la douleur, est prise actuellement comme référence de choix du point de vue efficacité analgésique. Les produits naturels représentent une source extrêmement précieuse pour la production de nouvelles entités chimiques.

La flore algérienne est caractérisée par sa diversité florale : Méditerranéenne, Saharienne et une flore paléo tropicale, estimée à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques [2]. Ces espèces sont pour la plupart spontanées avec un nombre non négligeable (15%) d'espèces endémiques [2], ce qui a donné à la pharmacopée traditionnelle une richesse inestimable.

C'est dans ce sens que le Laboratoire (LOST), destiné à la valorisation de la flore du Nord algérien, par la recherche de nouveaux composés ou principes actifs à débouchés thérapeutiques. Pour cela, nous nous sommes intéressés à l'étude phytochimique et biologique de la plante médicinale *Genista .numidica Spach*, appartenant à la famille des

# *Introduction générale*

---

*Légumineuses* (Fabaceae), sous famille de Papilionaceae (Faboideae). Les plantes relevant de cette famille sont connues pour leur richesse remarquable en métabolites secondaires d'un grand intérêt biologique. Un bon nombre fait également l'objet d'un usage thérapeutique traditionnel. Les plantes du genre *Genista* sont riches en isoflavonoïdes [3,4]. Ils sont d'ailleurs considérés comme les marqueurs chimiotaxonomiques de ce genre.

Le présent travail a donc pour but d'adopter l'approche scientifique pour l'investigation chimique de l'extrait méthanolique des tiges de l'espèce *Genista .numidica* Spach. Cette étude chimique sera complétée par une évaluation de l'activité antioxydante.

Ce travail sera présenté comme suit :

- ❖ le premier chapitre traite des généralités sur la famille des des Fabaceae et du genre *Genista*.
- ❖ Le deuxième consacré à l' étude des flavonoïdes et des saponosides.
- ❖ le troisième est un aperçu sur les antioxydants.
- ❖ Les travaux personnels seront présentés dans le quatrième chapitre.

Étude bibliographique





***Chapitre I***  
***Aperçu bibliographique sur***  
***la famille des Fabaceae***  
***et le genre Genista***

## **I.1. L'ordre de Fabales :**

L'ordre des Fabales renferme 4 familles et environ 19 000 espèces. Les familles principales sont les Fabaceae, les Polygalaceae, les Surinaceae. Nous traiterons ici la famille de Fabaceae qui renferme l'espèce végétale que nous avons travaillée [5].

### **I.1.1. Les Fabaceae :**

Il s'agit de plantes herbacées, arbustes, arbres ou plantes grimpantes à lianes volubiles ou à vrilles. Elles possèdent un métabolisme azoté élevé et renferment des acides aminés non protéogéniques. Ces plantes sont souvent constituées de nodules racinaires contenant des bactéries fixatrices d'azote (*Rhizobium*). Dans de nombreux cas, elles sont constituées d'alcaloïdes, parfois de composés cyanogénétiques. Ses plantes ont une distribution quasi cosmopolite et se trouvent dans les zones tropicales, subtropicales ou tempérées [6]. Cette famille s'accommode d'une très large gamme d'habitats et inclut autant de plantes herbacées. Elle compte 18500 espèces classées en 720 –750 genres [7] et constitue avec les céréales, l'épine dorsale du système alimentaire. De nombreuses espèces sont utilisées comme sources protéiques dans l'alimentation humaine (fève, soja, haricot, pois chiche, lentille, etc.) [8].

### **I.1.2. Classification systématique et aspects botaniques :**

La famille Fabaceae est une famille de plantes dicotylédones. Pendant longtemps, elles ont porté le nom de Papilionaceae à cause de la forme particulière de leurs fleurs. De nombreuses légumineuses constituent une source majeure de protéines et huiles végétales [8] et sont largement cultivées sur l'ensemble de la planète. La classification actuelle des angiospermes place les Fabaceae dans l'ordre de Fabales et reconnaît trois sous-familles :

Faboideae (Papilionoideae), Caesalpinioideae et Mimosoideae. Les plantes Faboideae sont cosmopolites et se retrouvent presque dans tous les milieux du globe terrestre, alors que les plantes Mimosoideae et Caesalpinioideae sont plutôt tropicales. Bien que le terme Fabaceae soit actuellement préféré dans la nouvelle classification systématique APG (Angiosperm Phylogeny Group), le terme Leguminosae est encore couramment utilisé par certaines catégories de scientifiques. La position systématique des Fabaceae est présentée au [tableau I.1](#) suivant :

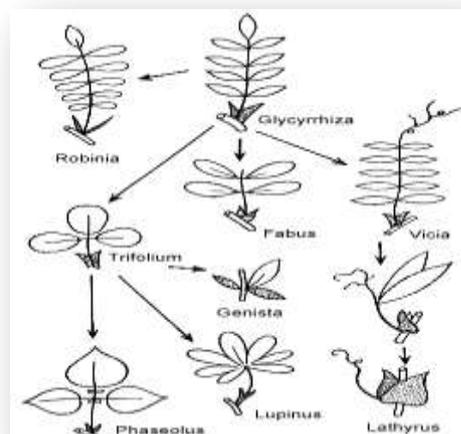
## Classification APGII (2003)

**Tableau I.1:** classification de la famille **Fabaceae** (Leguminosae) (APG II, 2003).

<b>Règne</b>	Plantae
<b>Embranchement</b>	Spermatophyta
<b>Sous embranchement</b>	Angiospermae
<b>Classe</b>	Eudicotyledonae
<b>Sous-classe</b>	Rosidae
<b>Ordre</b>	Eurosidae I
<b>Sous-ordre</b>	Fabales
<b>Famille</b>	<b>Fabaceae (Leguminosae)</b>
<b>Sous-famille</b>	Faboideae Mimosoideae Caesalpinoideae

La famille Fabaceae étant extrêmement vaste, nous allons nous intéresser pour la suite de la discussion, plus particulièrement à la sous-famille Faboideae qui est la plus importante de la famille. En effet, elle compte plus de 300 genres, dont une vingtaine représente la flore saharienne [9]. Les caractères morphologiques principaux des Faboideae sont les suivants :

- ✓ **Feuilles** : rarement simples, formées de plusieurs folioles (généralement au nombre de trois). (Figure I.1)

**Figure I.1 :** feuillet de La famille Fabaceae

- ✓ **Fleurs** : de type « papilionacé », corolle est plus nettement irrégulière, les deux pétales inférieurs sont soudés en une pièce unique dite *carène* (Figure I.2).



**Figure I.2** : Types de fleurs des Fabaceae : *Lathyrus latifolius*

- ✓ **Fruits** : Gousse ou légume (fruit sec, déhiscent par deux fentes). (Figure I.3)



**Figure I.3** : types de fruits de la famille des Fabaceae

### **I.1.3. Intérêts économiques et thérapeutiques de la sous-famille Faboideae :**

Une grande quantité de graines de diverses espèces herbacées de la sous-famille Faboideae, communément appelées légumes secs, sont une source alimentaire universelle autant humaine qu'animale. Ces plantes alimentaires de grande consommation comprennent entre autres *Arachis hypogaea* L, *Cajanus cajan* L., *Cicer arietinum* L., *Dolichos lablab* L., *Glycine max* Merr, *Glycyrrhiza glabra* L. Les jeunes feuilles fermentées et séchées d'*Aspalathus linearis* sont utilisées comme une alternative au thé, particulièrement en Afrique du Sud. La consommation de ce thé s'étend actuellement, même en Europe, d'autant plus qu'on leur prête des vertus antioxydantes [10].

Certains genres font parties des plantes ornementales les plus prisées autant dans les pays tempérés que tropicaux. Les plus connus étant *Cytisus* (les gènes), *Laburnum anagyroides* Medik, (la pluie d'or ou Cytise à grappes), *Lathyrus* (les gesses), *Lupinus* (les lupins), *Wisteria* (les glycines) et *Genista*. Ce dernier possède une espèce très utilisée en industrie pour ses propriétés colorantes, *Genista tinctoria* L. ou genêt des teinturiers, de même que certaines espèces d'*Indigofera* dont est tirée la teinture d'indigo [11,8]. De nombreuses Faboideae ont joué, un rôle important dans l'histoire de l'industrie pharmaceutique. Dans la majeure partie des cas, non pas pour leur utilisation en tant que médicaments, mais comme source de matière première (par ex. lécithines de *Glycine max* Merr.), de molécules actives, de molécules pour l'hémisynthèse de médicaments (par ex. phytostérols de *Glycine max* Merr. ou des saponines de *Trigonella foenum-graecum* L.) ou encore la physostigmine issue de *Physostigma venenosum* Balf. Cette dernière qui est un inhibiteur des cholinestérases, est utilisée comme antidote lors de l'intoxication réversible par les parasympatholytiques. Elle est aussi testée dans le traitement de la maladie d'Alzheimer [12].

### **I.1. 4.Toxicité de certains Fabaceae :**

Un nombre non négligeable des Papilionacées est toxique et il est important de noter que son ordre comporte plus de 16000 espèces dangereuses [13]. Les parties des plantes les plus souvent incriminées dans les empoisonnements sont les graines où sont accumulés les principes toxiques [14].

- *Terphasia* grossièrement pilées et jetées dans les cours d'eau préalablement barrée, elle est aussi utilisée pour la désinfection des animaux domestiques et les habitations).

Certaines espèces du genre *Coronille* sont toxiques à certain moment de leur développement spontanément, le bétail évite de les consommer dans ces périodes [15].

## **I.2.Présentation du genre *Genista* :**

### **I.2.1.Description botanique :**

Le genre *Genista* a été décrit pour la première fois par LINNE en 1753 ; il appartient à la famille des Légumineuses, sous famille Papilionacées et à la tribu des *Genistées* [16].

Selon [17], le genre *Genista* a un calice à 5 segments, les deux supérieurs libres ou soudés ; les trois inférieurs formant une lèvre à 3 dents profondes rarement. Le calice campanulé à 5 dents subégales, carène oblongue, droite ou presque biggibeuse latéralement étendard étroit, avec 10 étamines monadelphes en tube non fendu, 5 longues et 5 courts stigmatobliques. Gousse déhiscente, variable, arbrisseaux épineux ou parfois aphyllés et junciformes, les feuilles avec 1-3 folioles stipulées ou non les graines non arillées.

### **I.2.2. Usage traditionnel :**

Les espèces appartenant au genre *Genista* ne sont pas très utilisées en médecine traditionnelle si l'on se réfère à la littérature.

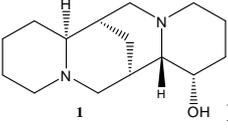
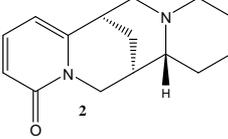
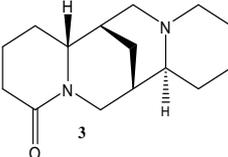
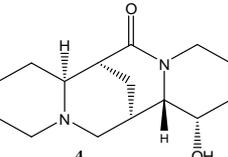
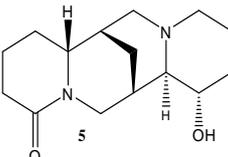
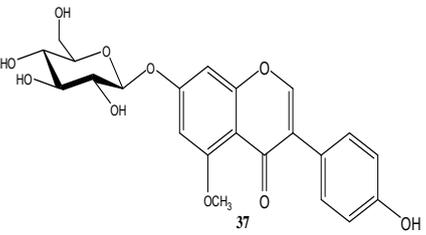
*Genista. anglica* et *Genista. germanica* : ses deux plantes sont préconisées en tant que diurétiques pour le traitement de néphrolithiase et encore contre la goutte [18, 19].

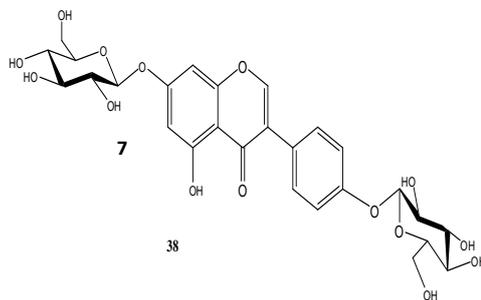
L'infusion des parties aériennes de *Genista tenera* : est utilisée dans la médecine traditionnelle Portugaise pour traiter le diabète [20].

### **I.2.3.Principaux métabolites secondaires des plantes du genre *Genista* :**

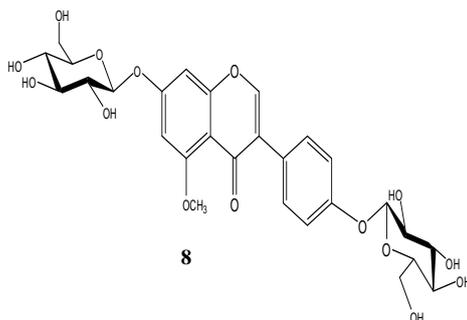
Les investigations chimiques réalisées sur le genre *Genista* ont révélé une richesse quasi exclusive en composés flavoniques (flavones, isoflavones, isoflavanes...) et alcaloïdes. L'ensemble des métabolites identifiés est rassemblé dans le **tableau I.2** ci-dessous.

**Tableau I.2:** métabolites secondaires des plantes du genre *Genista*

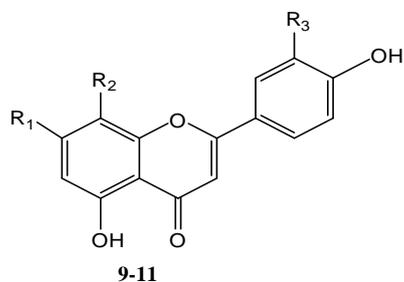
Type de composé	Molécules	Espèce
alcaloïdes quinolizidine	 <p>1 <b>Retamine (1)</b></p>  <p>2 <b>Anagrine (2)</b></p>	<i>G. ephedroides</i> [21,3]
	 <p>3 <b>Lupanine (3)</b></p>  <p>4 <b>17-oxoretamine (4)</b></p>  <p>5 <b>12-α- hydroxylupanine (5)</b></p>	
flavonoïdes et des isoflavonoïdes	 <p>6 <b>7-O-β-D-glucopyranoside isoprunitine (6),</b></p>	<i>G.morisii</i> [22]



7,4'-di-O-β-D-glucopyranoside genistéine (7)

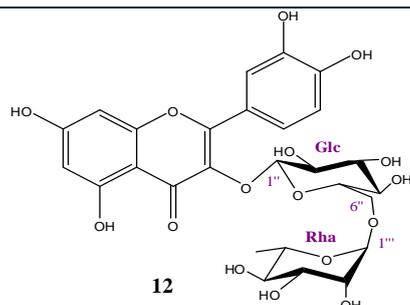


7,4'-di-O-β-D-glucopyranoside isoprunétine (8)



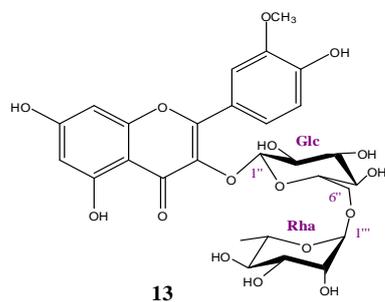
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
<b>9</b>	Oglc	H	OH
<b>10</b>	OH	glc	OH
<b>11</b>	OH	glc	H

flavonoides

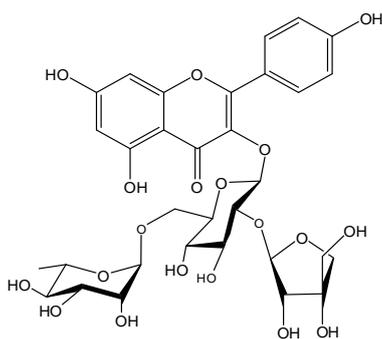


*G. ulicina*[23]

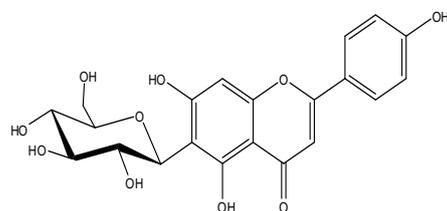
**-O-[ $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranosyl] quercétine (12)**



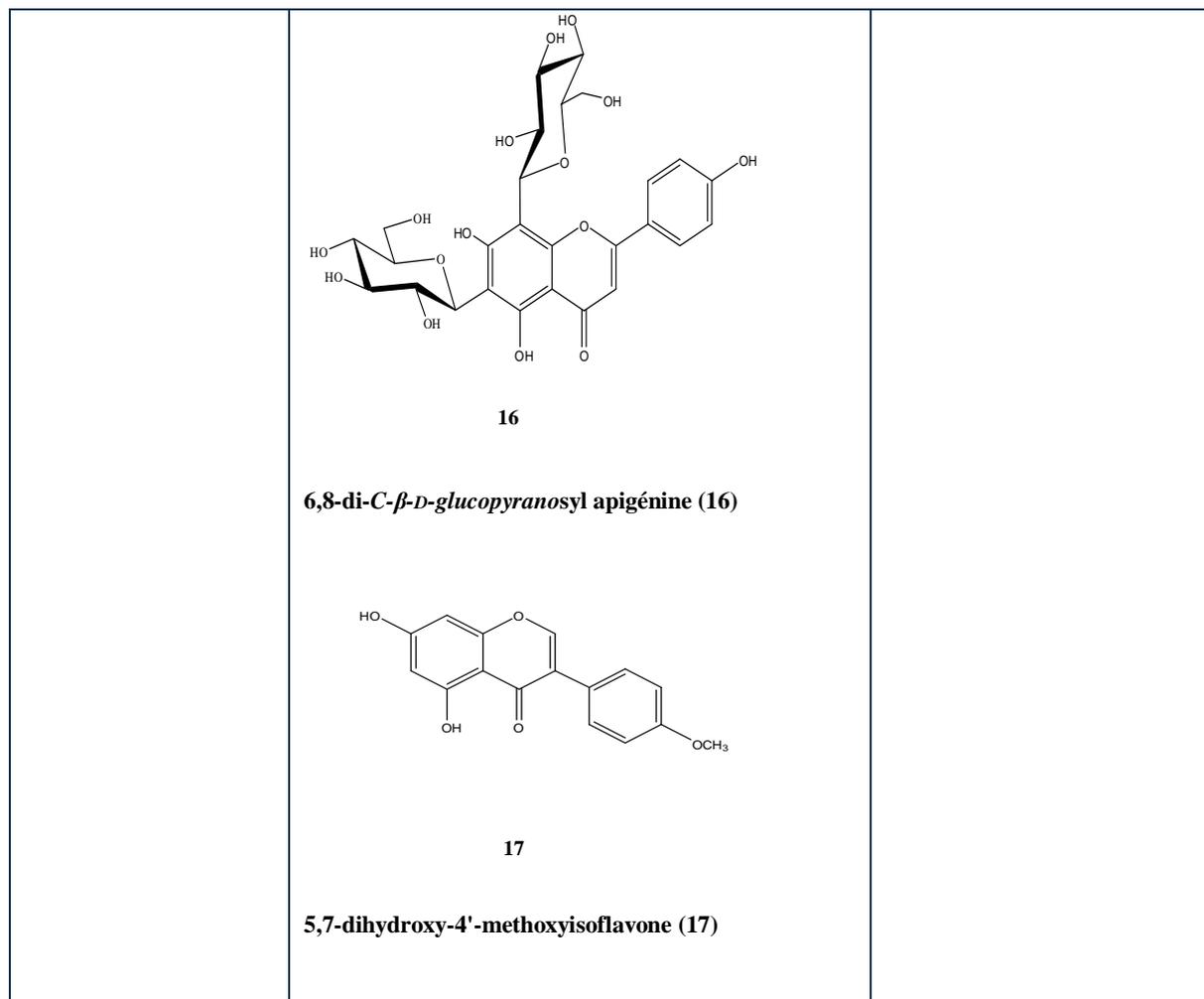
**3-O-[ $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranosyl] isorhamnétine (13)**



**3-O-[ $\beta$ -D-apio-furanosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranosyl] kaempférol (14)**



**6-C- $\beta$ -D-glucopyranosyl apigénine (15)**



### I.3. *Genista numidica* Spach :

D'après Quezel et Santa. *Genista numidica* Spach est une espèce endémique en Algérie. Elle est utilisée dans la construction des Lice des jardine, ou dans la médecine traditionnelle algérienne pour traiter certain maladie des yeux des nouveau-né. (Figure I.4).



**Figure I.4:** Carte présente l'aire géographique de *Genista numidica* Spach.

### I.3.1. Description botanique :

D'après [17] ; Cette plante a un calice fortement bilabié, lèvre supérieure à 02 dents triangulaires, l'inférieure à 03 dents sétacées, les tiges à feuilles persistantes les inférieures trifoliolées de 18-12mm. La Corolle velue soyeuse extérieurement l'espèce très variable. ( Figure I.5).



**Figure I.5:** Espèce *Genista numidica* Spach [24]

### I.3.2. Distribution et place dans la systématique :

C'est une plante endémique au Nord- Est Algérien. Elle fleurit du mois de mai au mois juillet. ( Tableau I.3).

**Tableau I.3:** classification de l'Espèce *Genista numidica* Spach

Règne	<i>Plantes</i>
Embranchement	<i>Spermatophytes</i>
Sous Embranchement:	<i>Angiospermes</i>
Classe	<i>Dicotylédones</i>
Ordre	<i>Fabales</i>
Famille	<i>Fabaceae</i>
Sous famille	<i>Papilionaceae</i>
Tribu	<i>Genisteae</i>
Genre	<i>Genista</i>
Espèce	<i>numidica Spach</i>

## *Chapitre II*

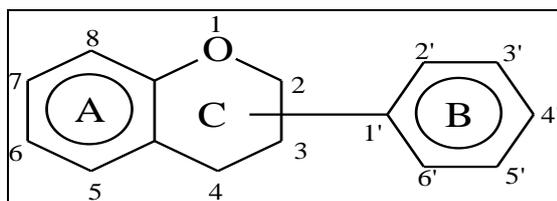
### *Les métabolites secondaires (flavonoïdes, saponosides)*



### II.1. Les flavonoïdes :

#### II.1.1. Définition:

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires issus des plantes, occupant une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Le terme flavonoïde provenant du mot latin « flavus » qui veut dire « jaune ». Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux bien qu'ils sont présent dans toutes les organes des plantes : feuilles, fleurs, graines, racines, etc. [25,26] On dénombre près de 6500 flavonoïdes répartis en 12 classes [27] et leur nombre ne cesse d'accroître. Par définition, les flavonoïdes sont des composés qui ont en commun la structure du diphenylpropane (C6-C3-C6) (Figure II.1); les trois carbones servant de jonction entre les deux noyaux benzéniques notés A et B forment généralement un hétérocycle oxygéné C [28]. On distingue différentes structures de flavonoïdes dont les flavones, flavonols, flavanones, flavanonols, flavanes, flavanols, flavylum, chalcones, aurones, isoflavones, isoflavonols, isoflavanes, ptérocarpanes, coumaronochromones, 3-arylcoumarines, coumestanes et autres roténoïdes.



**Figure II.1 :** Structure de base des flavonoïdes.

#### II.1.2. Biosynthèse :

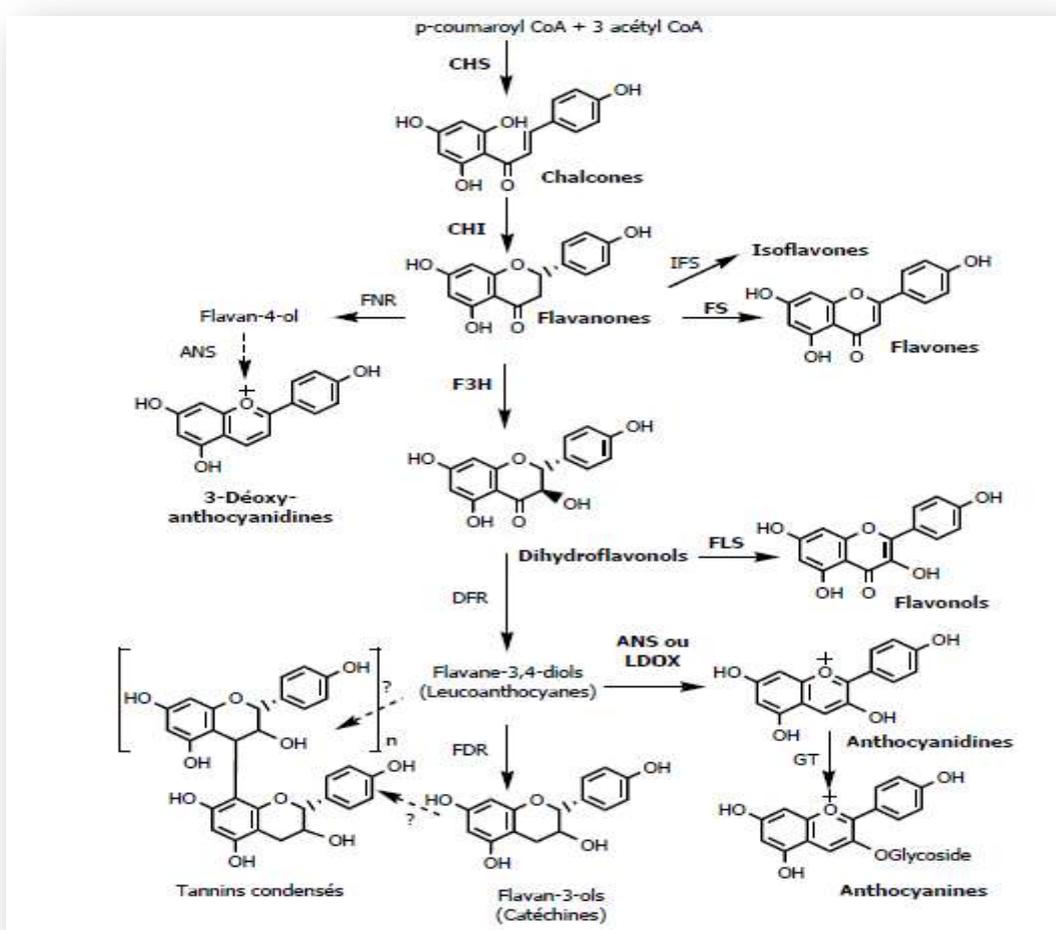
Les flavonoïdes possèdent tous le même élément structural de base, car ils dérivent d'une origine biosynthétique commune. Le cycle A est formé à partir de trois molécules de malonyl-coenzyme A (malonyl-CoA), issues du métabolisme du glucose. Les cycles B et C proviennent eux aussi du métabolisme du glucose, mais par la voie du shikimate via la phénylalanine qui est convertie en p-coumarate puis en p coumaroyl-CoA. [29].

### II.1.2.1. La voie de l'acide shikimique :

Les travaux de Davis ont montré le rôle de l'acide shikimique dans la formation du noyau B et l'élément central C-3 à partir du glucose [30].

### II.1.2.2 La voie malonate :

A travers cette voie s'effectue la cyclisation de la chaîne poly-cétonique obtenue par condensation répétée d'unités acétates, et catalysée par l'acétyl-CoA. (Figure II.2)



**Figure II.2:** biosynthèse des flavonoïdes

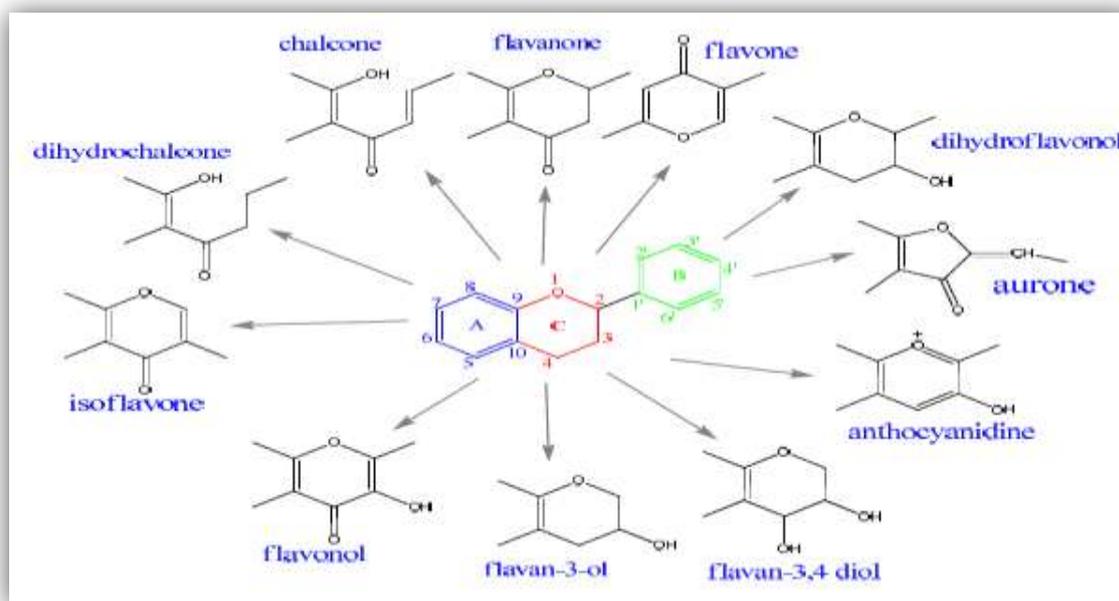
Grâce à des réactions enzymatiques, un grand nombre de sous-classes de flavonoïdes deviennent des intermédiaires, dont nous proposons de décrire quelques étapes clefs (Tableau II.1).

**Tableau II.1:** Molécules impliquées dans la biosynthèse des flavonoïdes

	Enzymes	Intermédiaires synthétisés
1	CHS (Chalcone synthase)	Chalcone
2	CHI (Chalcone Isomérase)	Flavanone
3	FS (Flavone Synthase)	Flavone
4	F3H (Flavanone-3-Hydroxylase)	Dihydroflavonol
5	FLS (Flavonol Synthase)	Flavonol
6	Chaîne enzymatique (FNR, ANS, GT)	Dérivés anthocyaniques

### II.1.3. classification :

Il y a plusieurs classes des flavonoïdes, qui diffèrent par leurs structures chimiques (Figure II.3)



**Figure II.3:** Les différentes classes des flavonoïdes [12].

**Tableau II.2 :** Exemples de quelques classes de quelques des flavonoïdes

FLAVONES	FLAVONOLS	FLAVONONE	ISOFLAVONES	CHALCONES	AURONES
Apigénine	Kaempférol	Eriodictyol	Génistéine	Butéine	Sulfurétine
Lutéoline	quercétine			Phlorétine	

### II.1.4. Propriétés biologique des flavonoïdes :

On attribue aux flavonoïdes des propriétés variées:

Les flavonoïdes parviennent à capturer les espèces réactives de l'oxygène associées au stress oxydatif, les empêchant ainsi de créer des dommages cellulaires. En effet, ils sont capables d'inactiver et de stabiliser les radicaux libres grâce à leur groupement hydroxyle fortement réactif. Ils inhibent aussi l'oxydation des LDL et, de ce fait, peuvent prévenir l'athérosclérose et diminuer les risques de maladies cardiovasculaires [31].

Les flavonoïdes sont capables d'exercer en plus des propriétés antioxydantes, des propriétés anti-inflammatoires, antiallergiques et antiulcérogènes [30]. Récemment, plusieurs études épidémiologiques ainsi que des études réalisées dans différentes lignées cellulaires ont démontré le potentiel antitumoral et anticancéreux des flavonoïdes [33, 34,35]

Les flavonoïdes agissent comme substances antimicrobiennes efficaces *in vitro* contre les microorganismes [36,37]. Ils peuvent aussi empêcher le diabète ou du moins le réduire en inhibant l'enzyme aldose réductase [39].

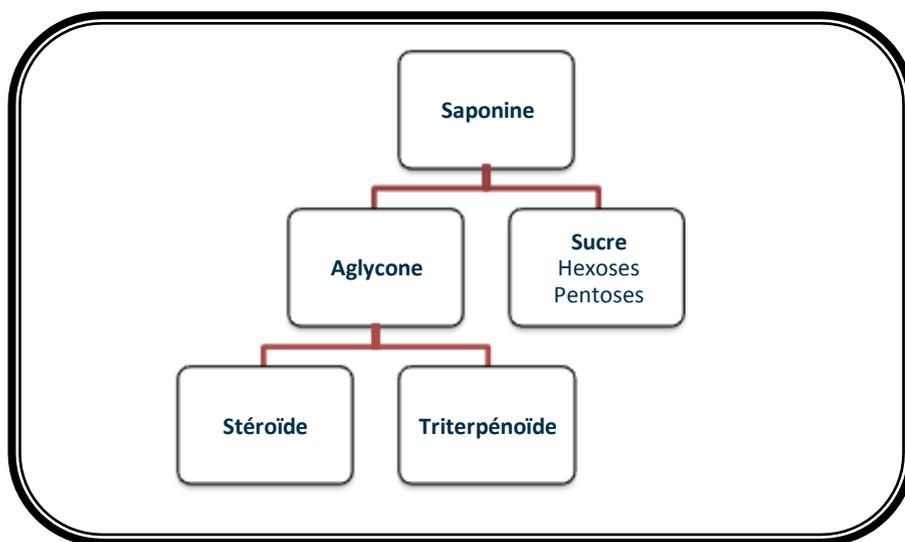
Les flavonoïdes sont : veinotonique, antiallergique, antispasmodique, hépatoprotectrice, estrogénique ou anti-estrogénique. Ils sont également connus pour moduler l'activité de plusieurs enzymes ou de récepteurs cellulaires. Les flavonoïdes favorisent la relaxation vasculaire et empêchent l'agglutinement des plaquettes sanguines. Par conséquent, ils réduisent la coagulation du sang et le rendent plus fluide. Ils limitent l'oxydation des lipides sanguins et contribuent à la lutte contre les plaques d'athérome. Ils sont aussi anxiolytiques et protègent nos artères contre l'athérosclérose et réduit la thrombose (caillots dans les artères)

## II.2. Saponosides :

### II.2.1. Définition :

Les saponines constituent un vaste groupe d'hétérosides très fréquents chez les végétaux. Ils sont caractérisés par leurs propriétés tensioactives car ils se dissolvent dans l'eau en formant des solutions moussantes [39]. Ils sont principalement produits par les plantes mais aussi par les organismes marins [40,41].

Structuralement, les saponines peuvent être classés en deux groupes selon la nature de la génine: les saponines à génines triterpéniques, de loin les plus nombreux existant chez les angiospermes dicotylédones et chez certains animaux marins et celles à génines stéroïdiques, presque exclusivement présentes chez les angiospermes monocotylédones [39], la phytothérapie et dans l'industrie cosmétique. (Figure II.4 )



**Figure II.4:** composition des saponines

### II.2.2. Classification :

Les saponosides peuvent être classés selon la nature de la génine [42]:

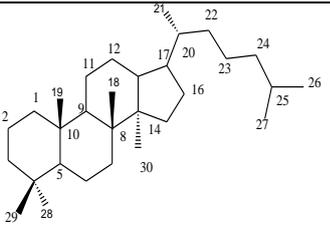
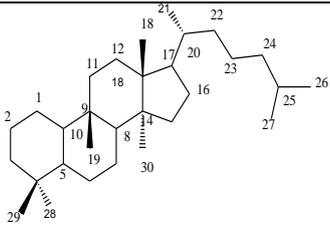
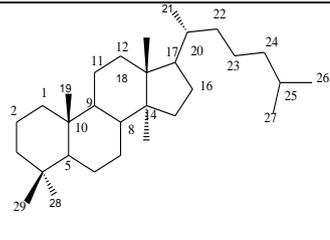
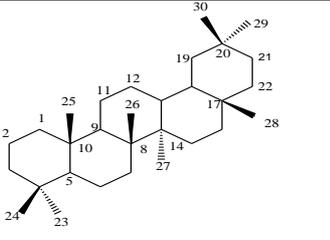
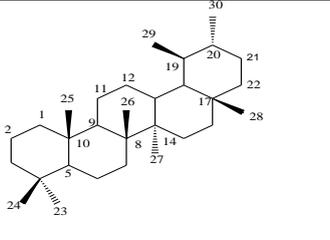
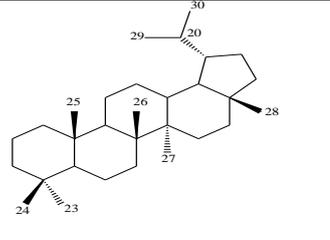
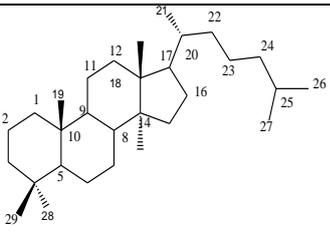
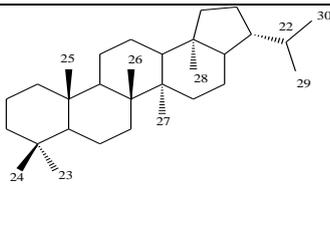
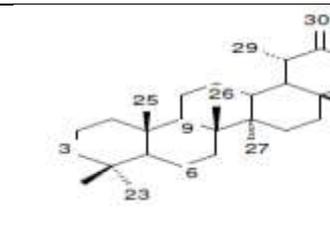
#### II.2.2.1. Génines triterpéniques (squelette à 30 carbones) :

## Chapitre II Les métabolites secondaires (flavonoïdes, saponosides)

Les sapogénines triterpéniques, comme la majorité des triterpénoïdes, possèdent un squelette à 30 carbones et sont issues de la cyclisation de l'époxy-2,3-squalène. Cette cyclisation conduit en premier lieu aux molécules tétracycliques (dammarane (1), cucurbitane (2), lanostane (3)) puis aux molécules pentacycliques (oléanane (4), ursane (5), lupane (6), friedlane (7), hopane (8), taraxastane (9)). (Tableau II.3)

Les génines triterpéniques pentacycliques sont les plus nombreuses : les oléananes, ou dérivés de la  $\beta$ -amyrine, largement majoritaires, les ursanes ou dérivés de l' $\alpha$ -amyrine et les lupanes. Plus de 50 % saponosides connus se rattachent au type  $\beta$ -amyrine, en particulier à l'acide oléanolique (l'oléan-12-ène).

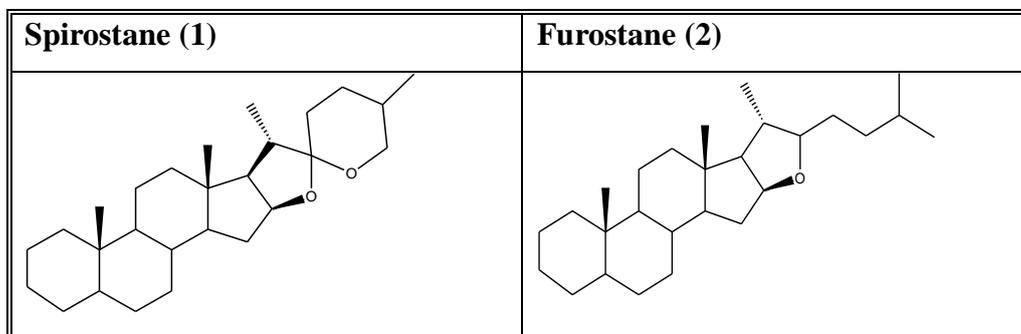
**Tableau II.3 : Génines triterpéniques**

Dammarane (1)	Curcurbitane (2)	Lanostane (3)
		
Oléanane (4)	Ursane (5)	Lupane (6)
		
Friedelane (7)	Hopane (8)	Taraxastane (9)
		

**II.2.2.2. Génines stéroïdiques (squelette à 24-29 carbones) :**

Elles possèdent un squelette hexacyclique à 27 atomes de carbones (spirostane) (1) ou pentacyclique (furostane) (2), ce dernier n'existant qu'à l'état hétérosidique dans la plante fraîche et résultant de l'engagement de l'hydroxyle en 26 dans une liaison osidique dont l'hydrolyse conduit spontanément au dérivé spirostanique. (**Tableau II.4**).

**Tableau II.4 :** Génines stéroïdiques



**II.2.2.3. Structure des hétérosides :**

Des chaînes osidiques se greffent sur les **génines** pour former les hétérosides ou saponosides.

Des acides organiques peuvent également estérifier l'aglycone ou les sucres.

Les oses et oligosides peuvent être liés à la génine par une liaison de type éther ou par une liaison de type ester

**II.2.3. Propriétés biologiques et pharmacologiques des saponines:**

Compte tenu de leur diversité chimique, les saponines présentent de multiples propriétés biologiques et pharmacologiques (**voir tableau II.5**)

**Tableau II.5:** Quelques propriétés biologiques et pharmacologiques des saponines (D'après Pubmed).

Effet sur le système de transport du glucose	Diurétique
Effet sur le système adrénocorticotrope	Cholérétique
Régulateur de la croissance des plantes	Analgésique, Sédative
Effet sur la fragilité des capillaires	Anti exsudatif, Expectorant
Spermicide et contraceptive	Répulsif
Réduction du cholestérol	Hémolytique
Réduction de l'alcoolisme	Anti-inflammatoire, Antioedémateux
Antileishmanien, Molluscicide	Insecticide
Antivirale, Antifongique	Anti protozoaire
Antiulcéreux, Immuno-modulateur	Effet cardiovasculaire
Anti tumoral et cytotoxique	Antivieillessement
Hypoglycémique, Edulcorant	Antimicrobien

A decorative graphic in the bottom-left corner of the slide, featuring purple and pink swirls, leaves, and circular patterns.

# *Chapitre III*

## *Les antioxydants*

### **III. Les antioxydants :**

#### **III.1. Généralités :**

L'oxygène est la source de vie pour les organismes aérobies. Mais l'oxygène peut être également une source d'agression pour ces organismes [42]. En effet des dérivés hautement réactifs de l'oxygène peuvent apparaître au cours des réactions enzymatiques ou sous l'effet des rayons U.V, des radiations ionisantes et de métaux de transition [42]. Les formes de l'oxygène provoquant ces troubles sont: l'oxygène singulet O<sub>2</sub>, le peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, les peroxydes alkyles ROOH, le radical superoxyde O<sub>2</sub>, les radicaux hydroxyles HO, peroxydes ROO et alkoxyles RO [43]. Les conséquences au niveau de l'organisme se font ressentir sur l'ADN, les lipides et les protéines [44].

#### **III.2. Définition d'un antioxydant :**

Un antioxydant est défini comme étant toute substance qui peut retarder ou empêcher l'oxydation des substrats biologiques [45], ce sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent ainsi inoffensifs [46]

#### **III.3. Principaux antioxydants :**

##### **III.3.1. Les antioxydants endogènes :**

Ce sont des enzymes ou protéines antioxydantes ( Superoxyde dismutase, Catalase et Glutathion peroxydase) élaborés par notre organisme avec l'aide de certains minéraux. Elles sont présentes en permanence dans l'organisme mais leur quantité diminue avec l'âge [47]

##### **III.3.2. Les antioxydants exogènes :**

Ils sont présents dans l'alimentation telle que les vitamines A, C, E et les polyphénols en particulier les flavonoïdes, ainsi que les cofacteurs des enzymes impliquées dans les systèmes anti-oxydants endogènes comme le sélénium, le zinc et le manganèse (Tableau III.1).

Ces antioxydants nutritionnels sont indispensables mais leur action est limitée jusqu'à ce qu'ils soient régénérés.

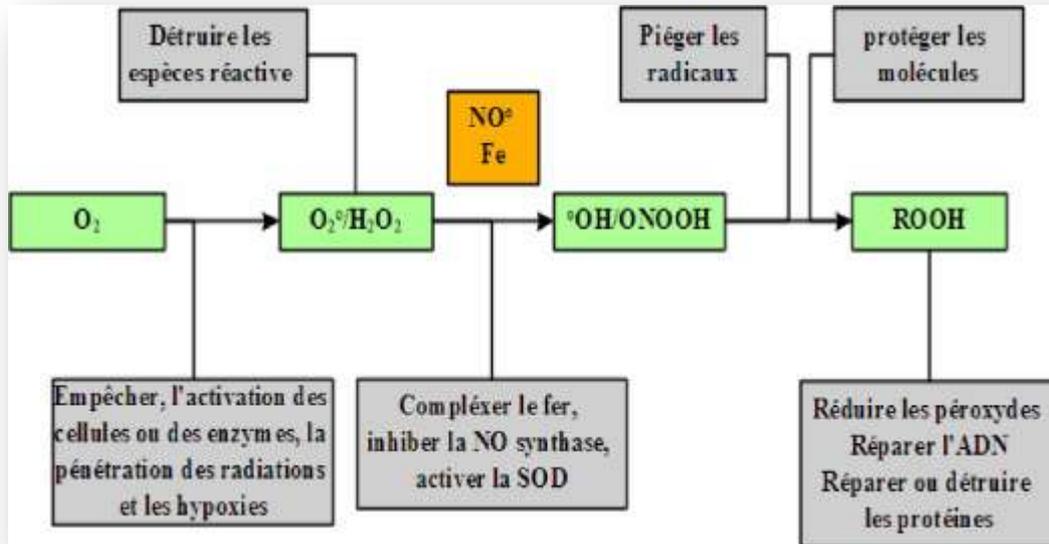
**Tableau III.1** : Exemples d'antioxydants retrouvés dans les aliments

Antioxydant	Protège contre	Sources
Vitamine C	Les maladies cardiovasculaires, les cataractes, et certains types de cancer	Agrumes, tomate, melon, fraise, kiwi, poivron, brocoli
Vitamine E	Les maladies cardiaques et cancer de la prostate, ralentit la maladie d'Alzheimer	Noix et graines, huiles, fruits et légumes
Caroténoïdes	Les cancers, en particulier le cancer du poumon, et les maladies cardiovasculaires	Carotte, patate douce, courge, brocoli, chou frisé, épinard ; fruits : abricot, pêche
Flavonoïdes	Cancer	Bleuet, cerise, canneberge, mûre, cassis, prune, raisin rouge
Sélénium	Réduction de l'incidence des cancers de la prostate, du côlon et du poumon	Céréales complètes, noix, oignon, ail, volaille, viande

#### III.4.Mécanismes d'action d'un antioxydant:

D'une manière générale, un antioxydant peut empêcher l'oxydation d'un autre substrat en s'oxydant lui-même plus rapidement que celui-ci. Un tel effet résulte d'une structure de donneur d'atome d'hydrogène ou d'électrons souvent aromatiques cas de dérivés du phénol. En plus leurs radicaux intermédiaires sont relativement stables du fait de la délocalisation par résonance et par manque de positions appropriées pour être attaqué par l'oxygène moléculaire. les antioxydants sont en fait des agents de prévention, ils bloquent l'initiation en complexant les catalyseurs, en réagissant avec l'oxygène, ou des agents de terminaison capables de dévier ou de piéger les radicaux libres, ils agissent en formant des produits finis non radicalaires. D'autres en interrompant la réaction en chaîne de peroxydation, en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puisse réagir avec un nouvel acide

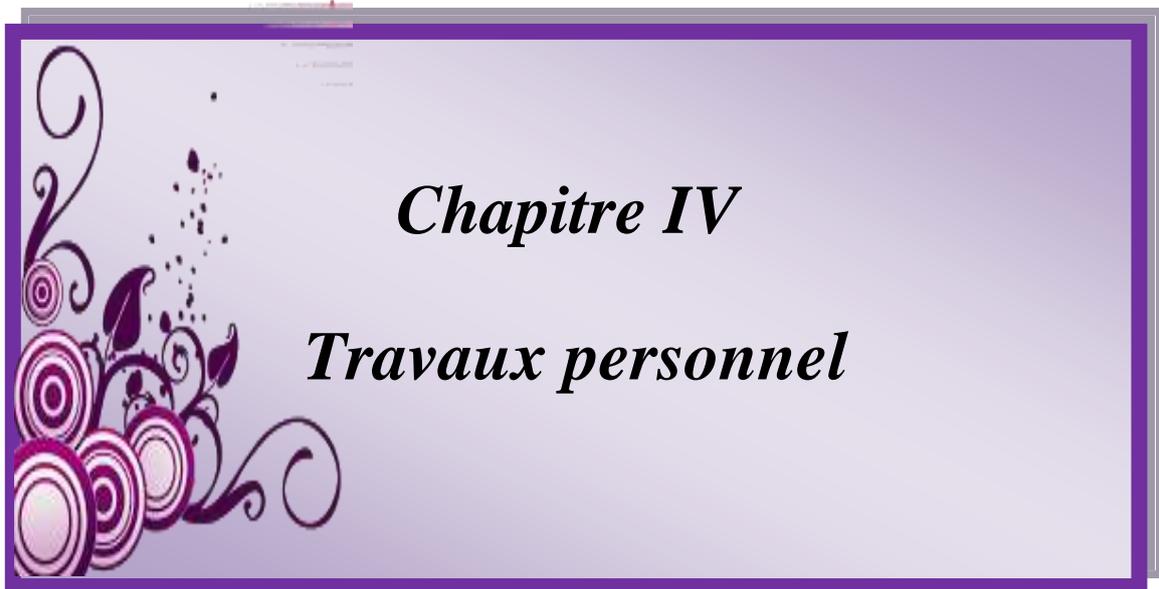
gras. Tandis que d'autres antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singulet pour la transformer en chaleur [48] (Figure III.1 )



**Figure III.1 :** Les différents mécanismes d'actions possibles des antioxydants



Étude expérimentale  
**Étude expérimentale**



## *Chapitre IV*

### *Travaux personnels*

**IV.1. Matériels végétale :****IV.1.2. Récolte de la plante *Genista numidica* Spach :**

Les tiges de *Genista numidica* ont été récoltées dans la région de Jijel (Nord Est Algérien) au mois de mai 2014. La récolte des plantes a été effectuée très soigneusement de manière à ne pas détériorer les éléments organiques et minéraux présents.

**IV.2. Matériel chromatographique :****IV.2. 1. Chromatographie sur couche mince (CCM) :**

Les analyses par chromatographie sur couche mince ont été effectuées avec des plaques de Silica gel 60 F254 sur feuille d'aluminium (Merck). Après développement dans des cuves en verre, les plaques sont observées à la lumière et sous lampe UV à 254 et 366 nm.

Les systèmes de solvants utilisés sont constitués principalement des mélanges de Méthanol/Chloroforme/ Eau.

Le révélateur utilisé est un mélange d'acides (acide sulfurique 10 % et acide acétique 10%) et de l'eau 25 %.

**IV.2. 2. Chromatographie liquide sous vide (VLC) :**

Cette technique est utilisée pour obtenir un fractionnement grossier de l'extrait brut. Elle est rapide et a l'avantage de consommer moins de solvants que les méthodes chromatographiques classiques. La rapidité de cette méthode évite les phénomènes d'isomérisations observées souvent dans le cas de la chromatographie sur colonne. Des chromatographies en phase inverse (sur une silice greffée Lichroprep RP-18 Merck 40-63  $\mu\text{m}$ ), sont préconisées pour les extraits polaires et silice Kieselgel Merck (70-230 mesh, 63-200  $\mu\text{m}$ ) pour les extraits apolaires. Les fractionnements ont été effectués dans un entonnoir cylindrique filtrant sur verre fritté n°4

### IV.2.3. Chromatographie CLHP :

L'appareillage utilisé au laboratoire est constitué d'une chaîne chromatographique. La chaîne est équipée d'une pompe, d'un détecteur UV/Visible et une colonne.

### IV.3. Extraction :

#### IV.3.1. Extraction des tiges de *G. numidica* Spach :

500g de matériel végétal constitué par les tiges de *Genista numidica*, préalablement séchés et pulvérisés, sont mis à macérer dans un mélange hydroalcoolique (Méthanol/Eau : 80 : 20 V/V). Cette macération est répétée 3 fois (3×24 h). Après filtration puis concentration à une température n'excédant pas 45°C, 25gd'extract méthanolique ont été obtenus.

Parallèlement à nos travaux phytochimiques sur les tiges de *Genista numidica*, nous avons travaillé aussi sur un autre extrait méthanolique des feuilles et fleurs de la même plante qui était préparé dans laboratoire LOST, afin de compléter nos connaissances sur les constituants chimiques de cette plante.( **Figure IV.1** )



**Figure IV.1:** préparation de l'extrait méthanolique des tiges de *G. numidica* Spach

### **IV.3.2. Criblage phytochimique des extraits méthanoliques des tiges et de feuilles-fleurs de *G. numidica* Spach:**

Les procédures décrites par Harbone (1973) [49] ont été utilisées pour la mise en évidence des différents groupes chimiques des trois extraits. Les flavonoïdes ont été caractérisés par le test Cyanidine, les polyphénols par le test de chlorure ferrique et les tanins par le test de Stiasny. Le test de Liebermann-Buchard a permis de caractériser les triterpènes. La caractérisation des saponosides est basée sur l'apparition des mousses après agitation des extraits.

#### **IV.3.2. 1.Criblagephytochimique par CCM et CLHP:**

Les extraits méthanoliques des tiges et de feuilles-fleurs de *G. numidica* Spach ont été analysés par chromatographie sur couche mince (CCM). et chromatographie liquide haute performance (CLHP) analytique afin d'avoir une idée sur le nombre de produits à séparer. Le développement des plaques CCM s'effectue dans l'éluant approprié. L'observation se fait sous la lampe UV à 254 et 366 nm est suivie d'une révélation avec le réactif de Dragendorff pour les alcaloïdes et le réactif universel à base d'un mélange de (acide sulfurique 10 % et acide acétique 10%) et de l'eau 25 %.

L'analyse par CLHP analytique des extraits hydro-alcooliques (5mg/ml CH<sub>3</sub>OH) est effectué sur silice greffée C<sub>18</sub> à l'aide du gradient CH<sub>3</sub>CN : H<sub>2</sub>O : HCOOH 0,025% (10:90 à 37:63) pendant 31 min puis (37:63 à 850:50) pendant 15 min.

#### **IV.3.2.2. Screening phytochimique par réactions colorées :**

Les principaux constituants chimiques ont été caractérisés dans l'extrait méthanolique des tiges de *G. numidica*, par des réactions colorées et des observations sous lumière ultraviolette, utilisant les techniques analytiques décrites dans la littérature [50-51], à fin d'avoir une idée sur la nature de métabolites secondaires

**A. Mise en évidence des flavonoïdes :**

Les flavonoïdes ont été mis en évidence dans l'extrait méthanolique des tiges par la réaction à la **cyanidine**. En présence de 1ml de l'acide chlorhydrique et 1ml de l'eau distillé et de quelques copeaux de magnésium, la solution d'extrait prend la couleur rose orange (flavones) ou rose violacé (flavonones) ou rouge cerise (flavonols) apparaît sur la couche surnageant du mélange ce qui indique la présence d'un flavonoïde libre.

**B. Mise en évidence des polyphénols :**

Les tannins hydrolysables et les tannins catéchiques ou condensés sont des polymères de polyphénols. Ces derniers ont été mis en évidence par la réaction au chlorure de  $\text{FeCl}_3$  dans l'extrait.

À 2 ml d'extrait méthanolique sont additionnées quelques gouttes d'une solution aqueuse de  $\text{FeCl}_3$  à 10%. L'apparition d'une coloration bleu-noir ou vert-noir indique la présence de polyphénols.

Les tanins catéchiques sont identifiés par le réactif de **Stiasny** (10 ml de formaldéhyde + 5 ml d'acide chlorhydrique concentré). L'ajout de 5 ml de ce réactif à 10 ml de chaque extrait entraîne la formation d'un précipité rouge caractérise les tanins catéchiques.

**C. Mise en évidence des stérols et triterpènes :**

La mise en évidence des stérols et triterpènes est fondée sur la réaction de Lieberman-Burchard. À 2 ml d'extrait méthanolique sont additionnées 0.5ml d'anhydride acétique puis de 0.5ml de chloroforme. L'ajout de 1ml d'acide sulfurique concentré entraîne (la réaction est effectuée à froid) la formation d'un anneau rouge brunâtre ou violet, avec coloration de la couche surnageante de vert ou de violet, traduit la présence de stérols et de triterpènes.

**D. Mise en évidence des saponines :**

Les saponosides sont connus pour leurs propriétés détergentes et leur capacité moussante. La mise en évidence des saponosides repose ainsi sur leur faculté à former une mousse

persistante. Leur présence est déterminée qualitativement par l'apparition, après agitation, de mousse persistante pour plus de 15 min.

✓ **Indice Mousse (IM) :**

Dans 11 tubes à essais calibrés (tous de même diamètre), introduire les quantités selon le **tableau IV.1**. Ces tubes sont agités pendant 15 secondes puis laissés au repos pendant 15 min.

**Tableau IV.1:** Gamme de dilutions décroissante de l'extrait méthanolique pour la mesure de l'indice de mousse.

<b>Tube</b>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
<b>Extrait méthanolique (ml)</b>	0	0.5	1	1.5	2	2.5	3	3.5	4	4.5	5
<b>Eau (ml)</b>	10	9.5	9	8.5	8	7.5	7	6.5	6	5.5	5

Une hauteur de mousse persistante, supérieure à 1 cm indique la présence de saponosides.

$$\text{IM} = \text{inverse } C \times D$$

**C :** Concentration initiale de l'extrait

**D :** Dilution dans le tube ou la mousse >1

**E : Mise en évidence des alcaloïdes :**

Pour mettre en évidence les alcaloïdes, le réactif de **Dragendorff** a été utilisé. L'ajout de quelques gouttes de ce réactif (0,80 g de nitrate basique de bismuth, 10 ml d'acide acétique glacial et 40 ml d'eau distillée) à 2 ml de la solution d'extrait entraîne la formation d'un précipité de coloration rouge-orangé caractéristique de la présence des alcaloïdes.

**IV.4. Fractionnement de l'extrait méthanolique :**

Pour faciliter l'accès aux composés purs, nous avons choisi de réaliser un fractionnement de l'extrait méthanolique en utilisant une technique chromatographique particulière : la

chromatographie liquide sous vide (VLC) utilisant comme phase stationnaire le gel de silice greffé en C-18 et un mélange eau/méthanol à différents gradients (70/30, 60/40, 40/60, 20/80, 0/100) comme phase mobile. Des fractions de 250 ml (\*3) sont recueillies pour chaque mélange et analysées par chromatographie sur couche mince.

Cette technique chromatographique est particulièrement employée pour le fractionnement d'extraits végétaux complexes, permettant l'obtention rapide de fractions chimiquement simplifiées.



**Figure IV.2 :** chromatographie liquide sous vide (VLC)

Le suivi de la VLC est effectué par CCM dans le système 80:20:0.5 ( $\text{CHCl}_3$  : MeOH :  $\text{H}_2\text{O}$ ) et 70:30:2. Les CCM ont été examinées à la lumière UV et révélées avec le mélange d'acides (acide sulfurique 10 % et acide acétique 10%) et de l'eau 25 %. puis chauffées à 100 °C. 8 fractions (figure IV.2) ont été récoltées après rassemblement des fractions présentant des similitudes (tableau V.2)

## **IV.5. Dosage des composés phénoliques :**

### **IV.5.1. Principe de la réaction des polyphénols :**

L'estimation de la teneur en composés phénoliques totaux a été réalisée par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu décrite dans la littérature [52]. Cette méthode est basée sur la réduction en milieu alcalin de la mixture phosphotungstique ( $\text{WO}_4^{2-}$ ) phosphomolybdique

( $\text{MoO}_4^{2-}$ ) de réactif de Folin par les groupement oxydables des composés phénoliques, conduisant à la formation de produits de réduction de couleur bleue. Ces derniers présentent un maximum d'absorption à 765 nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon [53].

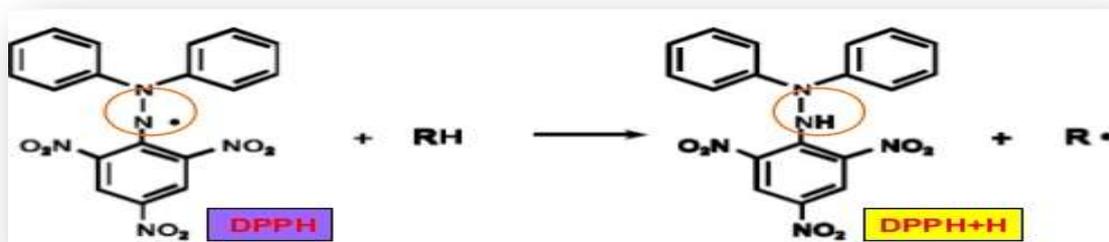
Brièvement, une prise de 125 $\mu\text{l}$  de l'échantillon dilué de l'extrait méthanolique de *G. numidica* est mélangée avec 500  $\mu\text{l}$  d'eau distillée et 125 $\mu\text{l}$  de réactif de Folin-Ciocalteu. Après une agitation du mélange suivie d'un repos de 3 minutes on rajoute 125 $\mu\text{l}$  d'une solution de carbonate de sodium à 2 %. Enfin le mélange obtenu est ajusté par de l'eau distillée à 3 ml. 3 ml du réactif de Folin-Ciocalteu à 1 N sont additionnés ; après 90 minutes d'incubation à température ambiante, la lecture des densités optiques (DO) est faite à 760 nm contre un blanc.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions expérimentales en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif à concentrations finales allant de 50 à 500  $\mu\text{g/ml}$ . La teneur des composés phénoliques est exprimée en équivalents de mg d'acide gallique (EAG) /g de plante sèche. Tous les essais sont reproduits au moins trois fois [54]

#### IV.6. Evaluation de l'activité antiradicalaire :

Afin d'étudier l'activité antiradicalaire de l'extrait méthanolique des tiges de *G. numidica* nous avons utilisé la méthode du DPPH (1,1-diphényl-di-picrylhydrazyl), radical libre stable de couleur violette en solution et présentant une absorbance caractéristique à 517 nm.

La mesure de l'efficacité d'un anti-oxydant se fait en suivant la diminution de la coloration bleue, due à une recombinaison des radicaux DPPH $\cdot$ , mesurable par spectrophotométrie à  $\lambda = 517 \text{ nm}$  [55] On peut résumer la réaction sous la forme suivante :



**Figure IV.3 :** Réaction du radical DPPH

(RH) représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH (violet) pour le transformer en diphenylpicryl hydrazine (jaune). Ceci permet de suivre la cinétique de décoloration à 517 nm.

Brièvement, un volume de 30 µl de différentes concentrations de chaque extrait est ajouté à 3 ml de la solution méthanolique du DPPH (0,04 g/l) fraîchement préparée. En ce qui concerne le contrôle négatif, ce dernier est préparé en parallèle en mélangeant 30 µl du méthanol avec 3 ml d'une solution méthanolique de DPPH.

Après incubation à l'obscurité pendant 30 minutes et à température ambiante, la lecture des absorbances est effectuée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre, contre un blanc pour chaque concentration qui contient 30 µl de chaque concentration de l'extrait et 3 ml du méthanol.

La quercétine dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que l'extrait et pour chaque concentration le test est répété 3 fois. Les valeurs obtenues sont transformées ensuite en pourcentages d'inhibition en utilisant la formule suivante :

$$I\% = \frac{(\text{Abs contrôle} - \text{Abs extrait})}{\text{Abs contrôle}} \times 100$$

#### Détermination de la valeur CI<sub>50</sub> :

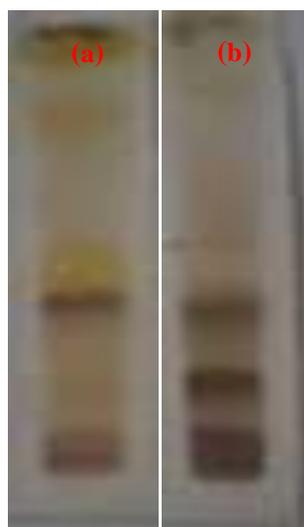
Le graphe de la variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait méthanolique, le seul qui a été soumis à l'évaluation de l'activité antioxydante, permet de déterminer l'IC<sub>50</sub>. Cette valeur est comparée à celle trouvée pour le composé de référence.



*Chapitres V*

*Résultats et discussion*

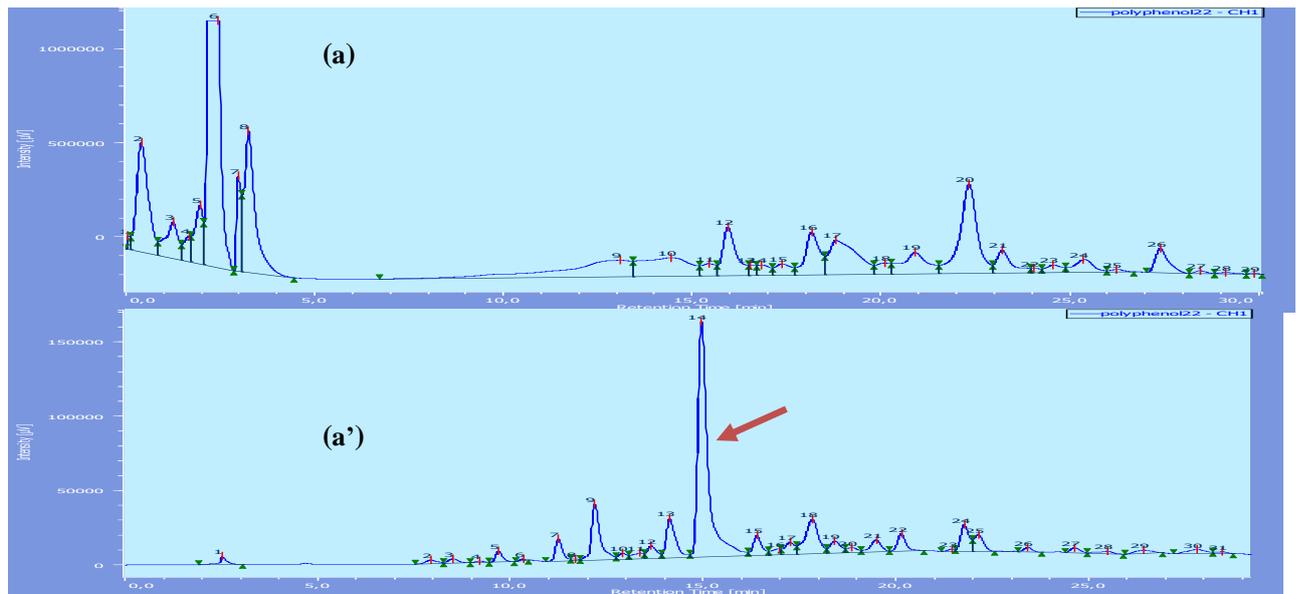
## V. 1. Criblage phytochimique par CCM et CLHP :



**Figure V. 1:** les chromatogrammes des 2extraits méthanolique des feuilles-fleurs (a) et des tiges (b).

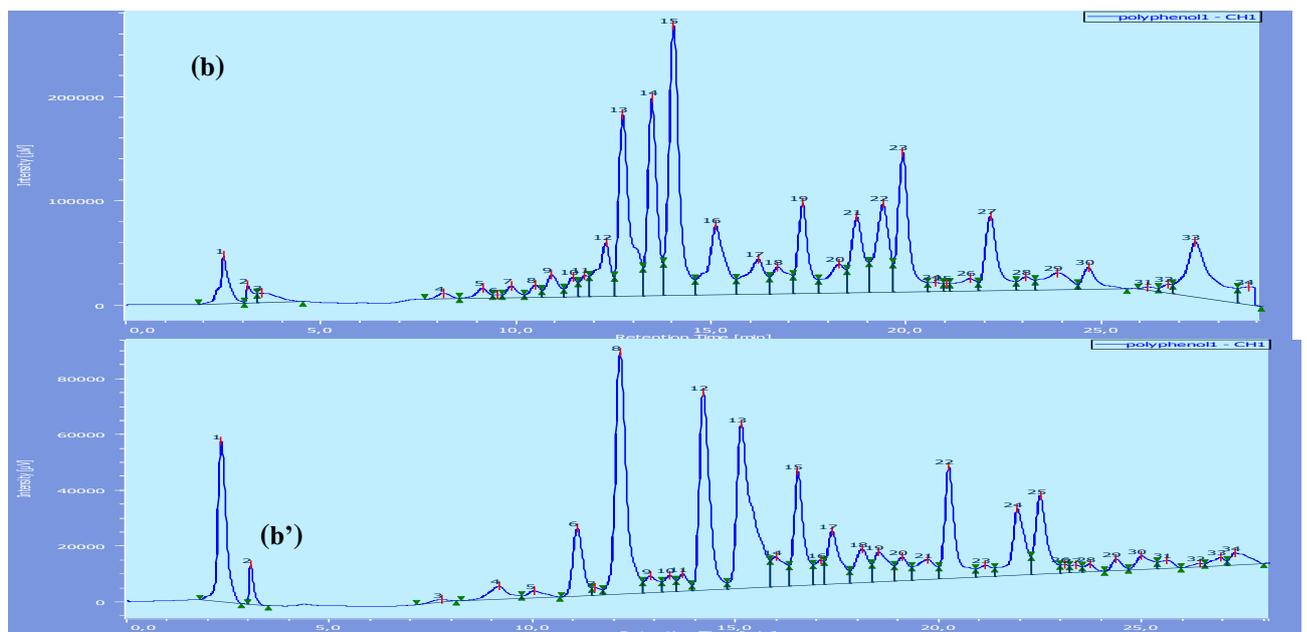
La chromatographie sur couche mince après la révélation par l'UV à 254-366 nm et le réactif de l'acide sulfurique et l'acide acétique a montrée plusieurs taches dans chaque extrait de type flavonoides et saponosides. Ce type de métabolites secondaires a été mis en évidence et purifiés à partir de différents végétaux. Par exemple, [23] ont identifié et purifié 6 flavonoïdes et 14 saponosides à partir de l'extrait butanoliques de *G. ulicina*

Les CCM réalisées sur les deux extraits méthanoliques des feuilles-fleurs (a) et des tiges (b) ont montré une composition chimique plus riche au niveau de l'extrait méthanoliques des tiges surtout en saponosides.



**Figure V.2:** Chromatogramme CLHP analytique de l'extrait méthanolique des feuilles-fleurs (a) et des tiges (a') à 325nm de *G. numidica*

En examinant les chromatogrammes CLHP des de deux extraits, nous remarquons un profil presque identique pour les tiges (a') et les feuilles et fleurs (a) de *G. numidica*, exception majeure faite du pic ayant un  $t_r = 15,5$  min que l'on retrouve plus intense dans l'extrait des tiges et celui des feuilles et fleurs.



**Figure V.3:** Chromatogrammes CLHP analytiques des deux extraits méthanolique des feuilles-fleurs (a) et des tiges (a') à 280 nm de *G. numidica*.

La comparaison des Chromatogrammes des deux extraits à 280 nm a montré que les deux extraits sont riches en composés phénoliques (absorption à 280 nm) qu'ils sont qualitativement identiques mais quantitativement différents. En effet, la quantité des composés est plus importante dans l'extrait méthanolique des tiges (b').

Vu la richesse de l'extrait méthanolique des tiges de *G.numidica* en métabolismes secondaire nous nous sommes intéressés en priorité à cet extrait pour réaliser la suite de notre étude phytochimique.

## V. 2. Screening phytochimique par réactions colorées :

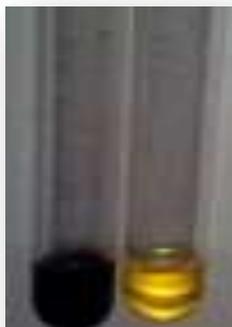
Les résultats du criblage sont résumés dans le tableau ci-après.

**Tableau V.1:** Résultats du criblage phytochimique des tiges de G

Groupe chimique	Résultats
Polyphénols	Présence
Tanins	Absence
Flavonoïdes	Présence
Terpenoïdes et/ou stérols	Présence
Saponosides	Présence
Alcaloïdes	Absence

### A. Recherche des polyphénols :

Après avoir ajouté quelques gouttes d'une solution aqueuse de  $FeCl_3$  à 10% à 2 ml d'extrait méthanolique, l'apparition d'une coloration noirâtre indique la présence des polyphénols dans la plante



**Figure V.4:** Caractérisation des polyphénols

Les tanins condensés ont été mis en évidence dans l'extrait méthanolique par le réactif de **Stiasny**, l'absence d'une coloration rouge indique l'absence des tanins condensés dans la plante.

### **B. Recherche des flavonoïdes :**

Les flavonoïdes ont été mis en évidence dans l'extrait méthanolique par la réaction de cyanidine (**Figure V.5**). D'après ce test ces composés phénoliques sont fortement présents dans cet extrait.



**Figure V.5 :** La réaction de cyanidine.

### **C. Recherche des stérols et triterpènes :**

D'après le test de Liebermann-Burchard, on note la présence des stérols et/ou triterpènes dans l'extrait méthanolique (**Figure V.6**).



**Figure V.6:** La réaction de Liebermann-Burchard

#### D. Recherche des saponines :

La caractérisation des saponosides dans l'extrait méthanolique a montré que ces composés sont fortement présents. Le tube qui a montré une hauteur de 1cm de mousse persistante est le tube N°04 donc  $IM \approx 667$ , ce qui explique une teneur importante en saponines (figure V.7).



**Figure V.7:** Caractérisation des saponosides

$$IM = \text{l'inverse } C \times D$$

C : Concentration initiale de l'extrait méthanolique).  $= \frac{1}{100}$

D : Dilution dans de tube N°4  $= \frac{1.5}{10}$ .

$$\frac{1}{100} \times \frac{1.5}{10} = \frac{1.5}{1000}$$

$$IM = \text{l'inverse} \frac{1.5}{1000} = \frac{1000}{1.5} \approx 667 > 100.$$

### E. Recherche des alcaloïdes :

Le test spécifique pour la caractérisation des alcaloïdes n'a pas donné de résultat avec l'extrait méthanolique après l'utilisation du réactif spécifique. Donc les alcaloïdes sont dépourvus dans notre extrait.



**Figure V. 8:** Caractérisation des alcaloïdes

### V.3. Fractionnement de l'extrait méthanolique

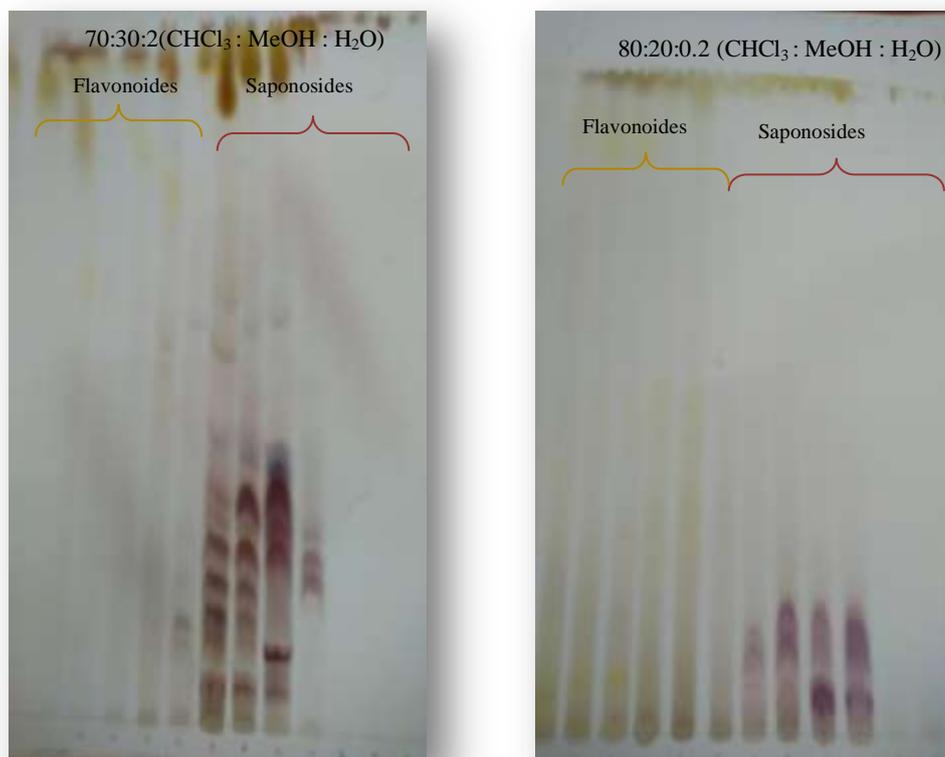
L'extrait méthanolique, des tiges de *G. numidica* Spach a subi un premier fractionnement par chromatographie liquide sous vide (VLC) sur gel de silice greffé en C-18 éluée avec un gradient de MeOH – H<sub>2</sub>O. 8 fractions (figure V.9) ont été récoltées après rassemblement des fractions présentant des similitudes (tableau V.2).

Le suivi par CCM révélée avec le réactif de l'acide acétique sulfurique nous a permis déterminer les composés phénolique plus particulièrement les flavonoides dans les premier fractions [F1-F5] et les saponosides dans les derniers [F6 et F7].

Les résultats du criblage phytochimiques et du fractionnement de l'extrait méthanolique obtenus tout au long de ce travail, ne peuvent qu'encourager l'investigation phytochimique sur cette espèce afin de d'isoler et purifier les composés de cet extrait.

**Tableau V.2:** VLC sur C<sub>18</sub> de l'extrait méthanolique de *G. numidica*.

Eluant: MeOH – H <sub>2</sub> O	Fractions collectées
30 :70	F1 F2
40 : 60	F3
60 :40	F4 F5
80 :20	F6
100 :0	F7 F8

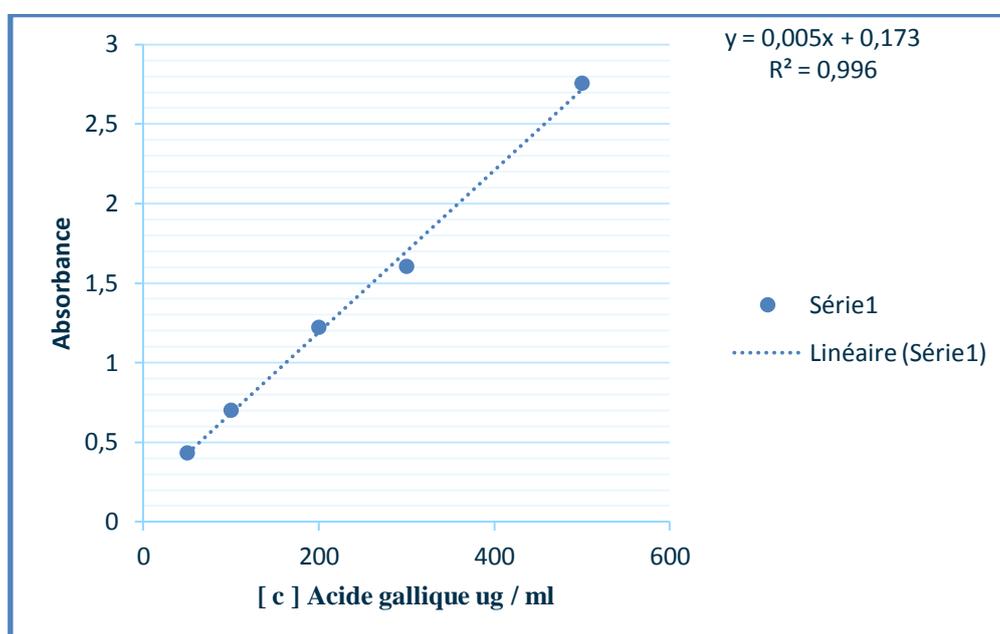
**Figure V.9:** Profils CCM sur gel de silice de l'extrait méthanolique.

#### V.4. Dosage des polyphénols totaux

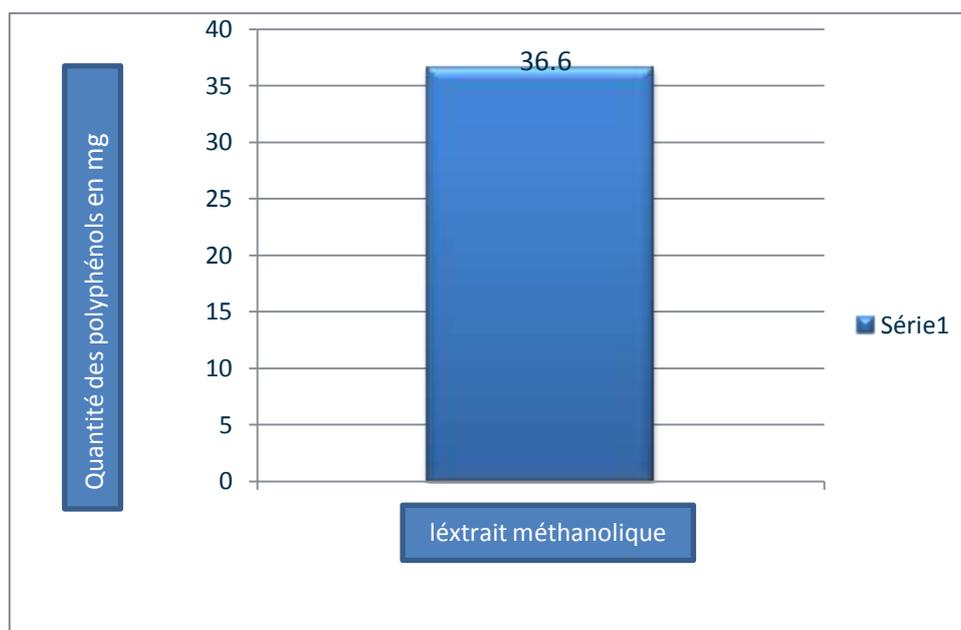
L'étude quantitative de l'extrait méthanolique, préparé à partir des tiges de *G. numidica* Spach au moyen du dosage spectrophotométrique avait pour objectif la détermination de la teneur

des polyphénols totaux. La raison principale pour le choix de ces substances réside dans le fait que la majorité des effets pharmacologiques des plantes leur sont attribués

La teneur en polyphénols est enregistrée en équivalent d'Ac gallique en microgramme par milligramme d'extrait ( $\mu\text{g EAG}/\text{mg}$  d'extrait). La coloration produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présente dans les extraits végétaux. D'après les résultats obtenus, nous avons remarqué que la plante étudiée a présenté une teneur en polyphénols estimée légèrement moyenne dans les tiges *G. numidica* Spach. En interrogeant les différentes bases de données bibliographiques, nous n'avons pas trouvé d'articles qui ont étudié les tiges du genre *Genista* en matière d'étude phytochimique ou biologique.



**Figure V.10:** Droite d'étalonnage de l'acide gallique (moyenne  $\pm$  SD de trois essais)

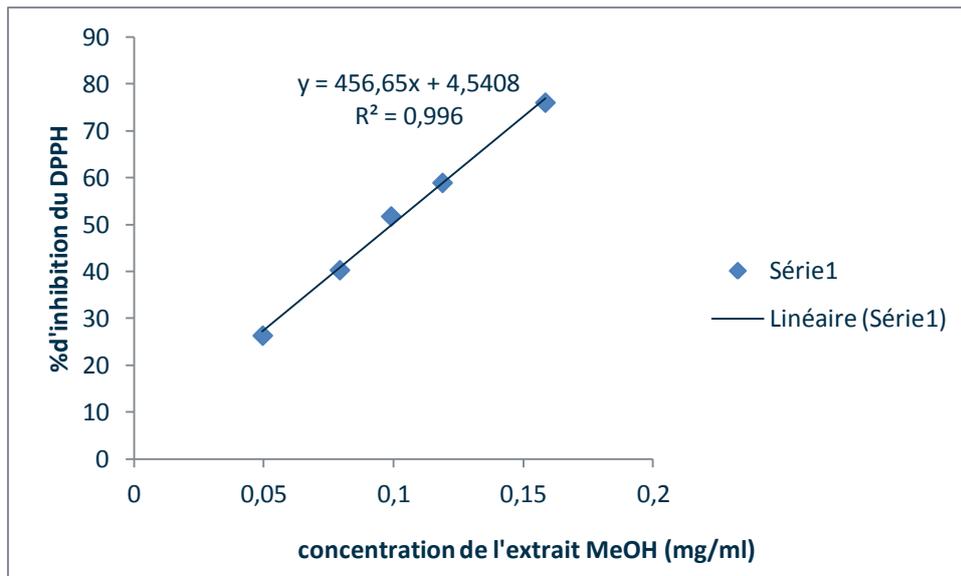


**Figure V.11:** Teneur en polyphénols totaux (en mg/g d'extrait)

Le résultat du dosage des polyphénols (figure V.11) montre que l'extrait méthanolique des tiges de *G. numidica* spach contient (36.6 EAG/mg d'extrait)

### 8. Evaluation de l'activité antiradicalaire :

La mesure de l'absorbance (ou densité optique DO) a été effectuée par spectrophotométrie à 517 nm. A partir des valeurs obtenues, nous avons calculé les pourcentages d'inhibition en utilisant la formule donnée auparavant. Les valeurs obtenues ont permis de tracer la courbe (Figure V.12) qui représente la variation du pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations de l'extrait méthanolique. Nous avons déterminé graphiquement la concentration correspondant à 50 % d'inhibition ( $CI_{50}$ ), qui constitue l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique des tiges de *G. numidica* Spach



**Figure V.12:** Courbe de pourcentage d’inhibition du DPPH par l’extrait méthanolique des tiges de G

Selon l’équation du graphe suivante :  $Y = 456.65x + 4.5408$

Y=50%, la CI<sub>50</sub> sera calculée comme suit :

$$X = (50 - 4.5408) / 456.65 = 0.09954 \text{ mg/ml}$$

$$\text{CI}_{50} = 99.54 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

**Tableau V.3:** Les valeurs de CI<sub>50</sub> de extrait MeOH et de la quercétine

	CI <sub>50</sub> (µg/ml)	Quercétine
Extrait MeOH	99.54	12.6 µg/ml

L’activité antiradicalaire de l’extrait méthanolique a été évaluée par leur activité inhibitrice sur une solution méthanolique de DPPH, mesurée à 517 nm. Le standard utilisé était la quercétine. Cette activité a été illustrée dans la Figures V.12. D’après la Figure V.12, on constate que notre l’extrait méthanolique possède une activité antiradicalaire dose dépendante La concentration qui fournit 50 % d’inhibition (CI<sub>50</sub>) calculée à partir de la courbe de la

Figure V.12 est de l'ordre de 99.54  $\mu\text{g/ml}$ . Le pouvoir antioxydant de la quercétine (12.6  $\mu\text{g/ml}$ ) reste supérieur à l'extrait méthanolique des tiges de l'espèce *G. numidica* Spach avec cette valeur 99.54  $\mu\text{g/ml}$  l'activité antioxydante de notre extrait méthanolique est beaucoup meilleure que celle Godevac et al [56] qui ont trouvé un potentiel antioxydant moyen, avec des  $\text{IC}_{50}$  aux environs de  $156.98 \pm 23.08 \mu\text{g/ml}$  pour l'extrait méthanolique d'*Astragalus glycyphyllos* L (Fabaceae). Également, l'activité antioxydante de notre espèce est supérieure à celle de *Coronilla emerus*  $145.31 \pm 25.61 \mu\text{g/ml}$  (Fabaceae) [56].

Il est évident que l'activité de l'extrait méthanolique est due à la présence des composés phénoliques, qui possède la plus forte teneur en polyphénols, Une étude faite par Kang et al. [57] a suggéré que les molécules polaires présentes dans les extraits végétaux contribuent à l'augmentation de l'activité antiradicalaire.

## Conclusion générale

Le présent travail avait pour objet l'investigation phytochimique d'une plante endémique Algérienne *Genistanumidica* Spach appartenant à la famille des Fabaceae (Leguminosae). Cette famille est connue par sa richesse en divers métabolites secondaires tels que les flavonoïdes et les saponosides. L'espèce en question n'a fait l'objet d'aucune investigation chimique ni biologique antérieure.

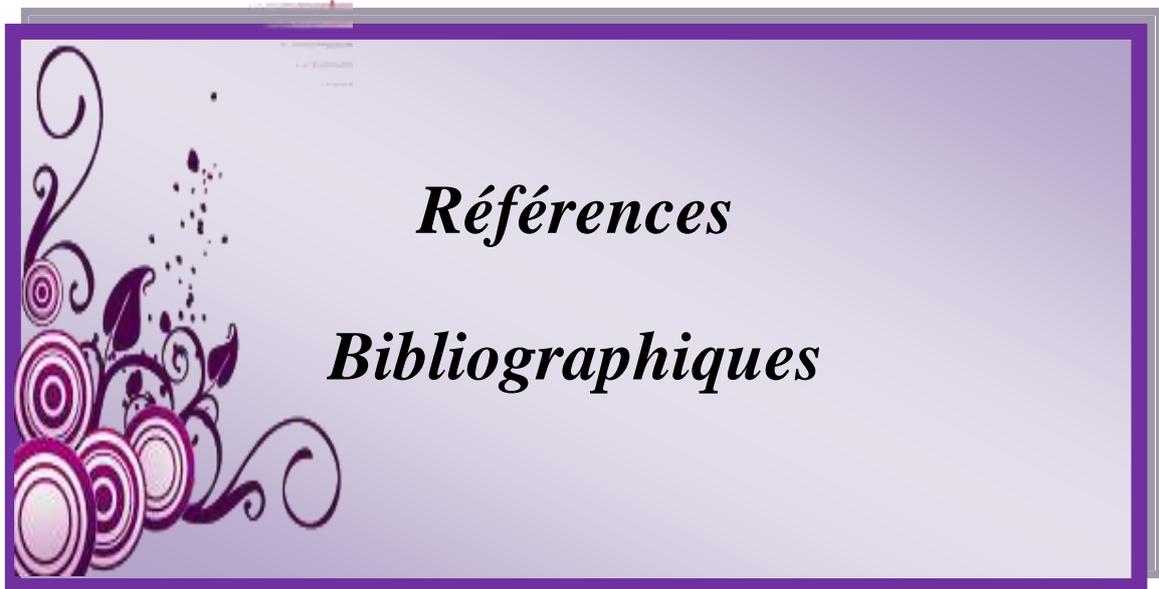
Le criblage phytochimique préliminaire par chromatographie sur CCM, CLHP et par caractérisation par réactions colorées a montré la présence de : flavonoïdes, saponosides, stérols et terpènes. A l'exception des alcaloïdes et des tannins, toutes les autres familles chimiques sont présentes.

Le fractionnement de l'extrait méthanolique des tiges de *Genistanumidica* Spach a été essentiellement fondé sur l'utilisation conjointe des techniques chromatographiques.

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

L'activité antioxydante de l'extrait méthanolique des tiges de *G.numidica* Spach a été évaluée par le test antiradicalaire qui consiste à estimer la capacité du DPPH à piéger les radicaux libres. L'étude a révélé que l'extrait méthanolique présente une activité antioxydante moyenne par rapport à l'antioxydant standard.

L'ensemble de ces résultats montre que les sources naturelles peuvent être un véritable réservoir de molécules originales susceptibles d'être proposées comme modèle pour des travaux de chimie médicinale. Il prouve aussi que notre flore est encore riche et prometteuse dans le domaine des produits naturels.



***Références***

***Bibliographiques***

## Références bibliographiques

---

- [1] **Gurib-Fakim A.** Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine* 27, 1-93; **2006**.
- [2] **Ozenda, P.** Flore du Sahara, Ed, CNRS, Paris, France, 349-350 ; **1977**.
- [3] **Pistelli, L., Bertoli, A., Giachi, I., and Manumata, A.** Flavonoids from *Genista ephedroides*. *Journal of Natural Product*, 61 (11), 1404-1406; **1998**.
- [4] **Pistelli, L., Giachi, I., Potenza, D., Morelli, I.** A New Isoflavone from *Genista corsica*. *Journal of Natural Product*, 63, 504–506 ; **2000**.
- [5] **Judd W. S., Campbell C. S., Kellogg E. A. Stevens P.** Botanique systématique. Une perspective phylogénétique, De Boek Université, Paris, Bruxelles, 282 ; **2002**.
- [6] **Shaiq ALI, M., Farman, A., Viqar Uddin, A.,** Unusual Chemical Constituents of *Lotus garcinii* (Fabaceae). *Turk J Chem.* 25. 107-112; **2001**.
- [7] **Wink, M., Mohamed, G.I.A.,** Evolution of chemical defense traits in the Leguminosae: mapping of distribution patterns of secondary metabolites on a molecular phylogeny inferred from nucleotide sequences of the *rbcL* gene, *Biochem. Syst. Ecol.* 31. 897-917; **2003**.
- [8] **Wojciechowski M.F., Lavin M. and Sanderson M.J. A.** phylogeny of Legumes (Leguminosae) based on analysis of the plastid *MATK* gene resolves many well-supported subclades within the family. *American Journal of Botany.* 11. 1846-2004; **2004**.
- [9] **Quezel, P., Santa, S.** Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. In : CNRS (Ed.), Vol. Paris, 1-2 ; **1963**.
- [10] **Gadow, A. V., Joubert, E., Hansmam, C. F.,** Comparison of the antioxidant activity of rooibos tea (*Aspalathus linearis*) with green, oolong and black tea. *Food Chemistry.* 60, 73-77 ; **1997**.
- [11] **Heywood, V. H.** Flowering Plants of the World. 3th edition, Oxford University Press, Oxford, pp. 141-145, 149-152; **1996**
- [12] **Bruneton, J.** Pharmacognosie Phytochimie Plantes médicinales. 3ème édition, Technique & Documentation, Paris, 393-397 ; **1999**.
- [13] **Bruneton.J.** : Plantes toxiques, végétaux dangereux pour l'homme et les animaux 2<sup>ème</sup> édition, éditeur technique et documentation, Paris ; **2001**.
- [14] **Marstom., A, Msonthi. J. D, Hostettman. k:** On the reported molluscicidal activity from *Terphosia vogelii* leaves phytochemistry 23 (8) pp 1824-1825 ; **1984**.

## Références bibliographiques

---

- [15] **Deyson, G.** Cours de botanique générale, organisation et classification des plantes vasculaires 2ème partie systématique, Tome II.347p ;**1979.**
- [16] **Maire., R.** La flore de l'Afrique du Nord, les légumineuses. Le chevalier edition Paris XVI ; **1987.**
- [17] **Quezel., P & Santa.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome I .C.N.P.S. Paris ;**1962 et 1963.**
- [18] **Adams, M., Berset, C., Kessler, M., Hamburger, M.** Medicinal herbs for the treatment of rheumatic disorders. A survey of European herbals from the 16th and 17th century. Journal of Ethnopharmacology, 121, 343–359; **2009.**
- [19] **Guarrera, P.M., Leporatti, M.L.** Ethnobotanical remarks on Central and Southern Italy. Journal of. Ethnobiology. Ethnomedicine, 3, 23; **2007.**
- [20] **Rauter, A. P., Martins, Al., Lopes, R., Ferreira, J., Serralheiro, L. M., Araujo, M., Borges, C., Justino, J., Silva, F., Goulart, M., Thomas-Oates., Rodrigues, J. A., Edwards, E., Noronha, J., Helder Mota-Filipe, R. P.** Bioactivity studies and chemical profile of the antidiabetic plant *Genista tenera*. Journal of Ethnopharmacology, 122, 384–393; **2009.**
- [21] **Pistelli, L., Bertoli, A., Giachi, I., Morelli, I., Rubiolo, P., Bicchi, C.** Quinolizidine alkaloids from *Genista ephedroides*. Biochemical Systematics and Ecology, 29, 1 37-141; **2001.**
- [22] **Giachi, I., Manunta, A., Morelli, I., and Pistelli, L.** Flavonoids and isoflavonoids from *Genista morisii*. Biochemical Systematics and Ecology, 30, 801-803; **2002.**
- [23] **N. Boutaghane, L. Voutquenne-Nazabadioko, D. Harakat, A Simon and, Z. Kabouche ,** triterpene saponins of *genista ulicina* spach , journal homepage, Phytochemistry 93 ; 176–181; **2013**
- [24] **Lapie, G., Maige, A.** Flore forestière illustrée comprenant toutes les espèces ligneuses de l'Algérie et les espèces ligneuses les plus répandues en Tunisie, au Maroc et dans le midi de la France. Orlhac, paris, 358 (1914).
- [25] **Heywood V. H., Moore D. M., Richardson I. B. K. et Stearn W. T ;** Les plantes à fleurs 306 Familles de la flore mondiale ; 218- 219 ; **1996.**
- [26] **J. Pal-Pal, M.J. Pérez-Alonso, A. Velasco-Negueruela, J. Varadé, A.M. Villa, J. Sanz, J.J. Brophy,** Essential oil composition of the different parts of *Eryngium bourgatii* Gouan from Spain, Journal of chromatography; 235–239; A 1074; **2005.**

## *Références bibliographiques*

---

- [27] **Stöckigt J., Sheludko Y., Unger M., Gerasimenko I., Warzecha H., Stöckigt D.**, High-performance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electrophoretic-electrospray ionization mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups. *Journal of chromatography A*. 967, 85-113; **2002**.
- [28] **De Rijke E., Out P., Niessen W M A., Ariese F., Gooijer C., Brinkman U A T.**, Analytical separation and detection methods for flavonoids. *Journal of Chromatography A*. 1112, 31-63 ; **2006**.
- [29] **Lhuillier, A.** Contribution a l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : *Agauria salicifolia* Hook.f ex Oliver, *Agauria polyphylla* Baker (Ericaceae), *Tambourissa trichophylla* Baker (Monimiaceae) et *Embelia concinna* Baker (Myrsinaceae). Thèse de doctorat. Toulouse ; **2007**.
- [30] **Davis, B.D.**; *Advanced in Enzymology*;16; 227 ; **1955**.
- [31] **Tu Y.C., Lian T.W., Yen J.H., Chen Z.T., Wu M.J.** Antiatherogenic effects of kaempferol and rhamnocitrin. *J. Agric. Food Chem.*, **55(24)**, 9969-9976. ; **2007**.
- [32] **Di Carlo G., Masco Jo N., Izzo A.A., Capasso F.** Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs; **1999**.
- [33] **Birt D.F., Hendrich S., Wang W.** Dietary agents in cancer prevention: Flavonoids and isoflavonoids. *Pharmacol. Ther.*, **90 (3)**, 157-177. ; **2001**.
- [34] **Yang C., Landau M., Huang M. T., Newmark H.L.** Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds». *Ann. Rev. Nutr.*, 21, 381- 406. ; **2001**
- [35] **Ramos S.** Effects of dietary flavonoids on apoptotic pathways to cancer chemoprevention. *J. Nutr. Biochem.*, 18(7), 427-442. ; **2007**.
- [36] **Recio, M.C., Rios, J. L. and Villar, A.**; A review of some antimicrobial compounds isolated from medicinal plants reported in the literature, *Phototherapy*;3, 117-125 ; **1978-1988 1989**.
- [37] **COWAN, M. M.**; Plant products as antimicrobial agents, *Clin. Microbiol. Rev.*; 12; 564-582 ; **1999**.
- [38] **Chaudhry.P.S, Cabrera.J, Juliani.H.R, Varma.S.D.** Inhibition of human lens aldose reductase by flavonoids, sulindac and indomethacin. *Biochem Pharmacol*; 32 ; **1983, 1995**.
- [39] **Sparg, S.G., Light, M.E., van Staden, J.** Biological activities and distribution of plant saponins. *Journal of Ethnopharmacology*. 94, 219-243 ; **2004**

## Références bibliographiques

---

- [40] **Bruneton, J.** Pharmacognosie-Phytochimie-Plantes médicinales, 2eme édition. Lavoisier Paris, 537-571, **1993**.
- [41] **Mors, W.B., do Nascimen, M.C.L., Ruppelt Pereira., B.M., Pereira, N.A.** Plant natural products active against snake bite the molecular approach. *Phytochemistry*. 55, 627-642, **2000**.
- [42] **Ekoumou, C.** Etudes phytochimiques et pharmacologiques de 5 recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et de la cystite. Thèse pharmacie, Bamako, 145, **2003**.
- [43] **Cavin, A.** Investigation phytochimique de trois plantes indonésiennes aux propriétés antioxydantes et antiradicalaires: *Tinospora crispa* (Menispermaceae) *Merremia emarginata* (Convolvulaceae) et *Orophea enneandra* (Annonaceae). Thèse Université de d'Indonésie, **1999**.
- [44]-**Ahamet, S.** Etudes phytochimiques et des activités biologiques de *Balanites aegyptica* (Balanitaceae). Thèse de pharmacie, Bamako, 117, **2003**
- [45] **BOYD B., Ford C., Koepke Michael C., Gary K., Horn E., McAnalley S. et McAnalley B.** Étude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé. *GlycoScience & Nutrition*. 4 (6), 7p, **2003**.
- [46] **Vansant G.** Radicaux libres et antioxydants : principes de base. Symposium Antioxydants et alimentation. Institut Danone , **2004**.
- [47] **Mika A., Minibayeva F., Beckett R., Lüthje S.** Possible functions of extracellular peroxidases in stress-induced generation and detoxification of active oxygen species. *Phytochemistry Reviews*, 3, 173-193. , **2004**.
- [48] **BERSET C. & CERVELIER M.E.** Methods of estimationg the degree of lipid oxidation and of measuring antioxidizing power. *Science des Aliments*, 16, 219 245, **1996**.
- [49] **Harborne, J.B.** *Phytochemical Methods A guide to modern techniques of plant analysis*. London, New York, Chapman and Hall. (**1973**).
- [50] **Ladyguina E.Y., Safronitch L.N., Otrichenkova V.E., Bolandina I.A. ; Grinkevitch N.I.** ; Analysechimique des plantesmédicinales ; Edition Moska ; *VischayaChkola*; 46-347 pp. **1983**

## *Références bibliographiques*

---

[51] **Dohou N., Yamni K., Tahrouch S., Idrissi Hassani L. M., Badoc A. &Gmira N.** Screening phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine, *Thymelaealyt hroides*. Bull. Soc Pharm. Bordeaux. 142: 61-78. **2003**.

[52] **W.Vermerris and R.nicholson**, Isolation and identification of phenolic compounds. In :phenolic compound biochemistry , Springer, DORDRECHT New York, pp. 35-62, **2006** .

[53] **S.Georgé,P.Brat, P.Alter and J.M. Amiot**, Rapid determination of polyphénols and vitamin C in plant-derived products, journal of Agricultural and Food Chemistry.53: 1370-1373, **2005**.

[54] **D.O.Kim,W.J.Seung and C.Y.Lee**, Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums, Food Chemistry,81,321-326, **2002**.

[55] **C.Sanchez-Moreno**, Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems, International Journal of FOOD Science and Technology; 8: 121-137, **2002**.

[56] **Godevac D. , Zdunić G., Savikin K., Vajs V., Menkovic N**, Antioxidant activity of nine Fabaceae species growing in Serbia and Montenegro, Fitoterapia, 79, 185–187, **2008**

[57] **Kang D.C.,Yun and Lee H.S**, Screening and comparison of antioxidant activity of extracts of herbal medicins used in Korea, Journal of Ethnopharmacology., 87: 231-6, **2003**.

## *Résumé*

*Dans le cadre de ce travail qui est une contribution à l'étude phytochimique de la plantes médicinales de la flore Algérienne, nous nous sommes intéressés à l'étude phytochimique et l'évaluation de l'activité anti-radicalaire de l'extrait méthanolique préparé à partir tiges de *Genista numidica* Spach. Plante endémique Algérienne et appartenant à la famille des Fabaceae.*

*Au moyen de la CLHP, CCM, VLC et réactions colorées, l'identification et la caractérisation de différentes familles de métabolites secondaires ainsi que le dépistage de l'activité antioxydante ont été réalisés.*

**Mots clés :** Fabaceae, *Genista numidica* Spach, criblage phytochimiques, l'activité anti-radicalaire, CLHP, VLC

## *Abstract*

*In* the setting of this work that is a contribution to phytochemical survey of medicinal plants of Algerian flora, we were interested on the phytochemical study and the evaluation of the antiradical activity of the methanolic extract prepared from the stem of *Genistanumidica* Spach. Algerian endemic plant belongs to the Fabaceae family.

*By* means of HPLC, TLC, VLC together with color reactions tests, identification and characterization of different families of secondary metabolites as well as tracking of antioxidant activity have been achieved.

**Key words:** Fabaceae, *Genistanumidica* Spach, phytochemical screening, antiradical activity HPLC, VLC.

## المخلص

في اطار هذا العمل وهو مساهمة لدراسة الكيميائي النباتي من النباتات الطبية النباتات الجزائرية، ركزنا على دراسة الكيميائي النباتي تقييم النشاط المضادة للاكسدة لمستخلص الميثانول أعدت من قبل جدور النبتة *Genista numidica spach*. نبتة خاصة بالجزائر من عائلة الفصيلة البقولية. باستخدام HPLC، TLC، VLC وردود الفعل اللون، استطعنا تحديد مختلف عائلات نواتج الايض الثانوية وكذلك فحص النشاط المضاد للأكسدة .

كلمات البحث: الفصيلة البقولية، *GenistanumidicaSpach* والفحص الكيميائي النباتي والنشاط المضادة للاكسدة، HPLC، VLC