

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 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 1
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Biologie appliquée

قسم : البيولوجيا التطبيقية

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Bio-industrie, Analyse et Contrôle (BAC)

Intitulé :

Valorisation de *Calycotome spinosa*
pour des applications en cosmétique:
étude de l'activité antioxydante des
extraits thermorésistants 

Présenté par :

Bououden Fatima Zohra et Hambli Fatma Zahra

Devant le jury :

Président : Pr. Kacem Chaouche Noredine

Pr. UFM Constantine 1.

Rapporteur : M^{me}. Cherfia Radia

M.A.A UFM Constantine 1.

Examinatrice : M^{me}. Mosbah Asma

M.C.A UFM Constantine 1.

Année universitaire 2019 - 2020

Remerciement

(الحمد لله الذي هدانا لهذا وما كنا لنهتدي لولا أن هدانا الله)

Avant toute chose, nous remercions "ALLAH" de nous avoir donné la patience, le courage et la volonté pour réaliser ce mémoire.

*Notre mémoire a été réalisé au Laboratoire de Mycologie, de Biotechnologie et de l'Activité Microbienne (LaMyBAM) de l'université des Frères Mentouri-Constantine 1 dirigé par le Pr **Kacem Chaouche Noredine**, on le remercie vivement de nous avoir accueillies au sein de son laboratoire.*

*Nous remercions très chaleureusement notre directrice de mémoire Mme **Cherfia Radia**, Maitre assistante à l'université des Frères Mentouri-Constantine 1. Merci pour votre encadrement efficace, disponibilité, compréhension, aide et vos précieux conseils.*

*Nous remercions aussi Mme **Mosbah Asma**, Maitre de conférence à l'université des Frères Mentouri-Constantine 1 d'avoir examiner ce travail.*

*A tous les enseignants du département de biologie appliquée.
A monsieur le doyen.*

A tous les étudiants de Graduation « Master 2 LMD » Spécialité Bio-industrie, Analyse et Contrôle (BAC) 2019/ 2020.

Enfin, nous remercions toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont apporté un plus à ce travail.



Dédicaces

♥A mes très chers **parents**, mon bonheur dans cette vie, sans eux je n'ai pas pu être ce que je suis, en reconnaissance de leurs efforts, amours, soutiens et encouragements durant toutes mes études. Quoique je fasse, je ne pourrais jamais vous rendre ce que vous avez fait pour moi.

Je vous dois ma réussite, mon éducation et ma fierté.

♥A mes chères **sœurs** d'amour.

♥A mon binôme et sœur **Khawla** pour tous les souvenirs pendant les années d'études ensemble.

♥A mes chères **amies** pour leur soutien moral.

♥A tous ceux qui m'aiment.

Fatima Z.

♥A mes très chers **parents** pour avoir cru en moi jusqu'au bout, pour leur amour, soutiens et encouragement, pour tout ce qu'ils m'avaient apporté tout au long de ma vie.

♥A mes chères **sœurs** et mon petit cher **frère** pour être là à mes côtés dans les bons moments comme dans les mauvais.

♥A mes **amies** avec lesquelles j'ai passé les meilleurs moments à l'école ENSB et à la cité universitaire.

♥A mon binôme et mon amie **Youssra** pour rendre les dernières années de nos études inoubliables.

♥A tous ceux, qui, d'une manière ou d'une autre, ont contribué à l'aboutissement de ce travail.

♥A tous ceux qui m'aiment fidèlement.

Fatma Z.



Sommaire

Remerciement

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction	1
1. Revue bibliographique	3
1.1 Utilisation Traditionnelle des plantes	3
1.2 Utilisation Moderne des plantes	4
1.3 Phyto-cosmétiques	4
1.4 Famille des Fabaceae	6
1.4.1 Intérêts des Fabaceae	7
□ Importance thérapeutique	7
□ Importance alimentaire	7
1.4.2 Toxicité de certaines fabacées	7
1.5 Genre <i>Calycotome</i>	8
1.5.1 Etymologie	8
1.5.2 Espèces appartenant au genre <i>Calycotome</i>	8
1.6 Espèce <i>Calycotome spinosa</i>	8
1.6.1 Description botanique	8
1.6.2 Nomenclature	9
1.6.3 Distribution	9
1.6.4 Position systématique	10
1.6.5 Propriétés	10
1.6.6 Données phyto-chimiques	10
1.6.7 Utilisation de la plante	11
1.7 Composés chimiques des plantes	11
1.7.1 Métabolites primaires	11
1.7.2 Métabolites secondaires	11
1.8 Techniques d'extraction des substances bioactives	19
1.8.1 Infusion	19
1.8.2 Macération	19
1.8.3 Décoction	20

1.9	Activités biologiques des plantes	20
1.9.1	Activité antioxydante	20
1.9.2	Autres activités biologiques	22
2.	Matériel et méthodes	26
2.1	Matériel végétal	26
2.2	Préparation de la plante	26
2.3	Préparation des extraits.....	27
2.4	Evaluation du rendement d'extraction.....	28
2.5	Analyses phytochimiques	28
2.5.1	Screening phytochimique	28
2.5.2	Dosage colorimétrique des composés phénoliques	32
2.6	Détermination de l'activité anti-oxydante	36
2.6.1	Capacité anti-oxydante totale (CAT)	36
2.6.2	Piégeage du radical libre DPPH	37
2.6.3	Pouvoir réducteur du fer (FRAP).....	39
3.	Résultats et discussion	41
3.1	Rendement d'extraction	41
3.2	Screening phytochimique	42
3.3	Dosage spectrophotométrique des composés phénoliques	49
3.3.1	Dosage des polyphénols totaux	49
3.3.2	Dosage des flavonoïdes totaux.....	50
3.3.3	Dosage des tannins condensés.....	51
3.4	Détermination de l'activité antioxydante	54
3.4.1	Capacité antioxydante totale (CAT).....	54
3.4.2	Piégeage du radical libre DPPH	57
3.4.3	Pouvoir réducteur du fer (FRAP).....	60
4.	Conclusion et perspectives.....	65
	Abstract	66
	الملخص	67
5.	Références bibliographiques	68

Liste des figures

Figure 1 Morphologie de <i>Calycotome spinosa</i>	9
Figure 2 Position systématique de <i>Calycotome spinosa</i>	10
Figure 3 Structure de base des flavonoides	14
Figure 4 Structure chimique d'une saponine de soja	17
Figure 5 Structure chimique d'isoprène.....	18
Figure 6 A: Endroit de récolte de la plante	26
Figure 7 Broyats des feuilles (F), des tiges (T) et des racines (R) de <i>C. spinosa</i>	27
Figure 8 Protocole de détection des sucres.	28
Figure 9 Protocole de détection des protéines.....	29
Figure 10 Protocole de détection des acides aminés.....	29
Figure 11 Protocole de détection des polyphénols.....	30
Figure 12 Protocole de détection des flavonoïdes.....	30
Figure 13 Protocole de détection des alcaloïdes.	31
Figure 14 Protocole de détection des saponines.....	31
Figure 15 Protocole de détection des tannins.....	32
Figure 16 Protocole du dosage des polyphénols totaux	33
Figure 17 Protocole du dosage des flavonoïdes totaux	34
Figure 18 Protocole du dosage des tannins condensés.....	36
Figure 19 Réaction de réduction de DPPH en présence d'un antioxydant.....	38
Figure 20 Protocole du piégeage du radical DPPH.....	38
Figure 21 Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	49
Figure 22 Teneurs en polyphénols totaux dans les décoctés aqueux des feuilles, des tiges et des racine de <i>C. spinosa</i>	50
Figure 23 Courbe d'étalonnage de la quercétine.	50
Figure 24 Teneurs en flavonoïdes totaux des décoctés aqueux des feuilles , des tiges et des racines de <i>C. spinosa</i>	51
Figure 25 Courbe d'étalonnage de la catéchine.....	51
Figure 26 Teneurs en tannins condensés dans les décoctés aqueux des feuilles , des tiges et des racines de <i>C. spinosa</i>	52
Figure 27 Gamme d'étalonnage de l'acide ascorbique.	55
Figure 28 Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique.	55
Figure 29 Capacité antioxydante totale des décoctés aqueux des feuilles, des tiges et des racines de <i>C. spinosa</i>	55
Figure 30 Pourcentage d'inhibition du BHT et des décoctés aqueux des feuilles, des tiges et des racines de <i>C. spinosa</i>	57
Figure 31 Courbe d'étalonnage du BHT.....	58
Figure 32 Valeurs des CI ₅₀ du BHT, des décoctés aqueux des feuilles, des tiges et des racines de <i>C. spinosa</i>	59
Figure 33 Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique, des décoctés aqueux des feuilles, des tiges et des racines de <i>C. spinosa</i>	60
Figure 34 Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique.	61
Figure 35 Valeurs des CE ₅₀ de l'acide ascorbique, des feuilles, des tiges et des racines de <i>C. spinosa</i>	62

Liste des tableaux

Tableau 1 Mode de préparation et d'utilisation thérapeutique de quelques plantes médicinales.....	3
Tableau 2 Exemples de quelques produits cosmétiques naturels et leurs effets thérapeutiques.....	5
Tableau 3 Usage thérapeutique de quelques plantes médicinales en cosmétique.....	6
Tableau 4 Exemples de quelques acides phénoliques	13
Tableau 5 Exemples de quelques plantes à activité antioxydante.....	22
Tableau 6 Activité antibactérienne de quelques plantes médicinales	23
Tableau 7 Exemples de quelques plantes à activité anti-inflammatoire, anti-diabétique et anti-tumorale	25
Tableau 8 Rendements et caractéristiques de l'extrait sec des décoctés aqueux de <i>C. spinosa</i>	41
Tableau 9 Criblage phytochimique des feuilles, des tiges et des racines de <i>C. spinosa</i>	44
Tableau 10 Quantification des composés phénoliques des décoctés aqueux des feuilles, des tiges et des racines de <i>C. spinosa</i>	52

Liste des abréviations

Abs : Absorbance

AA : Acide ascorbique

AlCl₃ : Chlorure d'aluminium

APG: Angiosperm Phylogeny Group

BHT: Butylated hydroxytoluene

BuOH: Buthanol

C. spinosa: *Calycotome spinosa*

CAT : Capacité Antioxydante Totale

°C : Degré celsius

DPPH :2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

DO : Densité optique

EAG : Équivalent Acide Gallique

CE₅₀ : Concentration efficace 50

EQ: Équivalent quercitine

FRAP: Ferric Reducing Antioxidant Power

g : gramme

h : heure

% : Pourcentage

CI₅₀ : Concentration inhibitrice à 50%

M : Molarité

MS : Matière sèche

min :minute

mg : milligramme

mL : millilitre

mM : millimètre

µg : microgramme

nm : nanomètre

Ox : Oxydation

Red : Réduction

R% : Rendement

R² : Coefficient de corrélation

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

UV : Ultraviolet



Introduction

Introduction

Le règne végétal représente une source importante d'une grande variété de molécules bioactives qui ont été mises à profit dans l'industrie alimentaire, cosmétique et pharmaceutique (**Bahorun et al., 1996; Mekkiou, 2005; Petrache, 2018**).

L'Algérie, par sa position biogéographique, offre une très grande diversité écologique et floristique, estimée à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques, dont 15% sont endémiques. Ces espèces restent très peu explorées, sur le plan phyto-chimique comme pharmacologique (**Mekkiou, 2005; Maazi et Cherfour, 2016**).

Les plantes aromatiques représentent un intérêt économique dans plusieurs domaines. En effet, elles sont douées non seulement de qualités aromatiques et culinaires, mais aussi de propriétés médicinales variées grâce aux différents principes actifs qu'elles contiennent : alcaloïdes, flavonoïdes, tannins, saponosides et huiles essentielles (**Bruneton, 1999; Lahsissene et al., 2009**). La diversité de ces molécules naturelles qui ne sont pas essentielles à la viabilité des plantes reste une énigme pour les biologistes qui essayent de décrypter leurs rôles dans la nature (**Petrache, 2018**). Elles constituent un réservoir inépuisable de remèdes populaires les plus efficaces et représentent une source naturelle des médicaments les plus utilisés actuellement (**Bruneton, 1999; Lahsissene et al., 2009**).

L'industrie cosmétique est un secteur dynamique qui est en progression continue avec une croissance du marché cosmétique mondial de l'ordre de 4.0 % en 2016 (**Merck, 2018**). Cependant, les polémiques récentes ont alerté le grand public sur le possible danger lié à l'incorporation des composés chimiques dans les produits cosmétiques et pharmaceutiques; l'utilisation de ceux-ci semble liée à l'apparition des effets secondaires des médicaments et des produits cosmétiques synthétiques et à l'augmentation de la résistance des microorganismes pathogènes vis-à-vis des antibiotiques. C'est la raison pour laquelle le marché du cosmétique naturel a eu un essor spectaculaire en s'orientant vers l'usage des extraits biologiques actifs des plantes aromatiques et médicinales comme alternatives (**Petrache, 2018; Terescenco, 2018**).

Les extraits végétaux sont alors considérés comme des substances indispensables au cosmétique et c'est ce qu'on appelle "la phyto-cosmétique", du fait de leurs propriétés fonctionnelles ou structurales. Ils sont extrêmement nombreux à être de plus en plus utilisés en fonction de leurs activités (hydratantes et nourrissantes, astringentes, cicatrisantes, amincissantes, antiseptiques et anti-oxydantes) (**Elhachimi et al., 2015; Lehmann, 2015**).

Les traitements à base de plantes reviennent donc au premier plan. Cependant en Algérie, les plantes médicinales sont peu valorisées; c'est dans ce contexte que nous avons voulu étudier une de ces plantes.

Calycotome spinosa localement appelée "**Guendoul**", est une plante médicinale appartenant à la famille des fabacées. Selon la littérature, elle est riche en métabolites secondaires notamment les composés phénoliques et très utilisée pour le traitement de plusieurs atteintes. Sa partie aérienne est traditionnellement utilisée comme agent anti-tumorale; elle est ainsi efficace pour le traitement du furoncle, des abcès cutanés et des engelures dans la médecine populaire sicilienne (Mokhtari, 2012; Djeddi et al., 2015; Cherfia et al., 2020).

L'objectif de notre étude consiste donc à la valorisation de la plante endémique *C. spinosa* pour des fins cosmétiques, afin de voir s'il est possible de formuler un produit cosmétique thermorésistant à base de cette plante. Le travail a été subdivisé en deux grandes parties :

✚ **Partie théorique** : englobe et rassemble des données théoriques sur les plantes médicinales ; plus précisément les *Calycotomes* et leurs intérêts, les substances bioactives ainsi que les méthodes d'extraction conventionnelles.

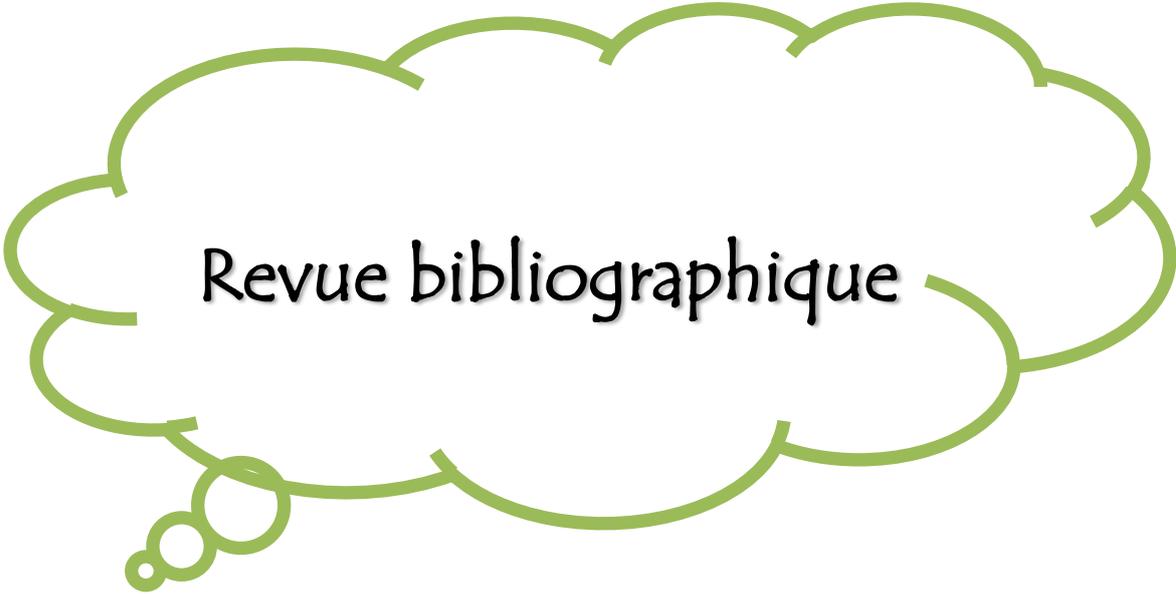
✚ **Partie pratique** : illustre les axes suivants :

- 1- Extraction des principes actifs thermorésistants de la plante par décoction aqueuse ;
- 2- Criblage phyto-chimique des extraits ;
- 3- Quantification des composés phénoliques : polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et tanins condensés ;
- 4- Evaluation, *in vitro*, des activités biologiques « notamment anti-oxydantes » des extraits obtenus.

« Ce que l'on met sur sa peau est aussi important
que ce que l'on met dans son assiette.

*Notre peau, organe sensible,
reliée à l'ensemble des fonctions vitales de notre corps,
a besoin d'une nourriture saine,
de l'intérieur comme de l'extérieur. »*

Jean- Philippe Naboulet



Revue bibliographique

1. Revue bibliographique

L'histoire des plantes aromatiques est souvent liée à celle de l'humanité. L'homme a sélectionné les plantes alimentaires pour se nourrir, médicinales pour se soigner, et toxiques pour s'en servir comme poisons de flèche à la chasse ou à la guerre (Obame, 2009; Lehmann, 2014).

1.1 Utilisation Traditionnelle des plantes

Les civilisations antiques du Moyen-Orient (Les Sumériens, les Babyloniens, les Hébreux et les Egyptiens) semblent avoir prêté une grande attention aux yeux : les cosmétiques utilisés protégeaient ceux-ci des mouches et du soleil éblouissant. Les cils, les paupières et les sourcils étaient peints en noir avec du khôl, une pâte à base de suie et d'antimoine ou de galène (une forme de minerai de plomb). Les Egyptiens bordaient la partie inférieure de l'œil avec une pâte verte contenant principalement de la malachite pulvérisée et soulignaient le contour de l'œil avec un mélange préparé à partir d'œufs de fourmis écrasés (Lehsissene et al., 2009; Lamsaouri, 2017).

Le henné (poudre tirée des feuilles séchées de l'arbuste du même nom) a été utilisé pour teindre les cheveux, les ongles, la paume des mains et la plante des pieds. L'huile d'amande douce, l'huile d'olive et l'huile de sésame, le thym et l'origan, le safran (Tableau 1), la myrrhe, le nard, l'eau de rose et la chypre constituaient la base de préparations qui furent par la suite adoptées dans le monde entier (Lamsaouri, 2017).

Tableau 1 Mode de préparation et d'utilisation thérapeutique de quelques plantes médicinales (Hseini et al., 2007 ; Garcin et Carral, 2007; Bouzidi et al., 2013).

Espèce	Famille	Organe utilisé	Mode de préparation	Maladie soignée
<i>Thymus vulgaris</i>	Lamiaceae	Feuilles	Poudre ou infusion	Fièvre, toux, blessures et infections.
<i>Crocus sativus L.</i>	Iridaceae	Fleurs	Décoction	Maladies digestives, calme les brûlures et régule la circulation du sang.
<i>Origanum vulgare</i>	Lamiaceae	Tiges feuillées	Infusion	Bronchite et froid.

1.2 Utilisation Moderne des plantes

Aujourd'hui, les traitements à base de plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques (considérés comme la solution quasi universelle aux infections graves) décroît. Environ 60 % des spécialités médicamenteuses employées en médecine courante sont issues, directement ou par hémi-synthèse, du règne végétal (**Grosmond, 2001; Iserin, 2001**).

La phytothérapie est l'utilisation des plantes (ou l'ensemble des éléments de la plante) à des fins thérapeutiques. Il s'agit d'une des sciences médicales les plus anciennes, elle est connue aujourd'hui sous le nom de « remède de bonne femme ». Cette science connaît de nos jours un renouveau exceptionnel en Occident, spécialement dans le traitement des maladies chroniques, comme l'asthme ou l'arthrite. De plus, les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs, qui se tournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme (**Iserin, 2001; Kahlouche-Riachi, 2014**).

La plupart des espèces végétales présentent des avantages dont les médicaments sont souvent dépourvus. La raison fondamentale est que les principes actifs végétaux proviennent de processus biotiques répandus dans tout le monde vivant, alors que l'essentiel des médicaments de synthèse sont des xénobiotiques ayant des effets secondaires très mal maîtrisés (**Iserin, 2001; Decaux, 2002; Bruneton, 2009**).

Les plantes médicinales sont donc importantes pour la recherche pharmaceutique et cosmétique; car elles constituent une source immense de biomolécules complexes pouvant être exploitées par l'homme dans plusieurs industries telles que l'industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique (**Lahsissene, 2009; Pertache, 2018**).

1.3 Phyto-cosmétiques

Les produits naturels sont utilisés depuis des siècles et sont souvent la seule option pour la plupart des nécessités humaines : de la nourriture à la préparation médicinale, en passant par les matériaux et même à des fins de beauté (**Costa, 2015**).

Les produits cosmétiques naturels sont devenue une tendance remarquable de nos jours, ils sont définis selon le Conseil de l'Europe comme : « tout produit se composant de substances naturelles et élaboré dans des conditions particulières » (**Tableau 2**). En effet, les ingrédients doivent être obtenus et traités exclusivement au moyen de méthodes physiques, telles que la

centrifugation, la filtration, la distillation ou la percolation, et des méthodes microbiologiques ou enzymatiques » (Couteau et Coiffard, 2010; Pertache, 2018).

Tableau 2 Exemples de quelques produits cosmétiques naturels et leurs effets thérapeutiques (Lacharme, 2011).

Produits	Effets thérapeutiques
Huile d'argan	Protège les cellules de l'attaque des radicaux libres. Lutte contre le dessèchement de la peau. Prévient activement le vieillissement cutané.
Beurre du coco	Protège des agressions extérieures comme le soleil, le vent, le froid. Il est recommandé pour les peaux sèches, irritées ou sensibles comme celle des bébés.
Miel	Hydratant, humectant, rafraichissant, anti-irritant et stimulant de la régénération des cellules épidermiques.
Eau de rose	Purifiante et astringente, on la retrouve dans les démaquillants et les lotions toniques.

Les produits phytocosmétiques (**Tableaux 2, 3**) peuvent être défini comme des produits cosmétiques à base de plantes (c'est-à-dire contenant une ou plusieurs drogues végétales ou préparations à base de plantes) et répondant ainsi à la définition générale des produits cosmétiques donnée par l'article L. 5131-1 du Code de la santé publique : « On entend par produit cosmétique, toute substance ou préparation destinée à être mise en contact avec les diverses parties superficielles du corps humain, notamment l'épiderme, les systèmes pileux et capillaire, les ongles, les dents et les muqueuses buccales, en vue, exclusivement ou principalement, de les nettoyer, de les parfumer, d'en modifier l'aspect, de les protéger, de les maintenir en bon état ou de corriger les odeurs corporelles » (Lehmann, 2015; Merck, 2018).

Tableau 3 Usage thérapeutique de quelques plantes médicinales en cosmétique (Bruneton, 2009; Johnson et More, 2014; Ngene et al., 2015).

Plante	Nom latin	Famille	Partie utilisée	Intérêt
 <p><i>Le Jojoba</i></p>	<i>Simmondsia chinensis (Link) C. Schneider</i>	Simmondsiaceae	Graines	Propriétés nourrissantes et hydratantes.
 <p><i>Le mimosa</i></p>	<i>Acacia decurrens var. dealbata Link.</i>	Mimosaceae	Fleurs	Propriétés régénératrices de l'épiderme.
 <p><i>La réglisse</i></p>	<i>Glycyrrhiza glabra L.</i>	Fabaceae	Rhizomes Racines	Inhibe la biosynthèse de mélanine. Activité anti-inflammatoire.

L'incorporation des essences naturelles dans les produits cosmétiques permet d'obtenir des produits sains, sûrs et non invasifs et d'améliorer la qualité du mode de vie et du bien-être.

Parmi les familles des plantes qui sont largement utilisées en cosmétique, on trouve la famille des fabacées (Pertache, 2018).

1.4 Famille des Fabaceae

Au sens étymologique, Fabaceae dérive de « Faba » (fève, en latin) qui vient du grec "Phago" signifiant "manger". Elle constitue une des plus grandes familles des plantes à fleurs, avec plus de 730 genres et 19 400 espèces. Elle est classée dans le royaume des Plantae, division des Magnoliophyta, classe des Magnoliopsida et ordre des Fabales. Les formes arborescentes prédominent dans les pays chauds et les formes herbacées dans les régions tempérées (Manceau, 1946; Wojciechowski et al., 2004; Dupont et al., 2007; Petit-Aldana et al., 2014).

Un des critères représentatifs des Fabaceae est la présence de nodules fixateurs de l'azote atmosphérique sur les racines des Papilionoideae (= Faboideae) et des Mimosoideae, alors qu'ils sont absents chez la plupart des Cæsalpinoideae. Ces nodosités sont le résultat d'une symbiose entre des bactéries du genre *Rhizobium* et les différentes espèces des légumineuses (Peirs, 2005).

1.4.1 Intérêts des Fabaceae

✚ Importance thérapeutique

En médecine traditionnelle, plusieurs parties des plantes de la famille des Fabaceae sont utiles pour le traitement de diverses affections, citant :

- Elimination des bronchites normales, guérison des maladies du système respiratoire supérieur, des douleurs rhumatismales et d'inflammation des glandes.
- Prévention d'insomnie, du stress et des battements du cœur causé par la nervosité.
- Régulation de la dépense énergétique et du métabolisme.

Avec d'autres propriétés antibactériennes, antifongiques, antihypertensives, antioxydantes, antivirales, insecticides, diurétiques et hypoglycémiques, ainsi que leurs effets hépatoprotecteurs et néphroprotecteurs (Piers, 2005).

✚ Importance alimentaire

La famille des Fabaceae est l'une des plus importantes familles de plantes dans la production d'aliments pour les humains (haricot, pois, fève, soja) et le bétail (trèfle, luzerne, sainfoin), ainsi que pour la production de produits industriels en agriculture (Louarn et al., 2010; Wojciechowski et al., 2004).

Les légumineuses alimentaires et les graines de certaines espèces végétales de Fabaceae constituent une source majeure de nutriments comestibles. Parmi les espèces de très grande importance alimentaire et thérapeutique, on cite : Fenugrec (*Trigonella foenum-graecum*) et Glycine soja Siebold et Zucc (*Glycine max subsp*) (Boumaza, 2017).

1.4.2 Toxicité de certaines fabacées

Un nombre non négligeable de fabacées est toxique. Il est important de noter que son ordre comporte plus de 16000 espèces dangereuses. Les parties les plus souvent incriminées dans les empoisonnements sont les graines où sont accumulés les principes toxiques. On peut citer : *Tephrosia vogelii*, *Physostigma venenosum* et les espèces du genre *Coronilles* (Mekkiou, 2005).

1.5 Genre *Calycotome*

Le genre *Calycotome* appartient à la famille des fabacées qui constituent la troisième famille la plus importante du règne végétal (environ 16000 espèces) après les Astéracées et les Orchidacées. Les *Calycotomes* sont des arbrisseaux très épineux, genêt à tiges élancées et écartées, formant des buissons qui peuvent atteindre deux mètres de hauteur. Le rameau est vert, puis brun en vieillissant, et se termine en épine. Les plantes de ce genre ont des feuilles à trios folioles et à fleurs jaunes, elles apparaissent dès la fin de l'hiver. Elles sont groupées et très nombreuses. Les fruits sont des gousses aplaties, longues de trois à quatre centimètres, contenant trois à huit grains (Mokhtari, 2012; Chikhi, 2014; Cherfia et al., 2017).

1.5.1 Etymologie

Du grec calyx, calice, temnô, je coupe : le calice se rompt circulairement et paraît, comme coupé après la floraison (Mokhtari, 2012; Cherfia et al., 2017).

1.5.2 Espèces appartenant au genre *Calycotome*

Ce genre contient cinq espèces : *Calycotome spinosa*, *Calycotome villosa*, *Calycotome infesta*, *Calycotome rigida* et *Calycotome intermedia*. Elles sont répandues dans la région méditerranéenne, notamment dans le nord de l'Afrique et l'Espagne (Brullo, 2013; Cherfia et al., 2020).

1.6 Eespèce *Calycotome spinosa*

1.6.1 Description botanique

Le genêt est présent sous forme d'un arbrisseau de 1 à 2 m d'hauteur. Les rameaux sont épineux et fortement imbriqués, ce qui rend parfois les matorrals occupés par cette plante difficilement pénétrable. Les feuilles sont trifoliolées noircissant à la dessiccation. Les fleurs sont soit solitaires soit réunis par 2 à 4, naissant latéralement sur les rameaux surtout vers le sommet. Les gousses sont longues de 3 à 4 cm, noirs à maturité. Les fruits contenant 4 à 8 graines brun jaunâtre (Figure 1) (Rameau et al., 2008; Mokhtari, 2012; Damerджи, 2014).

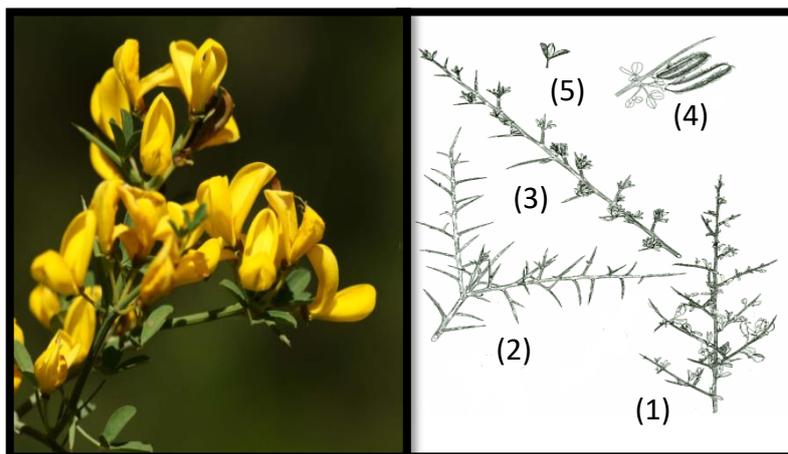


Figure 1 Morphologie de *Calycotome spinosa* (1), (2), (3) : rameau épineux, (4) : gousse, (5) : feuille trifoliée (Rameau et *al.*, 2008).

1.6.2 Nomenclature

Cette espèce possède plusieurs noms, citant : (Damerdji, 2011).

Nom scientifique : *Cytisus spinosus*.

Nom latin : *Calycotome spinosa* Link.

Nom commun (français) : *Calycotome épineux*.

Nom vernaculaire : Genêt.

Nom arabe : Guendoul.

1.6.3 Distribution

Elle est répandue dans les régions chaudes et tempérées, poussant sur des sols rocailleux, secs et légèrement acides dans des zones où les précipitations sont modérées. Elle se trouve surtout dans les lieux siliceux de la région méditerranéenne, elle est très commune en Algérie (Parsons et Cuthbertson, 2001; Mokhtari, 2012; Damerdji, 2014).

1.6.4 Position systématique

C. spinosa est classée comme suit: (Figure 2)

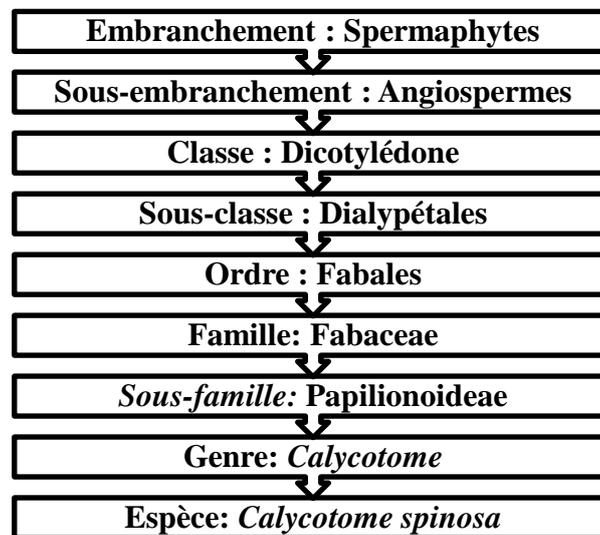


Figure 2 Position systématique de *Calycotome spinosa* (Damerdji, 2011; Damerdji, 2014).

1.6.5 Propriétés

- Plante mellifère, inflammable, utilisée comme plante ornementale.
- Feuilles et fruits astringents.
- Bois jaune clair, cœur d'un brun jaunâtre (Rameau et al., 2008).

1.6.6 Données phyto-chimiques

Selon l'espèce, les Fabaceae contiennent des fibres, des vitamines (A, C, E), des composants organiques (protéines, oligosaccharides, glucides, graisses, oxalate et acide phytique) et des composants minéraux (calcium, magnésium, potassium, fer, zinc et azote). Cependant, les flavonoïdes sont les principaux constituants de la famille de cette plante (Wanda et al., 2015).

Plusieurs composés tel que les phénols, les flavonoïdes, les alcaloïdes et les anthraquinones ont été identifiés à partir des extraits du genre *Calycotome* (Cherfia et al., 2020).

Les feuilles de *C. spinosa* ont une teneur en matières azotées totales élevée (33.7%) et une teneur moyennement faible en matière sèche (28.20%) ce qui en fait d'elles un aliment riche en eau, qui ne se dessèche pas en période estivale (période de soudure). Cette plante est aussi reconnue par son contenu excessivement riche en composés phénoliques et en tannins totaux

avec 119.43 et 83.68 g équivalent acide tannique/kg de matière sèche, respectivement (Boudechiche et al., 2014).

1.6.7 Utilisation de la plante

Dans les indications thérapeutiques, la plante *C. spinosa* est utilisée comme un anti-ictérique et antibiotique (Sari, 2013).

Elle est recommandée pour un usage externe, contre le gonflement, l'œdème et surtout contre la rétention d'urine parce que ses substances actives sont diurétiques (Saidi et al., 2015).

L'infusion ou décoction des fleurs et des feuilles des *Calycotome* peuvent être utilisés comme une poudre pour traiter les nouvelles blessures et aussi pour guérir les troubles cardiovasculaires et les troubles du système nerveux (Saidi et al., 2015; Cherfia et al., 2020).

De plus, leurs feuilles sont très riches en protéines brutes (33.7% MS), ce qui fait de cette légumineuse un excellent complément en protéines pour le fourrage de faible qualité et les produits fibreux de sous-bois (Cherfia et al., 2017).

1.7 Composés chimiques des plantes

Les plantes ont une importance capitale pour la survie de l'homme et des différents écosystèmes. Elles renferment une part importante des composés qui interviennent dans l'ensemble des réactions enzymatiques ou biochimiques ayant lieu dans l'organisme. On distingue ainsi deux groupes de métabolites : les métabolites primaires et les métabolites secondaires (Hartmann, 2007).

1.7.1 Métabolites primaires

Ces sont des molécules organiques qui se trouvent dans toutes les cellules de la plante pour y assurer sa survie (la croissance et la respiration). Ces métabolites sont classés en quatre principaux groupes : Les glucides, les protéines, les lipides et les acides nucléiques (Epifano et al., 2007; Bénard, 2009).

1.7.2 Métabolites secondaires

Les métabolites secondaires ou allélochimiques, sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes (Lutge et al., 2002; Abderrazak et Joël, 2007; Coffi et al., 2012).

Les produits du métabolisme secondaire sont d'une grande variété structurale (plus de 200000 structures définies). Ils sont recherchés parce qu'ils sont reconnus pour leurs activités

biologiques nombreuses qui peuvent promouvoir des effets positifs sur la santé, en termes d'activités antibactériennes, anticancéreuses, antifongiques et antioxydantes, ils sont utilisés dans les secteurs industriels de l'agriculture, de l'alimentation et des pharmaceutiques (**Epi-fano et al., 2007; Ben Amor, 2009**).

Ces métabolites sont divisés principalement en trois grandes familles : Les polyphénols, les terpènes et les alcaloïdes (**Abderrazak et Joël, 2007**).

1.7.2.1 Composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires qui constituent un des groupes les plus représentés et largement distribués 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 ou hétéroside (**Bruneton, 2015; Šaponjac et al., 2016**).

Les polyphénols sont des molécules hydrosolubles, de poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Dalton, et ayant, en outre les propriétés habituelles des phénols, la capacité de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines (**Dangles et al., 1992; Hagerman et al., 1998; Collin et Crouzet, 2011**).

Ces sont des pigments généralement responsables de la teinture des feuilles et des fruits. Ils sont présents partout dans les racines, les tiges, les fleurs et les feuilles de tous les végétaux. Les principales sources alimentaires des polyphénols sont les fruits, les légumes et les céréales (**Martin et Andriantsitohaina, 2002; Bruneton, 2009**).

❖ Localisation des polyphénols au sein de la plante

Au niveau cellulaire, leur répartition est principalement dans deux compartiments : les vacuoles et la paroi. Dans les vacuoles, les polyphénols sont conjugués avec des sucres ou des acides organiques, ce qui permet d'augmenter leur solubilité et de limiter leur toxicité pour la cellule. Au niveau de la paroi, on trouve surtout de la lignine et des flavonoïdes liés aux structures pariétales (**Bénard, 2009**).

A l'échelle tissulaire, la localisation des polyphénols est liée à leur rôle dans la plante et qui peut être très caractéristique. Au sein des feuilles, leur répartition est variable, par exemple : Les anthocyanes et les flavonoïdes sont majoritairement présents dans l'épiderme (**Madi, 2018**).

Les polyphénols sont classés selon le nombre d'atomes de carbone dans le squelette de base. Ils regroupent un vaste ensemble de substances chimiques parmi lesquelles on distingue les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tannins (Dacosta, 2003; Ballasundram et al., 2007).

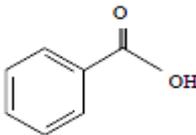
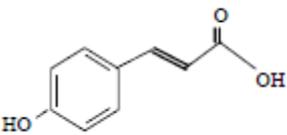
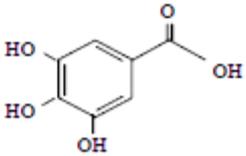
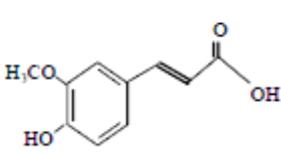
a) Acides phénoliques

Ils constituent la forme la plus simple des composés phénoliques. Un acide-phénol (ou acide phénolique) est un composé organique possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique (Ignat et al., 2011).

Ils se divisent en deux classes : celle qui dérive de l'acide benzoïque avec une structure (C6-C3 où C6-C1) et celle qui dérive de l'acide cinnamique (C6-C3) (Tableau 4) (Hollman, 2001).

Ils présentent des propriétés biologiques intéressantes : anti-inflammatoires, antiseptiques urinaire, antiradicalaire (Bruneton, 1999).

Tableau 4 Exemples de quelques acides phénoliques (Akroum, 2011).

Benzoïques	Cinnamiques
 Acide benzoïque	 Acide cinnamique
 Acide gallique	 Acide ferulique

b) Flavonoïdes

Le terme « flavonoïde » est dû à la couleur jaune (= flavus en latin) qu'il engendre. Les flavonoïdes sont fréquemment décrits chez les Fabaceae. Ces sont des métabolites secondaires des plantes dont l'on aurait à l'heure actuelle caractérisé près de 6500 représentants différents (Harborne et Williams, 2000; Akroum, 2011).

Les flavonoïdes ont été isolés par le scientifique E. Chervreul en 1814, mais n'ont été réellement découverts qu'en 1930 par Albert Szent-Györgyui, désignés sous le nom de vitamine P, en raison de leur efficacité à normaliser la perméabilité des vaisseaux sanguins. Cette dénomination fut abandonnée lorsqu'on se rendit compte que ces substances ne correspondaient pas à la définition officielle des vitamines, il devient clair que ces substances appartiennent aux flavonoïdes (Nijveldt et al., 2001).

Contrairement aux flavonoïdes présents dans les fleurs, qui leurs confèrent leurs couleurs, les flavonoïdes présents dans les feuilles, sont masqués par la présence de chlorophylle (Harborne et Williams, 2000).

❖ Structure chimique

Les flavonoïdes partagent une origine biosynthétique commune. Ce groupe de composés est en effet défini par une structure générale en C₁₅ (Bruneton, 2009).

Par définition, les flavonoïdes sont des composés qui ont en commun la structure en C₆-C₃-C₆ du diphenylpropane (Figure 3), les trois carbones servant de jonction entre les deux noyaux benzéniques notés A et B et forment généralement un hétérocycle oxygéné (De Rijke et al., 2006).

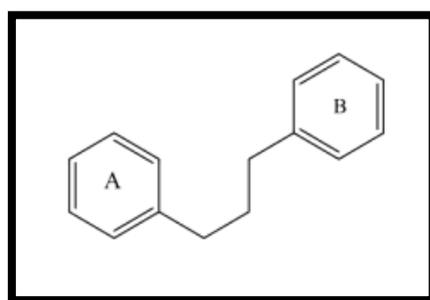


Figure 3 Structure de base des flavonoïdes (Sahli, 2017).

Les flavonoïdes regroupent une très large gamme de composés naturels polyphénoliques. Ils sont classés en 6 familles qui impliquent les flavonols (Quercétrine, Catéchine), les flavones (Apigénine, Luteoline), les flavanes, les isoflavonoïdes (Isoflavones, roténoïdes), les anthocyanines (Pélagonidine, cyanidine et péonidine) et les flavanols (Epicatéchine) (Bruneton, 2009; Muanda, 2010).

❖ **Distribution**

Les flavonoïdes sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs : racines, tiges, feuilles, fruits, graines, bois et pollens, ils peuvent aussi être rencontrés dans certains boissons et chez certains fourrages (ex : trèfle) (**Verhoeyen et al., 2002**).

Ils sont synthétisés au niveau des chloroplastes et participent à la phase lumineuse de la photosynthèse comme transporteurs d'électrons, certains quittent le chloroplaste et s'accumulent dans les vacuoles (**Elicoh-Middleton et al., 2000**).

Ces composés existent sous forme libre dite aglycone ou sous forme d'hétérosides, c'est-à-dire liée à des oses et d'autres substances. Dans la plupart des cas, les flavonoïdes sont présents sous forme glycosidique dans les vacuoles des fleurs, des feuilles, des tiges ou des racines. Les flavonoïdes aglycones, notamment les flavonoïdes simples et polyméthylés, sont plutôt présents sous forme de cires dans les feuilles, les écorces et les bourgeons floraux (**Heller et Forkmann, 1993; Iwashina, 2000**).

❖ **Intérêt des flavonoïdes**

Ces sont des pigments quasiment universels des plantes assurant par ce biais une étape fondamentale de la reproduction des végétaux. Ces composés contrôlent la croissance et le développement des plantes en interagissant d'une manière complexe avec les diverses hormones végétales de croissance. Ils interviennent aussi dans les processus de défense contre le rayonnement UV, les herbivores et les attaques microbiennes. Ils sont également reconnus pour leurs nombreuses activités biologiques, citons par exemples les activités antiallergiques, antivirales et anti-inflammatoires. Certains flavonoïdes peuvent entraver l'athérosclérose et par conséquent réduisent le risque des maladies cardiovasculaires (**Van Hoof, 1984; Brasseur, 1989; Hertog et al., 1993; Marfak, 2013; Bruneton, 2015**).

Ils peuvent aussi réduire le diabète en inhibant l'enzyme aldose réductase (**Chaudhry, 1993**). **Ong et Khoo (1997 ; 2000)** ont rapporté que la myricétine possède un effet hypoglycémiant chez des animaux diabétiques.

c) **Tannins**

Les tannins représentent une classe très importante de polyphénols localisés dans les vacuoles, quelques fois combinés aux protéines et aux alcaloïdes. Ils sont largement répandus dans les organismes végétaux et plus particulièrement dans les fruits, les graines de céréales et diverses boissons. Ces composés se trouvent dans l'ensemble des végétaux et dans toutes

leurs parties (écorces, racines, feuilles, etc.). Ils ont la capacité de former des complexes avec des macromolécules (les protéines) et des liaisons entre les fibres de collagènes, d'où viennent la plupart de leurs propriétés (**Paolini et al., 2003; Collin et Crouzet, 2011**).

Aujourd'hui, il existe deux catégories de tannins d'origine biosynthétiques différentes : Les tannins hydrolysables et les tannins condensés (**Paolini et al., 2003**).

- **Tannins hydrolysables**

Les tannins hydrolysables ou acides tanniques sont des polymères de l'acide gallique ou de son produit de condensation : L'acide ellagique. Ils ont un poids moléculaire plus faible et précipitent beaucoup moins les protéines que les tannins condensés (**Madi, 2018**).

- **Tannins condensés**

Les tannins condensés (proanthocyanidines ou procyanidines) non hydrolysables, résultent de la polymérisation d'unités flavan-3-ols. Ces sont des polyphénols de masse molaire élevée (**Krief, 2004; Madi, 2018**).

- ❖ **Intérêt des tannins**

Les tannins ont longtemps été utilisés pour rendre la peau animale fraîche, imputrescible et résistante à l'eau, la chaleur et l'abrasion. Ces propriétés sont dues à l'aptitude des tannins à se combiner aux macromolécules (et donc aux fibres de collagène de la peau). Ils sont responsables de l'astringence de nombreux fruits et légumes et des produits qui en sont dérivés (vin, bière, thé ect.). Ces composés sont aussi répandus pour leurs nombreuses activités thérapeutiques notamment anti-infectieuses, cardiovasculaires, hormono-dépendantes et anti-cancéreuses (**Krief, 2004; Macheix, 2005; Madi, 2018**).

1.7.2.2 Alcaloïdes

Les composés azotés se divisent en deux groupes : les acides aminés et les alcaloïdes. Les acides aminés (qui n'appartiennent pas aux métabolites secondaires) sont à la base de la constitution des protéines et des autres peptides. Tandis que les alcaloïdes sont des métabolites secondaires végétaux pharmacologiquement actifs contenant de l'azote. Ils ont, de plus, la propriété de réagir avec des sels de métaux lourds, ce qui permet leur caractérisation aisée (réactif de Mayer, de Dragendorf etc.) (**Kreif, 2004; Muanda, 2010; Royer, 2018**).

- ❖ **Localisation au sein de la plante**

Environ 20% des espèces de plantes à fleurs produisent les alcaloïdes et chacune les accumule en fonction d'un modèle unique et prédéfinie. Généralement, ils sont produits dans les

tissus en croissance : jeunes feuilles, jeunes racines ect. Chez de nombreuses plantes, les alcaloïdes se localisent dans les pièces florales, les fruits ou les graines (Kreif, 2004; Royer, 2018).

❖ Intérêt des alcaloïdes

Leur rôle dans la défense chimique est supporté par leur large gamme d'effets physiologiques sur les animaux et par leur activité antibiotique et répulsive contre les insectes. Certains sont employés dans la médecine pour leurs propriétés analgésiques (comme la morphine, la codéine), dans le cadre des protocoles de sédation (anesthésie, atropine) souvent accompagnés des hypnotiques, comme agents antipaludéens (quinine, chloroquinine) ou agents anti-cancéreux (taxol, vinblastine, vincristine). Leurs propriétés pharmacologiques concernent des domaines variés comme le système nerveux central, le système nerveux autonome, la cancérologie et la parasitologie (Kreif, 2004; Muanda, 2010; Royer, 2018).

1.7.2.3 Saponosides

Les saponosides constituent un large groupe d'hétérosides très répandus chez les végétaux. Le nom saponine dérive du mot latin « sapo », qui signifie savon, parce que ces composés moussent une fois agités avec de l'eau d'où leur effet tension-actif. Ils se composent d'aglycones non polaires liés à un ou plusieurs sucres. Cette combinaison d'éléments structuraux polaires et non polaires explique leur comportement moussant en solution aqueuse. Fondamentalement, on distingue les saponines stéroïques et les saponines triterpéniques, citant comme exemple la saponine de soja (Figure 4) (Kreif, 2004; Muanda, 2010).

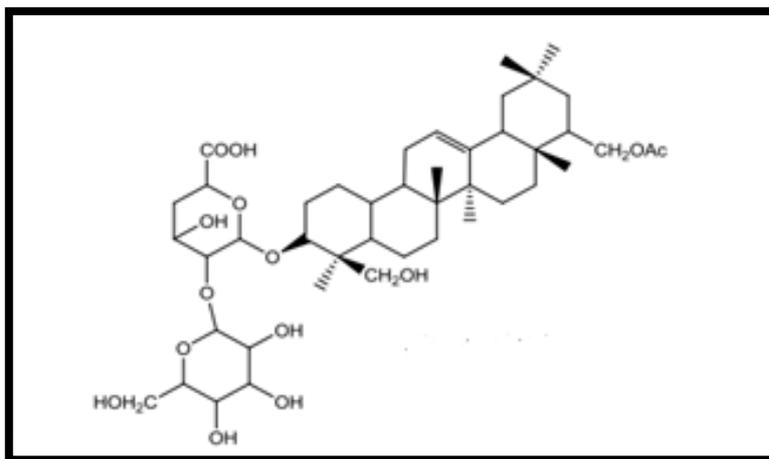


Figure 4 Structure chimique de la saponine de soja (Muanda, 2010).

Les saponosides jouent un rôle de défense du végétal contre les pathogènes microbiens : Ils sont toxiques pour les animaux à sang froid, en particulier les poissons et les mollusques.

Certaines drogues à saponosides sont utilisées pour leurs propriétés anti-tussives (rhizome de la réglisse), mais aussi anti-œdémateuses (cotylédons de la graine de Marronnier d'Inde) ou encore analgésiques (*Platycodon grandiflorum*) (Kreif, 2004).

1.7.2.4 Terpènes

Les terpènes forment une classe d'hydrocarbures produits par de nombreuses plantes, en particulier les conifères. Ces molécules sont les composants majeurs de la résine et de l'essence de térébenthine produite à partir de résine. Parmi les terpènes les plus importants on trouve : l' α -pinène, le β -pinène, le δ -3- carène, le limonène et le carotène. Les terpènes sont des dérivés de l'isoprène C_5H_8 (Figure 5) et ont pour formule de base des multiples de celle-ci (C_5H_8) n. L'isoprène est considéré comme l'un des éléments de construction préférés de la nature (Muanda, 2010; Saxena, 2013). En fonction du nombre n (entier) d'unités, on peut distinguer pour ; n = 2 : les monoterpènes (C10), n = 3 : les sesquiterpènes (C15), n = 4 : les diterpènes (C20), n = 5 : les sesterpènes (C25), n = 6 : les triterpènes (C30) (Halmi, 2015).

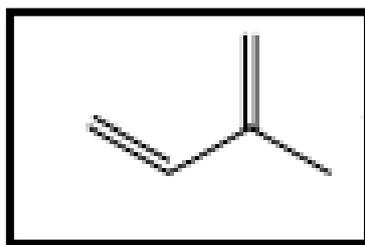


Figure 5 Structure chimique d'isoprène (Muanda, 2010).

Les terpènes jouent un rôle important en tant que composés signaux et régulateurs de croissance (phytohormones) des plantes. Ils peuvent avoir des propriétés médicinales telles que : anticarcinogène (alcool périlleux), antipaludique (artémisinine), anti-ulcèreux, antimicrobien ou diurétique (glycyrrhizine). Ils fonctionnent comme des phytoalexines dans la défense directe des plantes, ou comme signaux dans les réponses de défense indirectes impliquent des herbivores et leurs ennemis naturels. Les caroténoïdes sont importants en tant que pré-curseurs de la vitamine A, qui joue un rôle central dans la vision. Ils sont de bons antioxydants et contribuent à des effets bénéfiques de nombreux aliments. Plusieurs plantes produisent des terpènes volatils afin d'attirer des insectes spécifiques pour la pollinisation ou autrement afin d'expulser certains animaux qui utilisent ces plantes comme aliments (Muanda, 2010; Saxena, 2013; Halmi, 2015).

Actuellement, grâce au développement des méthodes d'extraction et des techniques d'analyses physico-chimiques et biologiques, une meilleure connaissance de la composition des plantes et leurs intérêts est devenue possible (Nkhili, 2009).

1.8 Techniques d'extraction des substances bioactives

La valeur des plantes médicinales se trouve dans certaines substances chimiques bioactives, essentiellement les métabolites secondaires, qui possèdent une action physiologique sur le corps humain : alcaloïdes, polyphénols et terpénoïdes (Kardong et al., 2013).

L'extraction de ces métabolites est une étape très importante dans leur isolement, aussi bien que dans leur identification. Ils peuvent être extraits par plusieurs techniques, dont les techniques traditionnelles (Mahmoudi et al., 2013; Benzeggouta, 2015).

Les méthodes traditionnelles sont celles utilisant les procédés de base les plus simples pour extraire l'extrait brut de la plante par l'intermédiaire de l'eau (pour les molécules hydrosolubles) ou de l'huile (pour les molécules liposolubles) (Benzeggouta, 2015).

Parmi les divers procédés utilisés traditionnellement, on compte l'infusion, la macération et la décoction.

1.8.1 Infusion

C'est la forme de préparation la plus simple, elle se prépare en versant de l'eau bouillante sur les parties de plantes fraîches ou séchées et les bien tremper afin d'extraire leurs principes médicinaux. Elle convient pour l'extraction des parties délicates ou finement hachées des plantes (feuilles, fleurs, graines, écorces et racines) ou bien ayant des constituants volatiles ou thermolabiles comme les huiles essentielles (Benzeggouta, 2015).

1.8.2 Macération

C'est une opération qui consiste à laisser la poudre du matériel végétal en contact avec un solvant pour en extraire les principes actifs. Elle se fait dans de l'eau froide (macération aqueuse) ou dans une huile végétale (macération huileuse), pendant plusieurs heures, voir plusieurs jours, afin de permettre aux constituants actifs de bien diffuser. C'est une extraction qui se fait à température ambiante (Feknous et al., 2014; Benzeggouta, 2015).

1.8.3 Décoction

L'extraction par décoction est un procédé utilisé traditionnellement soit dans la préparation des boissons comme le thé ou dans les préparations traditionnelles à base de plantes médicinales (**Benzeggouta, 2015; Bohui et al., 2018**).

Dans la décoction, les corps sont soumis à l'action continuée d'un liquide bouillant. Le degré de chaleur dépend de la nature de ce liquide : dans le cas d'une décoction aqueuse par exemple, les corps recevront une chaleur de 100 C° ; avec l'alcool, elle sera de 78 C°. Généralement, les plantes fraîches ou séchées sont bouillées dans de l'eau pendant 10 à 30 minutes, pour bien extraire les principes actifs (**Soubeiran, 1857; Benzeggouta, 2015; Bohui et al., 2018**).

Cette méthode est indispensable lorsque les substances qu'on veut extraire ne peuvent se dissocier que par l'action plus ou moins prolongée de la chaleur. Toutefois, elle doit être réservée à l'extraction des principes actifs non thermolabiles. La décoction est donc efficace pour l'extraction des composés phénoliques (**Soubeiran, 1857; Benchaachoua, 2019**).

1.9 Activités biologiques des plantes

Les plantes possèdent des propriétés biologiques très variées, qui trouvent leur application dans divers domaines. Elles représentent une grande source de composés actifs pour la recherche de nouveaux intrants naturels, car elles possèdent divers propriétés phytothérapeutiques que l'on retrouve chez de nombreux métabolites secondaires tels que les composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes (**Joseph-Angelique, 2015**).

1.9.1 Activité antioxydante

Les antioxydants font actuellement l'objet de nombreuses études car, en plus de leurs intérêts dans la conservation des denrées comestibles, ils pourraient s'avérer utiles dans le traitement des maladies dans lesquels le stress oxydant est incriminé. De nombreuses études réalisées sur les produits naturels ont prouvé que ces sont particulièrement les composés phénoliques qui sont responsables de leurs activités antioxydantes (**Halmi, 2015; Douaouri, 2018**).

1.9.1.1 Radicaux libres

Les radicaux libres (RL) sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) qui possèdent un ou plusieurs électrons célibataires (non apparié) sur leur couche externe. Ils sont produits par divers mécanismes physiologiques car ils sont utiles pour l'organisme à une dose raison-

nable. Cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense. Ces radicaux jouent un rôle essentiel dans le bon déroulement de la réaction immunitaire, la phagocytose et la communication cellulaire (**Peynet et al., 2005; Obame, 2009**).

Les RL sont très instables et réagissent rapidement avec d'autres composants, essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir leur stabilité. Lorsqu'un RL attaque la molécule stable la plus proche en lui volant son électron, la molécule attaquée devient alors elle-même un RL (**Halmi, 2015**).

1.9.1.2 Antioxydants

Les antioxydants sont des molécules naturelles ou synthétiques, ayant la capacité de neutraliser les radicaux libres qui sont responsables de nombreuses maladies. Ces sont des composés qui inhibent ou retardent le processus d'oxydation en bloquant l'initiation ou la propagation des chaînes de réactions oxydatives (**Chikhi, 2014; Dridi, 2018**). Selon leurs fonctions, les antioxydants sont classés en 3 catégories :

- ❖ **Antioxydants primaires ou naturels** : Principalement phénoliques, ils sont impliqués dans la prévention de la formation des oxydants.
- ❖ **Antioxydants secondaires ou synthétiques** : Ayant un rôle dans la capture des radicaux libres.
- ❖ **Antioxydants tertiaires** : Ils réparent les molécules oxydées (**Benzidane, 2014; Zeenat et al., 2017**).

Selon leur solubilité, ils sont subdivisés en deux groupes :

- ❖ **Antioxydants hydrophobes** : Sont représentés par les vitamines A et E, les flavonoïdes, l'ubiquinol (Coenzyme Q10), la bilirubine et la mélatonine. Ils agissent essentiellement sur la protection dans les milieux lipidiques.
- ❖ **Antioxydants hydrophiles** : Comme les glutathions, l'acide urique, la vitamine C, les thiols, les protéoglycans et l'acide hyaluronique. Ils protègent l'organisme contre l'oxydation des lipides, des protéines, des sucres, et de l'ADN dans les milieux liquides comme le sang, les liquides interstitiels et le cytosol (**Hassane, 2010; Benzidane, 2014**).

1) Critères d'un bon antioxydant

Un bon antioxydant doit respecter quelques critères (**Valko et al., 2006**) :

- ✓ Etre capable de piéger directement et spécifiquement les radicaux libres.

- ✓ Chélater les ions de métaux de transition (Fe^{2+} , Cu^{+}) d'importance biologique, capables de promouvoir la production de radicaux libres par la réaction de Fenton.
- ✓ Intéragir avec d'autres antioxydants, et, dans la mesure du possible, les régénérer.
- ✓ Etre rapidement absorbé.
- ✓ Avoir une concentration qualifiée dans les tissus et les fluides biologiques.
- ✓ Etre efficace en milieu aqueux et/ou dans le milieu membranaire.

2) Intérêt des antioxydants

Ils sont utilisés pour prévenir de nombreuses maladies (cardiovasculaires et neurodégénératives, inflammation, diabète) ainsi que le vieillissement dû à la formation exagérée des radicaux libres. Ces molécules sont également utilisées dans les aliments pour retarder la détérioration, le rancissement ou la décoloration qui est souvent due à l'oxydation causée par la lumière, la chaleur et certains métaux (Obame, 2009).

Au cours de ces dernières années, des études sur les activités antioxydantes des plantes médicinales ont augmenté de façon remarquable grâce à leur potentiel antioxydant élevé qui leur offre la possibilité d'être utilisées en tant que source naturelle d'antioxydants (Tableau 5) (Haddouchi, 2016).

Tableau 5 Exemples de quelques plantes à activité antioxydante (Bruneton, 2009; Kassi et al., 2014; Guillouty, 2016).

Plante	Famille	Molécule bioactive
<i>Glycine max</i>	Fabaceae	Flavonoïdes
<i>Mangifera indica</i>	Anacardiaceae	Flavonoïdes et tannins
<i>Aspalathus linearis</i>	Fabaceae	Flavonoïdes
<i>Helianthus annuus</i>	Asteraceae	Vitamine E
<i>Actinidia deliciosa</i>	Actinidiaceae	Vitamine C
<i>Daucus carotte</i>	Apiaceae	Caroténoïdes

1.9.2 Autres activités biologiques

✓ Activité antimicrobienne

Les propriétés antimicrobiennes des plantes aromatiques et médicinales sont connues depuis l'antiquité. Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20^{ème} siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser (Djahra et al., 2012).

Les plantes synthétisent plus de 100 000 molécules dotées pour la plupart d'une activité antibiotique. En général, cette activité est inférieure à celle exercée par les antibiotiques d'origine microbienne. Les concentrations requises pour exercer une activité antimicrobienne sont donc plus élevées pour les molécules isolées des plantes que pour celles issues de bactéries et de champignons (**Tableau 6**) (**Tegos et al., 2002; Lewis et Ausubelm, 2006; Rasolofonantenaina, 2018**).

Tableau 6 Activité antibactérienne de quelques plantes médicinales (**Fankam et al., 2011 ; Tankeo et al., 2014 ; Ouattara et al., 2016**).

Espèce végétale	Famille	Extrait	Souches	Concentration inhibitrice minimale
<i>Mezoneuron benthamianum</i>	Fabaceae	Méthanolique d'écorce des racines	<i>P. aeruginosa</i> 885 C/15	12500 µg/mL
			<i>E. cloacae</i> 806 C/15	3125 µg/mL
			<i>K. pneumoniae</i> 566 YO/15	3125 µg/mL
<i>Echinops giganteus</i>	Asteraceae	Méthanolique des racines	<i>K. pneumoniae</i> K24	32 µg/mL
			<i>E. coli</i> MC4100, <i>E. aerogenes</i> EA294, and <i>K. pneumoniae</i> KP63	256–512 µg/mL
			<i>M. tuberculosis</i> H37Ra	32 µg/mL

✓ **Activité anti-inflammatoire**

L'inflammation est une réaction des tissus vivants à une lésion ou une stimulation cellulaire excessive ou normale d'origine mécanique, chimique ou immunologique. Elle se caractérise par la rougeur, la douleur, la chaleur, la tuméfaction et parfois, une perte de fonction de la partie du corps affecté (**Bakasso, 2009; Abdelli, 2017**).

Les plantes étaient utilisées depuis longtemps pour la prévention ou le traitement de maladies, y compris les maladies inflammatoires telles que le rhumatisme, l'arthrose, l'œdème et l'eczéma. Leurs composés bioactifs tels que flavonoïdes et les tannins s'avèrent posséder des propriétés anti-inflammatoires importantes. Ils peuvent servir de principes actifs pour la synthèse de nouveaux médicaments anti-inflammatoires tout en ayant des effets secondaires

minimes et des effets pharmacologiques très puissants (**Tableau 7**) (**Morel, 2011; Abdelli, 2017**).

✓ **Activité anti-diabétique**

Le diabète sucré est un désordre métabolique caractérisé par une hyperglycémie chronique qui touche le métabolisme glucidique, lipidique et protéique, et qui en résulte d'un défaut de la sécrétion de l'insuline, de l'action de l'insuline ou les deux conjuguées (**Zerriouh, 2015**).

Une des remarquables applications de la phytothérapie, est l'utilisation des plantes médicinales pour le traitement du diabète sucré. L'évaluation de l'effet antidiabétique de plantes médicinales et la recherche de principes actifs est une voie prometteuse de découverte de nouveaux produits antidiabétiques. Il s'agit des glycanes, de certains terpènes, des sulfites, des polysaccharides, des huiles, des vitamines, des alcaloïdes, des saponines et d'autres composés (**Tableau 7**) (**Zerriouh, 2015; Boubekour, 2019**).

Marles et Farnsworth (1995) rapportent l'existence de 1123 espèces douées d'un pouvoir antidiabétique, appartenant à 725 genres et 183 familles, les familles les plus citées sont les fabacées, les astéracées, les lamiacées, les liliacées, les poacées, et les euphorbiacées.

✓ **Activité anti-tumorale**

Selon l'OMS, « cancer » est un terme général appliqué à un grand groupe de maladies qui peuvent toucher n'importe quelle partie de l'organisme. L'une de ses caractéristiques est la prolifération rapide de cellules anormales qui peuvent essaimer dans d'autres organes, formant ce qu'on appelle des métastases.

Un nombre significatif de cancers peuvent être soignés par la chirurgie, la radiothérapie et la chimiothérapie surtout s'ils sont détectés suffisamment tôt. Cependant, certaines de ces méthodes de traitement provoquent un grand nombre d'effets indésirables pour l'organisme qui peuvent être fatales (**Moreau, 2006; Tigrine, 2014**).

Dans le domaine de la thérapie anticancéreuse, plusieurs études scientifiques ont confirmé les biens faits des plantes médicinales dans la guérison ou le soulagement de plusieurs maladies y compris le cancer (**Tableau 7**). En effet, un nombre importants d'études *in vitro* ont montré que les extraits bruts, aqueux ou hydro-alcooliques, de quelques plantes médicinales exercent un effet cytotoxique sur différentes lignées de cellules cancéreuses (**Moreau, 2006; Tigrine, 2014**).

Tableau 7 Exemples de quelques plantes à activité anti-inflammatoire, anti-diabétique et anti-tumorale (Bakasso, 2009; Tigrine, 2014; Abdelli, 2017; Aboura, 2018; Boubekeur, 2019).

Activité	Plante	Famille	Molécule bioactive
Anti-inflammatoire	<i>Indigofera Macrocalyx</i>	Fabaceae	Flavonoïdes
	<i>Opuntia ficus-indica</i>	Cactaceae	Polyphénols
	<i>Thymus vulgaris</i>	Lamiaceae	Flavonoïdes et tannins
Antidiabétique	<i>Cassia tomentosa L.f.</i>	Fabaceae	Stéroïdes et tannins
	<i>Artemisia vulgaris L.</i>	Asteraceae	Sesquiterpènes et flavonoïdes
	<i>Salvia officinalis L.</i>	Lamiaceae	Terpènes et flavonoïdes
Anti-tumorale	<i>Glycine max</i>	Fabaceae	Isoflavone
	<i>Ceratonia siliqua L.</i>	Fabaceae	Polyphénols
	<i>Camellia sinensis</i>	Theaceae	Flavonol



Matériel et
méthodes

2. Matériel et méthodes

Le présent travail est réalisé au niveau du laboratoire de Mycologie, de Biotechnologie et de l'Activité Microbienne (LAMyBAM), Université des Frères Mentouri, Constantine 1.

2.1 Matériel végétal

Le matériel végétal étudié est constitué des feuilles, des tiges et des racines de *Calycotome spinosa*. La plante a été récoltée en Février 2020 de la région d'Azawan sur les hauteurs de l'Emir Abdelkader, Jijel, nord-est de l'Algérie (**Figure 6**). Elle a été identifiée par l'enseignante Cherfia Radia (Département de Biologie Appliquée, faculté des SNV, Université des Frères Mentouri, Constantine 1).

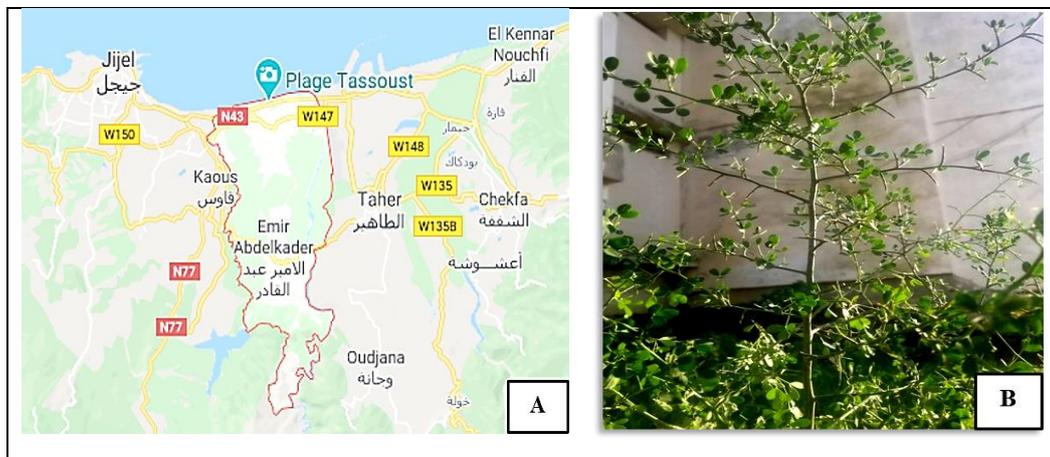


Figure 6 A: Endroit de récolte de la plante (Google maps, 2020).

B : *Calycotome spinosa* (Février, 2020).

2.2 Préparation de la plante

Les trois parties ont été détachées les unes des autres puis déposées sur des tamis dans un endroit sec, bien aéré, à température ambiante et à l'abri du soleil jusqu'au séchage. Après une semaine de séchage, chaque partie a été broyée jusqu'à l'obtention d'une poudre fine (**Figure 7**). Assurer les bonnes conditions de stockage permettra d'éviter les modifications chimiques tel que la réduction ou la perte de certains composés comme les chlorophylles, la diminution de la qualité relative des poly-phénols simples et des tannins solubles et la disparition des flavones en donnant des composés oxydés de couleur brune (Bernadin et al., 2017).



Figure 7 Broyats des feuilles (F), des tiges (T) et des racines (R) de *C. spinosa*.

2.3 Préparation des extraits

Les extraits aqueux des différentes parties de la plante sont préparés par décoction aqueuse dont le but d'extraire les substances polaires et thermostables telles que les composés phénoliques. Cela est selon la méthode décrite par **Rached et al. (2018)** avec quelques modifications :

Une décoction aqueuse à 20% est effectuée en plaçant 20 g de chaque poudre de plante dans 100 mL d'eau distillée. L'ensemble est ensuite porté à ébullition pendant 15 minutes, les décoctés obtenus subissent un refroidissement à température ambiante puis une centrifugation pendant 20 min à 4000 t/min à la même température. Enfin, l'ensemble est filtré à l'aide d'un papier Whatmann°1 et complété avec de l'eau distillé jusqu'à 100 mL.

2.4 Evaluation du rendement d'extraction

Le rendement est défini comme étant le rapport entre la masse des extraits obtenue et la masse sèche du matériel végétal à traiter (Muanda, 2010; Mayouf, 2019). Le pourcentage du rendement de chaque extrait a été calculé selon la formule suivante :

$$R (\%) = m / M \times 100 \text{ (Muanda, 2010).}$$

R% : Rendement exprimé en %.

m: Masse en gramme de l'extrait sec résultant après la lyophilisation (g).

M : Masse sèche initiale en gramme du matériel végétal à traiter (g).

2.5 Analyses phytochimiques

2.5.1 Screening phytochimique

Afin de mettre en évidence les différentes classes chimiques de métabolites primaires et secondaires présentes dans les extraits aqueux de l'espèce étudiée, plusieurs tests de caractérisation ont été établis.

Le criblage phytochimique qualitatif réalisé est basé sur des réactions de précipitation ou de coloration à l'aide des réactifs spécifiques. Il nous a permis de faire une identification préliminaire des substances chimiques.

2.5.1.1 Métabolites primaires

A. Détection des sucres (test de Fehling)

Les sucres ont été détectés selon le protocole suivant (Figure 8).

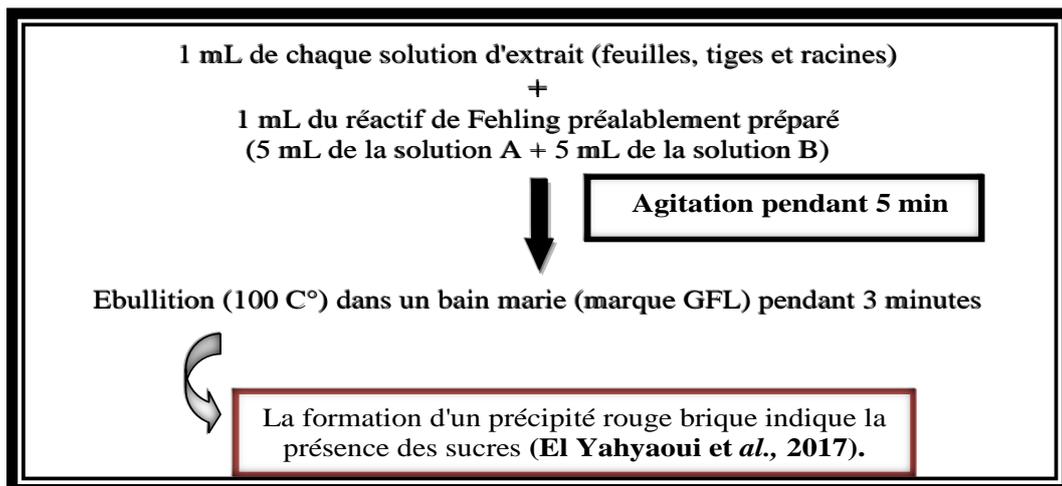


Figure 8 Protocole de détection des sucres.

B. Détection des protéines (test de Biuret)

Les protéines ont été détectées suivant le protocole présenté ci-dessous (**Figure 9**).

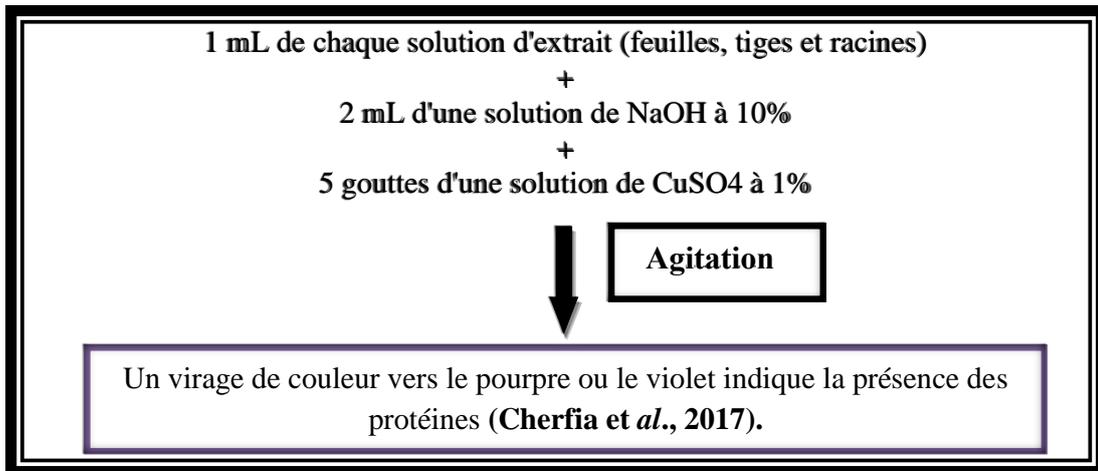


Figure 9 Protocole de détection des protéines.

C. Détection des acides aminés

Les acides aminés ont été détectés selon le protocole suivant (**Figure 10**).

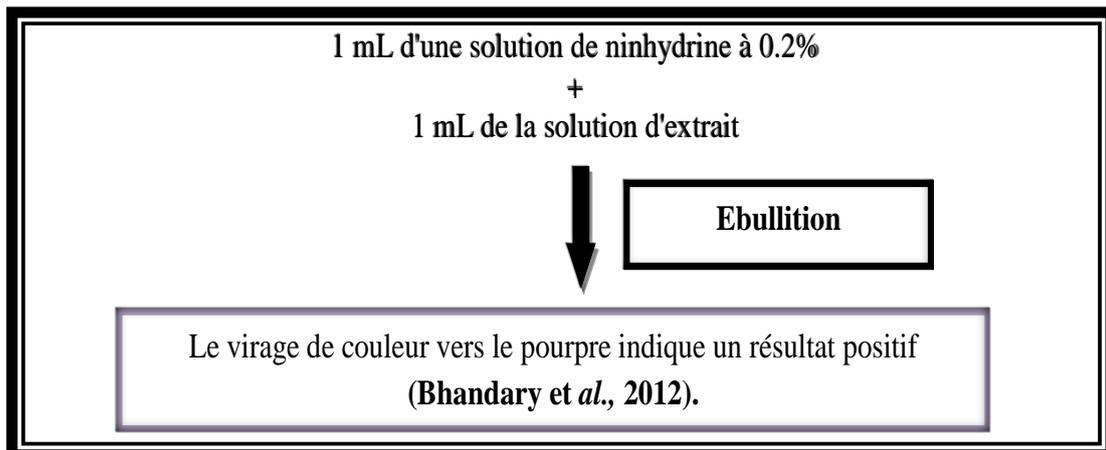


Figure 10 Protocole de détection des acides aminés.

2.5.1.2 Métabolites secondaires

A. Détection des polyphénols

La détection des polyphénols a été effectuée suivant le protocole ci-dessous (**Figure 11**).

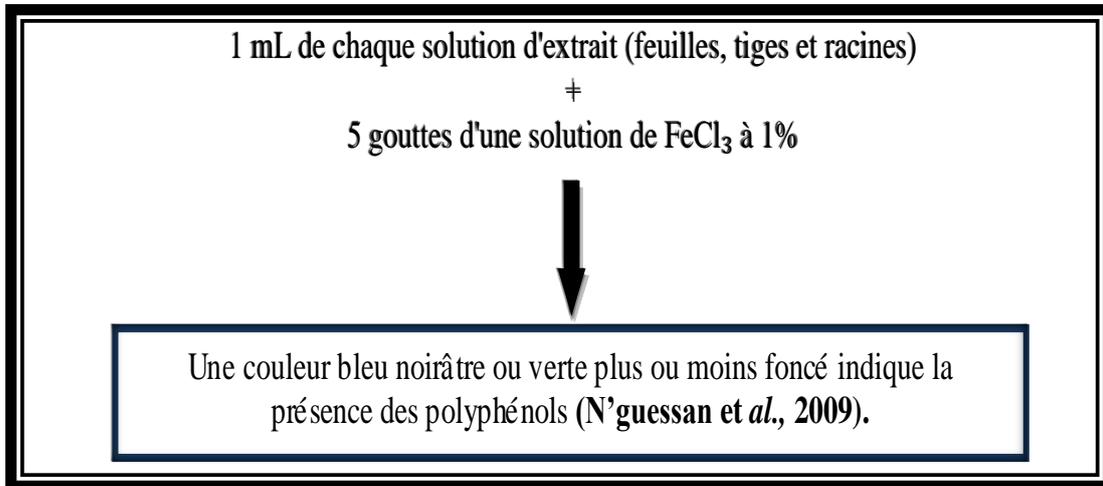


Figure 11 Protocole de détection des polyphénols.

B. Détection des flavonoïdes

Le protocole de détection des flavonoïdes a été illustré dans la figure ci-dessous (**Figure 12**).

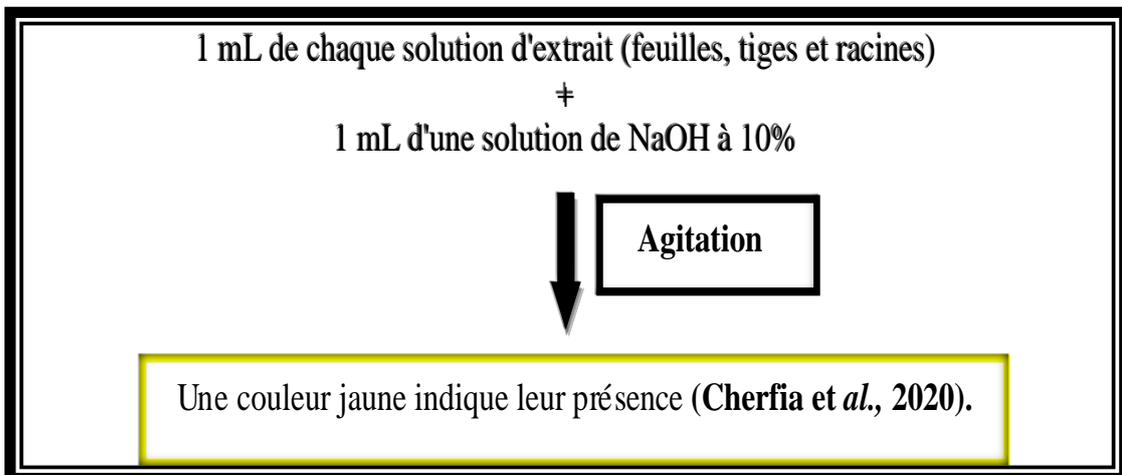


Figure 12 Protocole de détection des flavonoïdes.

C. Détection des alcaloïdes

La détection des alcaloïdes a été effectuée suivant le protocole ci-dessous (Figure 13).

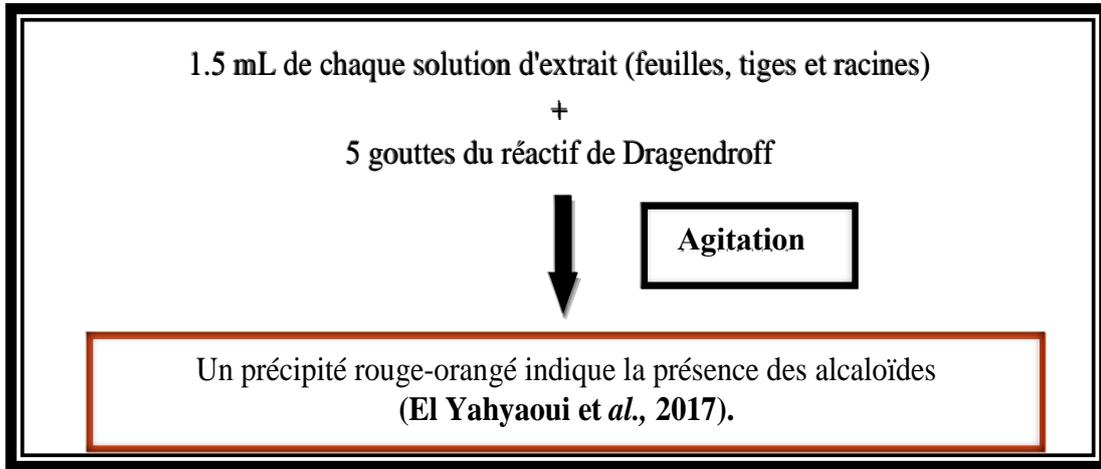


Figure 13 Protocole de détection des alcaloïdes.

D. Détection des saponines

En pratique, les saponosides sont caractérisés par un indice de mousse, déterminé sur un décoté obtenu par ébullition prolongée. Après agitation, la hauteur de mousse est mesurée (Bruneton, 1999). Les saponines sont détectées selon le schéma suivant (Figure 14) :

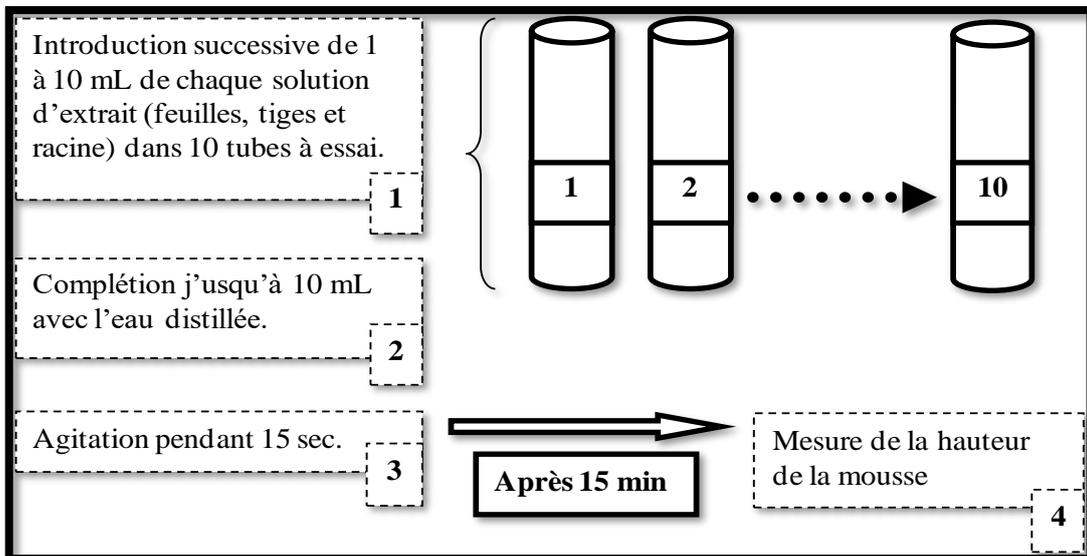


Figure 14 Protocole de détection des saponines.

L'indice de mousse (I) est calculé par la formule suivante :

$$I = 1000/N$$

N : est le numéro du tube où la hauteur de mousse est égale à 1 cm. Un indice de mousse supérieur à 100 indique la présence des saponosides (Khitri et al., 2016).

E. Détection des tannins

La détection des tannins a été effectuée selon le protocole ci-dessous (**Figure 15**) :

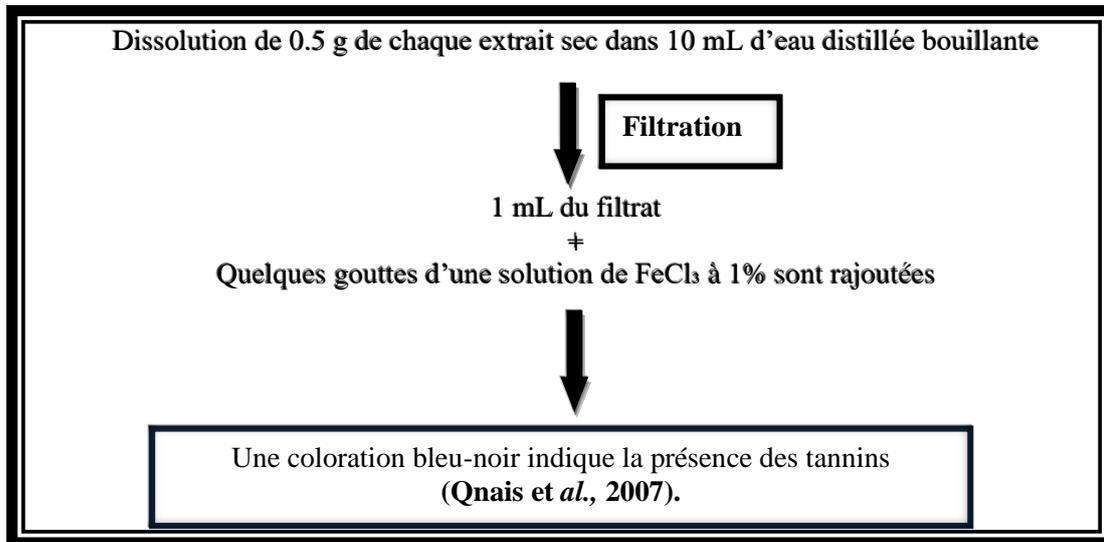


Figure 15 Protocole de détection des tannins.

2.5.2 Dosage colorimétrique des composés phénoliques

2.5.2.1 Dosage des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux des extraits aqueux est estimée selon la méthode colorimétrique de **Cherfia et al. (2017)** en utilisant le réactif du Folin-Ciocalteu.

a) Principe

La technique spectrophotométrique est facile à effectuer, à faible coût, rapide et réalisable dans le laboratoire. Elle est basée sur la réaction d'oxydoréduction entre les phénols présents dans les extraits et le réactif du Folin-Ciocalteu, qui est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique dans un milieu alcalin en un complexe bleu détectable et quantifiable par le spectrophotomètre à 765 nm (**Miguel-Chávez, 2017**).

b) Mode opératoire

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé comme l'illustre le schéma suivant (**Figure 16**) :

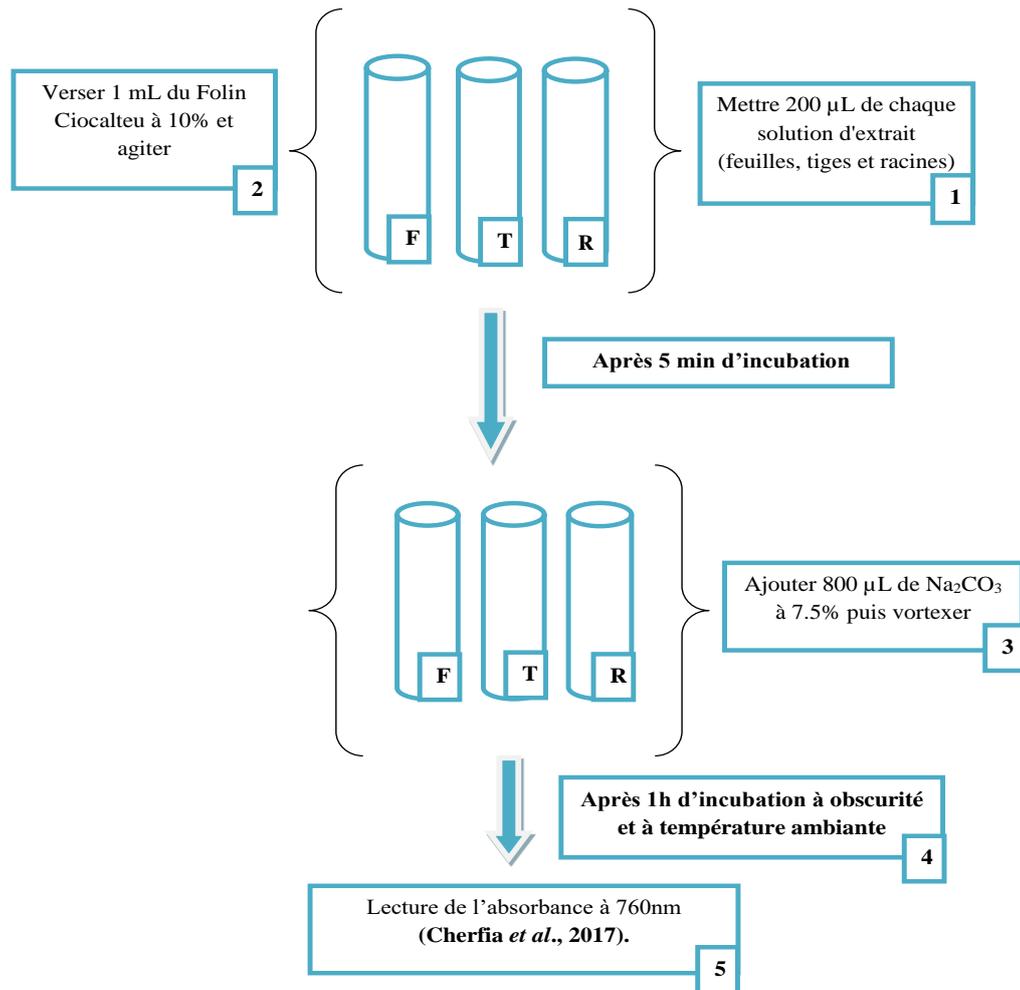


Figure 16 Protocole du dosage des polyphénols totaux (Cherfia et al., 2017).

La courbe d'étalonnage est obtenue en mesurant l'absorbance du standard 'acide gallique' à différentes concentrations (0.39-0.78-1.56-3.125-6.25-12.5-25-50-100-200 µg /mL) (Annex I).

Les blancs et les différentes concentrations de l'acide gallique sont préparés suivant le même protocole (Figure 16) en remplaçant la solution d'extrait avec l'eau distillée et l'acide gallique (respectivement). Ce protocole a été répété trois fois.

La droite d'étalonnage préalablement établie nous a servi à exprimer les résultats de tous les échantillons étudiés. Ces résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g MS).

2.5.2.2 Dosage des flavonoïdes totaux

L'application de la méthode du trichlorure d'aluminium (AlCl_3) décrite par **Cherfia et al. (2017)** est fréquemment utilisée pour estimer la teneur des flavonoïdes totaux dans les extraits aqueux des différentes parties de la plante.

a) Principe

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre en position 5' susceptible de donner un complexe coloré avec le groupement carbonyle (CO) et le chlorure d'aluminium. Ils 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 (**Ribéreau-Gayon et al., 1982**).

b) Mode opératoire

La quantification des flavonoïdes totaux a été effectuée selon le protocole suivant (**Figure 17**) :

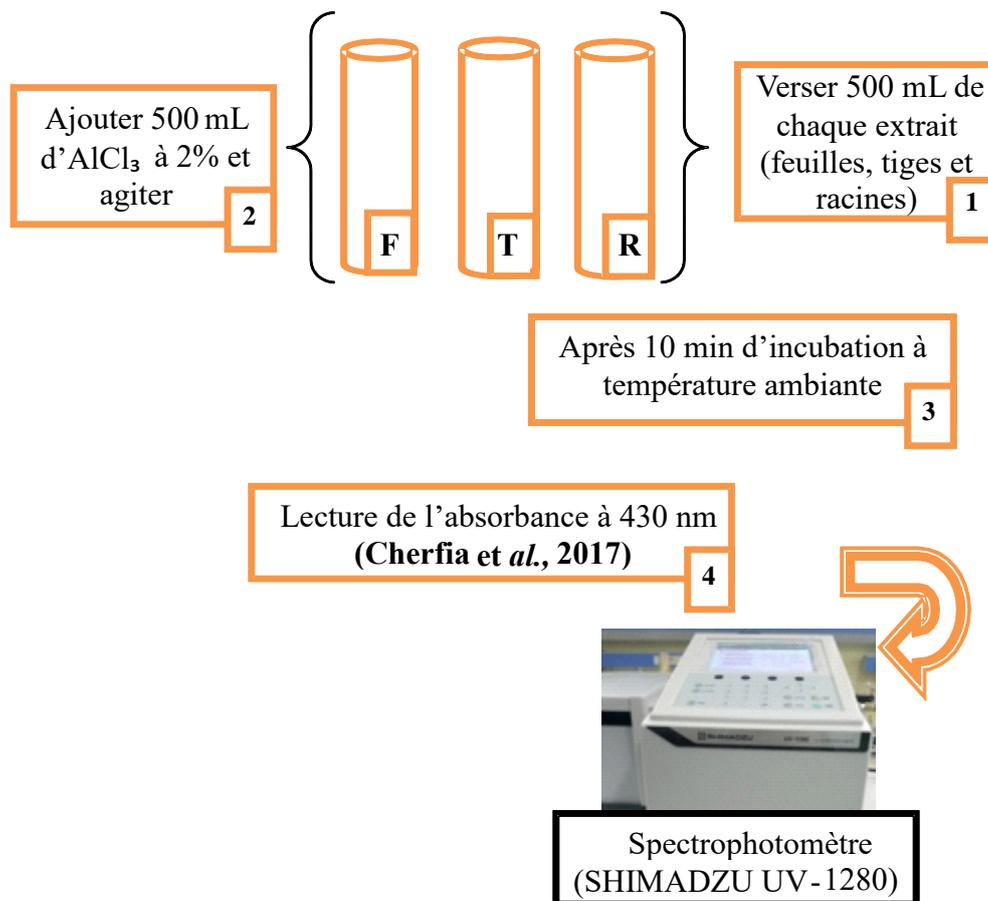


Figure 17 Protocole du dosage des flavonoïdes totaux (**Cherfia et al., 2017**).

La courbe d'étalonnage du standard est obtenue en mesurant l'absorbance de la quercétine utilisée à différentes concentrations (20-40-60-80-100-120-140-160-180-200 µg/mL) (**Annex I**). Les blancs sont préparés en mélangeant 500 µL d'eau distillée avec 500 µL d'AlCl₃. Ce protocole a été répété trois fois (**Figure 17**).

La concentration des flavonoïdes totaux a été déterminée à partir de l'équation de régression linéaire déduite de la courbe d'étalonnage de la quercétine. Les résultats ont été exprimés en milligrammes d'équivalents de quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g MS).

2.5.2.3 Dosage des tannins condensés

Le dosage des tannins condensés a été réalisé selon la méthode du n-BuOH-HCl développée par **Porter et al. (1986)**.

a) Principe

Cette technique est une méthode colorimétrique basée sur la réaction de dépolymérisation des tannins condensés en milieu acide qui implique le clivage oxydatif des proanthocyanidines aux sulfates de fer. Cette réaction conduit à la libération des anthocyanidines (molécules colorées) correspondants aux monomères clivés. Elle permet un dosage semi-quantitatif des tannins condensés car les monomères terminaux libérés ne donnent pas les anthocyanidines correspondantes et par conséquent, ils ne sont pas dosés. Cependant, la méthode du Butanol-HCl reste la méthode la plus utilisée pour le dosage des tannins condensés (**Makkar, 2000; Schofield et al., 2001**).

b) Mode opératoire

Le protocole présenté ci-dessous (**Figure 18**) a été suivi pour quantifier les tannins condensés :

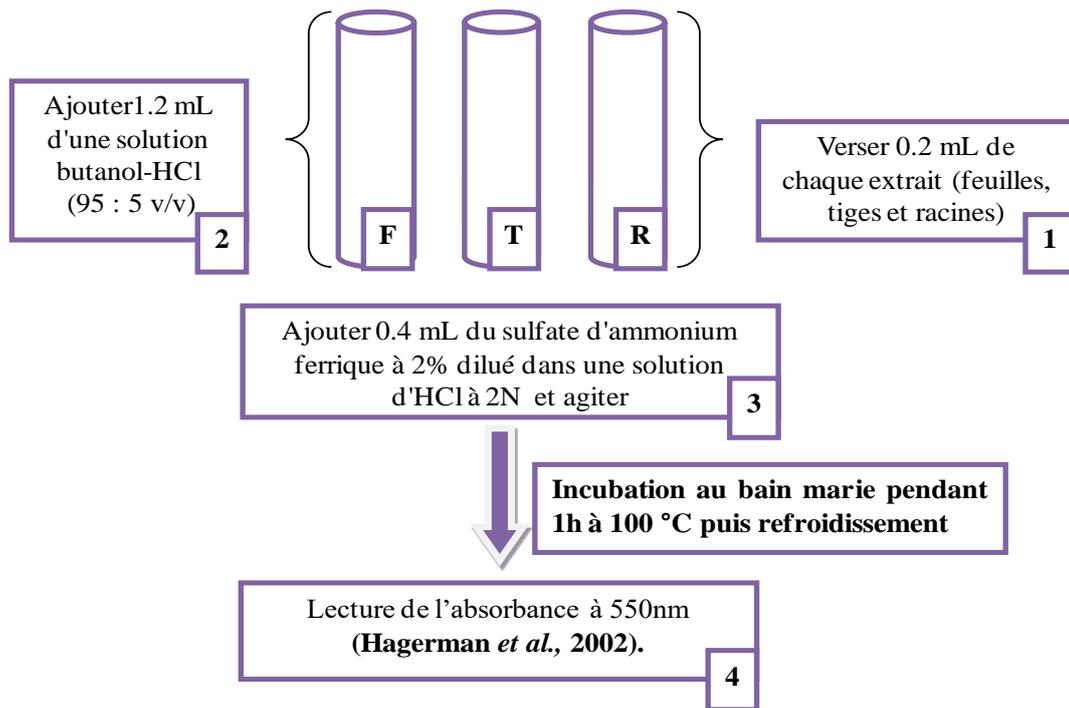


Figure 18 Protocole du dosage des tannins condensés (Porter et al., 1986).

La courbe d'étalonnage des tannins condensés est obtenue en mesurant l'absorbance de la catéchine utilisée comme standard à différentes concentrations (0.06-0.12-0.18-0.24-0.3 mg /mL) (Annex I).

Les blancs et les différentes concentrations du standard sont préparés suivant le même protocole (Figure 18) en remplaçant la solution d'extrait avec l'eau distillée et la catéchine respectivement. Ce protocole a été répété trois fois.

La teneur en tannins condensés est déterminée à partir de l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage de la catéchine. Les résultats ont été exprimés en milligrammes d'équivalents de catéchine par gramme de matière sèche (mg EC/g MS).

2.6 Détermination de l'activité anti-oxydante

Dans cette partie nous nous intéressons à l'étude de l'activité anti-oxydante *in vitro* par trois méthodes : la capacité anti-oxydante totale (CAT), piégeage du radical libre 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) et le pouvoir réducteur du fer (FRAP). Chacun de ces tests a été répété trois fois.

2.6.1 Capacité anti-oxydante totale (CAT)

La capacité antioxydante totale (CAT) des échantillons a été évaluée par la méthode du phosphomolybdène selon la procédure décrite par Prieto et al. (1999).

a) Principe

Cette technique est basée sur la réduction de molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate MoO_4^{2-} au molybdène Mo (V) MoO^{2+} en présence de l'extrait, pour former un complexe vert de phosphate/Mo (V) à pH acide (Ghalem, 2014; Halmi, 2015; Madi, 2018).

b) Mode opératoire

Un aliquote de 0.1 mL de chaque solution d'échantillon a été mélangé dans un tube Eppendorf avec 1 mL de solution du réactif (0.6 M d'acide sulfurique, 28 mM du phosphate de sodium et 4 mM de molybdate d'ammonium). L'acide ascorbique a été utilisé comme standard. Ce dernier ainsi que le blanc ont été préparés suivant le même protocole en remplaçant la solution d'extrait par la solution d'acide ascorbique et l'eau distillée respectivement. Tous les tubes, échantillons et blancs, ont été recouverts et incubés dans un bloc thermique à 95 °C pendant 90 minutes. Une fois le mélange refroidi à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 695 nm. La CAT a été exprimée en mg équivalents d'acide ascorbique par gramme de matière sèche (mg EAA/g MS) (Halmi, 2015; Cherfia et al., 2020).

2.6.2 Piégeage du radical libre DPPH

L'activité anti-radicalaire a été déterminée par la méthode du DPPH décrite par (Lebeau et al., 2000; Molyneux, 2004).

a) Principe

La molécule de 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) est un radical libre stable ayant une coloration violette en solution dans le méthanol ou l'éthanol. Elle possède une absorption caractéristique à 517 nm. Cette méthode spectro-photométrique utilise le radical DPPH de couleur violette comme réactif, qui vire au jaune en présence des capteurs de radicaux libres, et se réduit en DPPH^+ . L'intensité de la couleur jaune obtenue après réaction est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu réactionnel. Le virage vers cette coloration et l'intensité de la décoloration découlent de la nature, la concentration et la puissance des principes actifs présents (Figure 19) (Miguel-Chávez, 2017; Douaouri, 2018 ; Madi, 2018).

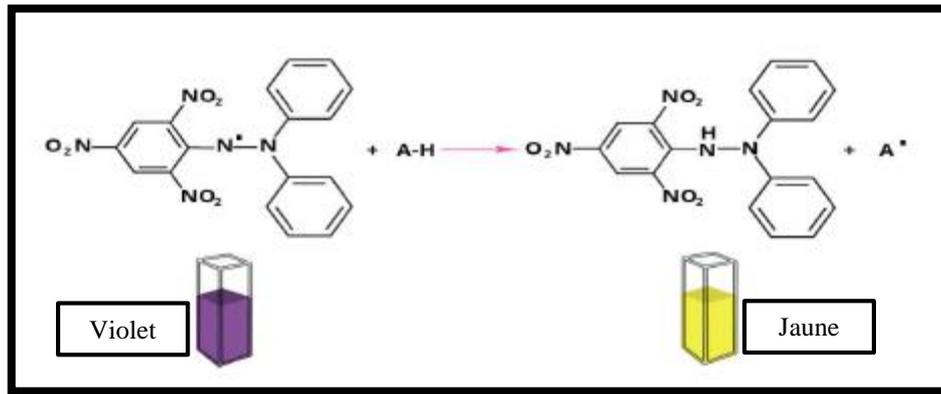


Figure 19 Réaction de réduction de DPPH en présence d'un antioxydant (Dridi, 2015).

b) Mode opératoire

Cette méthode consiste à la préparation de différentes dilutions (0.01-0.02-0.04-0.06-0.08 et 0.1 mg/mL) des extraits aqueux de la plante (feuilles, tiges et racines) et du standard. Les extraits sont testés contre un blanc qui contient la solution méthanolique du DPPH incubée dans les mêmes conditions que les échantillons. Le BHT a été utilisé comme témoin positif (substance de référence) (Figure 20).

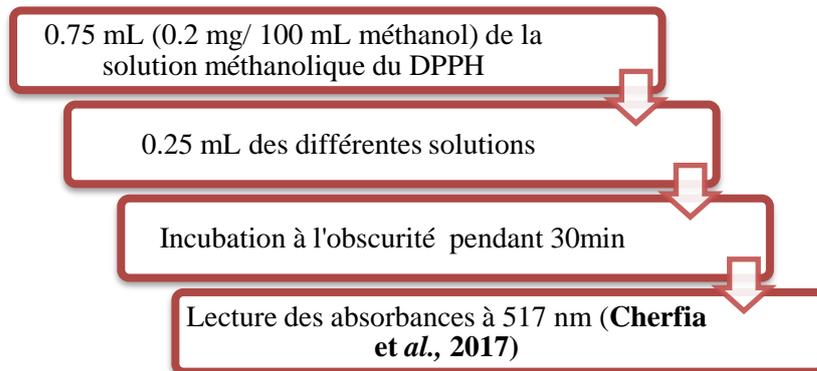


Figure 20 Protocole du piégeage du radical DPPH (Lebeau et al., 2000; Molyneux, 2004).

L'activité anti-radicalaire est estimée selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'activité antioxydante} = \frac{(\text{Abs}_{\text{contrôle}} - \text{Abs}_{\text{échantillon}})}{\text{Abs}_{\text{contrôle}}} \times 100 \text{ (Madi, 2018).}$$

Abs_{contrôle} : Absorbance du contrôle positif (Solution DPPH sans extrait).

Abs_{échantillon} : Absorbance de l'échantillon.

▪ **Calcul des concentrations inhibitrices CI_{50}**

Les résultats sont exprimés par la concentration inhibitrice de 50% (CI_{50}). C'est la concentration nécessaire de l'échantillon testé pour réduire 50% du radical DPPH. Les CI_{50} sont calculées graphiquement à partir des équations de régression linéaire tracées. Une faible CI_{50} indique une forte activité antioxydante (Erenler et al., 2016; Cherfia et al., 2017).

2.6.3 Pouvoir réducteur du fer (FRAP)

Le pouvoir réducteur d'ion ferrique des échantillons a été déterminé selon la méthode décrite par Ferriera et al. (2007).

a) Principe

La méthode du pouvoir réducteur du fer est basée sur le changement de coloration lors de la réduction du fer de forme ions ferriques (Fe^{3+}) en ions ferreux (Fe^{2+}) par transfert d'électrons en présence d'un antioxydant (Elkhamlichi, 2017 ; Benzie et Devaki, 2018). La forme réduite donne une couleur bleue qui est proportionnelle au pouvoir réducteur de l'extrait. De ce fait, cette densité de couleur est mesurée à 700 nm. Ce test est peu coûteux, simple, reproductible et rapide ; il est utilisé pour indiquer la présence des composés phénolique (Benzie et Devaki, 2018; Cherfia et al., 2020).

b) Mode opératoire

0.25 mL des différentes concentrations (100-200-300-400 et 500 $\mu\text{g/mL}$) des extraits aqueux de la plante et de la substance de référence (l'acide ascorbique) sont mélangées avec 0.25 mL du tampon phosphate (0.2 M, $\text{pH}=6.6$) et 0.25 mL du ferricyanure de potassium [$(K_3Fe(CN)_6$] à 1% puis vortexé et incubé dans un bain marie à 50°C pendant 20 minutes. Ensuite, 0.25 mL d'acide trichloracétique (TCA) à 10% est ajouté au mélange. Enfin, 1 mL d'eau distillée et 1 mL du chlorure ferrique ($FeCl_3$) à 10% sont ajoutés au mélange puis laissés pour réagir pendant 10 minutes à obscurité. L'absorbance est lue à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (SHIMADZU UV-1280) contre un témoin négatif et un témoin positif (l'acide ascorbique). Ces deux derniers sont préparés en suivant le même protocole en remplaçant la solution d'extrait par l'eau distillée et la solution d'acide ascorbique respectivement.

L'absorbance est directement proportionnelle au pouvoir réducteur ; la plus grande absorbance d'un mélange correspond à un bon pouvoir réducteur. Le pouvoir réducteur des extraits est estimé par les valeurs de la CE_{50} qui sont calculées à partir des équations de régression des courbes d'absorbance (Elmastas et al., 2015; Cherfia et al., 2020).

c) Analyse statistique

Les données expérimentales du dosage et de l'activité antioxydante obtenues ont été exprimées par la moyenne de 3 répétitions \pm écartype. Les équations des courbes ainsi que les coefficients de corrélation ont été déterminés en utilisant l'**Excel 2016**.



Résultats et discussion

3. Résultats et discussion

3.1 Rendement d'extraction

L'extraction est une étape très importante pour l'isolement et l'identification des principes actifs à haute valeur ajoutée à partir de la matière végétale, notamment le cas des polyphénols, qui suscitent actuellement beaucoup d'intérêt grâce à leurs activités biologiques diverses en particulier leurs propriétés antioxydante et anti-inflammatoire (Mayouf, 2019).

Dans la présente étude, la méthode d'extraction utilisée a été **la décoction aqueuse** car elle permet d'extraire les composés thermostables et les matières végétales dures comme les racines et les écorces (Azwanida, 2015).

Le tableau suivant indique les rendements des décoctés aqueux des feuilles, des tiges et des racines de la plante étudiée.

Tableau 8 Rendements et caractéristiques de l'extrait sec des décoctés aqueux de *C. spinosa*.

Décoctés	Texture	Couleur	Rendement
Feuilles	Poudre moyennement fine	Kaki foncé brillant	29.7%
Tiges	Pâteuse	Kaki foncé	11%
Racines	Pâteuse	Kaki foncé	3.6%

Les résultats illustrés dans le tableau ci-dessus montrent une variation plus ou moins importante du rendement d'un organe à l'autre. Le décocté aqueux des feuilles possède le rendement le plus élevé (29.7%) suivi de celui des tiges (11%) puis de celui des racines (3.6%). A l'exception de l'extrait sec des feuilles, les autres extraits ont la même couleur et la même texture.

Le rendement des feuilles est important par rapport à celui des feuilles de *Satureja calamintha ssp. Nepeta (L.)* Briq. sur lesquelles **Bougandoura et Bendimerad (2013)** avaient travaillé. Ils ont obtenu un rendement de l'ordre de 22.19 % suite à une décoction aqueuse et de l'ordre de 8.58 % suite à une macération méthanolique.

Les rendements des feuilles et des tiges sont également élevés par rapport à ceux des tiges feuillées de deux espèces de *Indigofera* sur lesquelles **Bakasso (2009)** a travaillé. Une macération à l'acétone 80% a été effectuée et des rendements estimés à 10.56% (*I. pulachra*) et à 25.26% (*I. tinctoria*) ont été révélés.

Un autre travail de **Haddouchi et al. (2014)** sur des extraits hydro-méthanoliques des tiges feuillées de deux plantes de la famille des Asteraceae : *Helichrysum stoechas* subsp. *rupestre* et *Phagnalon saxatile* subsp. *Saxatile* a indiqué des rendements de l'ordre de 13.50 ± 0.40 et de $09.00 \pm 0.33\%$, respectivement. Ces valeurs sont inférieures à celles des décoctés des feuilles et des tiges qu'on a trouvées.

A l'exception des racines, nos résultats sont considérablement supérieurs à ceux trouvés par **Allangba et al. (2016)**. Suite à une décoction éthanolique des feuilles, des tiges et des racines de *Sckrankia leptocarpa*, des rendements égaux à 7.76%, à 6.36% et à 11.20% ont été estimés respectivement.

Un travail plus récent de **Benchaachoua (2019)** sur des décoctés aqueux des feuilles et des tiges de *Silybum marianum* a indiqué des rendements plus ou moins comparables à ceux qu'on a estimés, des valeurs de l'ordre de $24.65 \pm 10.77\%$ et de $20.12 \pm 3.70\%$ ont été rapportées consécutivement.

Les résultats précédents montrent des rendements plus ou moins importants des décoctés aqueux de *C. spinosa*, en particulier celui des feuilles. En fait, plusieurs travaux montrent que les rendements sont plus élevés pour l'extrait aqueux que l'hydro-méthanolique. Cela peut être expliqué par le fait que l'eau est un solvant fortement polaire connu pour extraire une large gamme de molécules dont une quantité importante de composés non phénoliques. En effet, l'eau est le solvant universel utilisé pour l'extraction (**Benchaachoua, 2019**).

Les rendements d'extraction dépendent du végétal étudié, des propriétés génétiques, de l'origine géographique, du temps et température, de la durée du stockage, de la période de récolte, des méthodes d'extraction appliquées et de la nature des caractéristiques physico-chimiques des solvants utilisés. En effet, la solubilité des substances contenues dans la matière végétale dans un solvant donné dépend de ces propriétés (**Hadj salem, 2009; Boubekri, 2014; Mayouf, 2019**).

3.2 Screening phytochimique

La détection des métabolites primaires et secondaires dans les décoctés aqueux de *C. spinosa* a été effectuée en utilisant des tests spécifiques pour chaque groupe chimique. Les résultats ont parfois été confirmés en employant des standards et achevés soit par la présence d'une précipitation ou par un changement de couleur.

L'ensemble des résultats des tests de caractérisation réalisés sur les décoctés aqueux des feuilles, des tiges et des racines sont représentés dans les tableaux suivants (**Tableau 9**) :

Tableau 9 Criblage phytochimique des feuilles, des tiges et des racines de *C. spinosa* (Cont.).

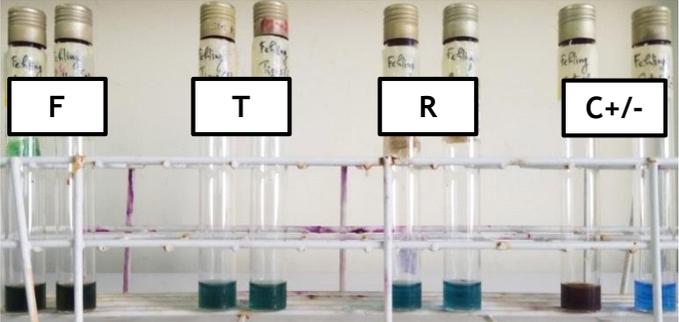
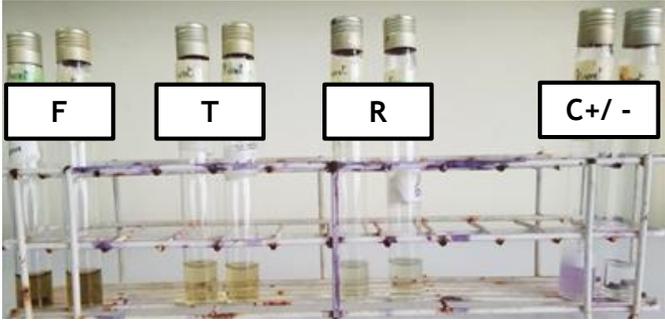
Groupe chimique	Test de détection	Observation «Standard»	Résultats			
			Feuilles	Tiges	Racines	Photos
Glucides	Fehling	Précipité rouge brique	++	++	+	
Protéines	Biuret	Couleur pourpre ou violette	-	-	-	

Tableau 9 Criblage phytochimique des feuilles, des tiges et des racines de *C. spinosa* (Cont.).

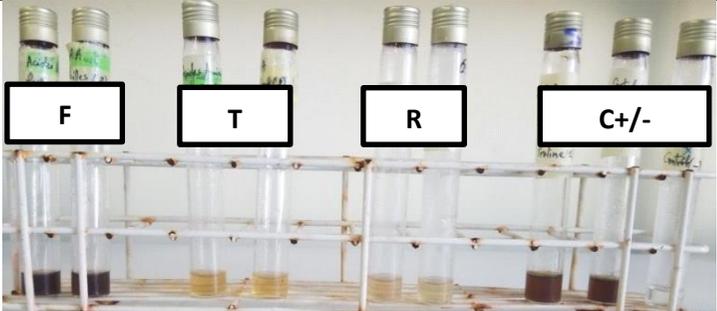
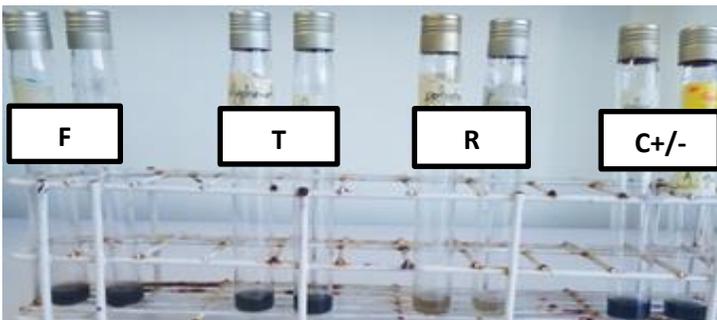
Groupe chimique	Test de détection	Observation «Standard»	Résultats			
			Feuilles	Tiges	Racines	Photos
Acides aminés	Test de ninhydrine	Couleur pourpre	-	-	-	
Polyphénols	Test de chlorure ferrique	Couleur verte foncée	+++	++	+	

Tableau 9 Criblage phytochimique des feuilles, des tiges et des racines de *C. spinosa* (Cont.).

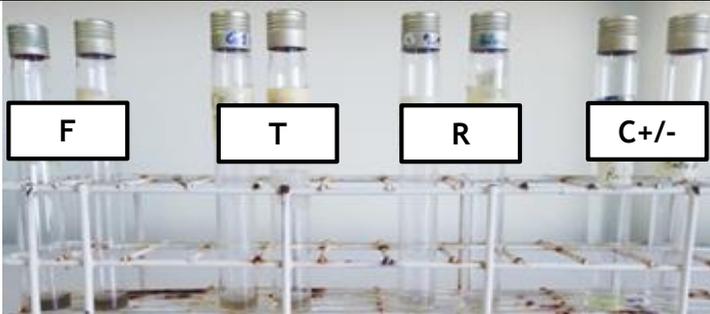
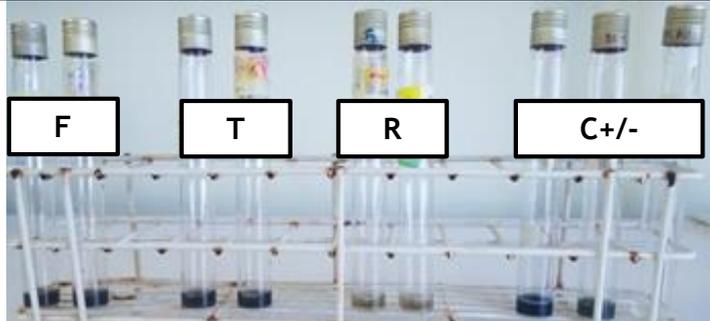
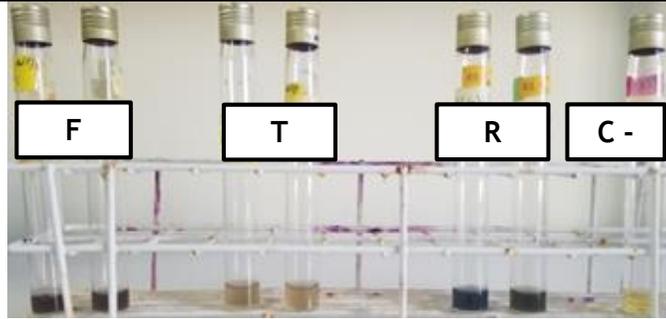
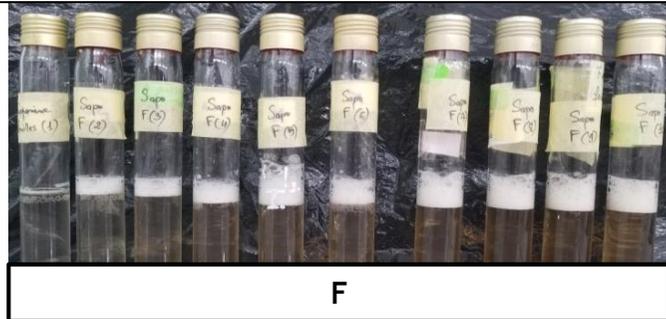
Groupe chimique	Test de détection	Observation «Standard»	Résultats			
			Feuilles	Tiges	Racines	Photos
Flavonoïdes	Test d'hydroxyde de sodium	Couleur jaune	+++	++	+	
Tannins	Test de chlorure ferrique	Couleur verte foncée	+++	++	+	

Tableau 9 Criblage phytochimique des feuilles, des tiges et des racines de *C. spinosa* (Cont.).

Groupe chimique	Test de détection	Observation «Standard»	Résultats			
			Feuilles	Tiges	Racines	Photos
Alcaloïdes	Test de Dragendorff	Formation d'un précipité rouge-orangé	++	+	-	
Saponosides	Indice de mousse	Indice de mousse \geq 100 pour le tube dont la hauteur est égale à 1 cm	+	-	-	

Quantité importante : (+++), modeste quantité : (++) , faible quantité : (+), absence (-).

F : Feuilles , T : Tiges, R : Racines, C +/- : Contrôle positif / contrôle négatif .

Les résultats du criblage phytochimique présentés dans le tableau ci-dessus montrent la présence de différents groupes de métabolites secondaires dans les trois parties de la plante tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les tannins et les saponines ; ainsi que la présence des glucides (métabolites primaires). Les protéines et les acides aminés étaient par contre absents dans les trois parties de la plante.

Les flavonoïdes, les polyphénols et les tannins sont les composés les plus abondants dans la plante. Ils sont présents en quantités importantes dans les décoctés aqueux des feuilles et des tiges respectivement. Les racines étaient toujours la partie la moins riche en métabolites.

Les alcaloïdes étaient absents dans les racines tandis que les saponosides n'étaient présent que dans les feuilles.

Ces résultats sont similaires à ceux de **Cherfia et al. (2017)** notamment concernant la présence des polyphénols, des flavonoïdes, des tannins, des alcaloïdes et des saponines ainsi que des glucides dans les feuilles de *C. spinosa*.

Ces résultats peuvent aussi être comparables à celles de **Bakasso (2009)** surtout à propos de la présence des flavonoïdes, des saponosides, des tannins et/ou des polyphénols dans les tiges feuillées de cinq espèces du genre *Indigofera* (Fabaceae). Cependant, les coumarines n'étaient présentes que dans l'extrait de *I. pulchra* et aucune des cinq espèces n'a présentée d'alcaloïde.

Un travail plus récent conduit par **Ayoola et al. (2018)** sur les feuilles de *Desmodium ascendens* (Fabaceae) a révélé également la présence des mêmes groupes de métabolites primaires et secondaire : sucres réducteurs, polyphénols, flavonoïdes, tannins, alcaloïdes et saponines.

Les résultats précédents montrent que la présence ou l'absence de certains métabolites secondaires varie selon la partie de la plante. En fait, les métabolites secondaires se trouvent dans toutes les parties de plantes, mais ils sont distribués différemment selon leurs rôles ; cette distribution change d'une plante à l'autre (**Muanda, 2010**).

Chez les Angiospermes, la diversité structurale des flavonoïdes est maximale. Ils sont de façon très générale localisés dans les feuilles (dans l'épiderme ou entre l'épiderme et le mésophylle), dans les fleurs (cellules épidermiques) ou encore dans les fruits (tégument externe) (Boutaghane, 2013).

Généralement, les alcaloïdes sont produits dans les tissus en croissance : jeunes feuilles, jeunes racines. Puis, ils gagnent des lieux différents (Krief, 2004).

3.3 Dosage spectrophotométrique des composés phénoliques

3.3.1 Dosage des polyphénols totaux

L'estimation quantitative des polyphénols totaux des différentes parties de *C. spinosa* a été réalisée selon la méthode du Folin-Ciocalteu décrite par Cherfia et al. (2017), en utilisant l'acide gallique comme standard. La courbe d'étalonnage a été ajustée, avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0.995$ et une équation de régression $y = 2.292x + 0.058$ (Figure 21).

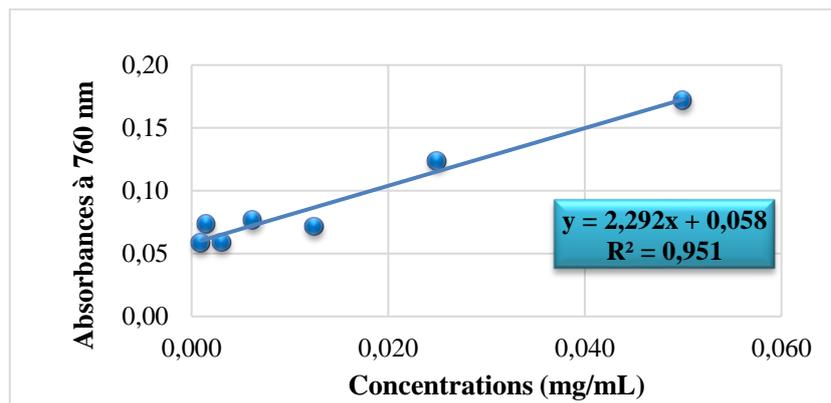


Figure 21 Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Les résultats présentés dans l'histogramme ci-dessous (Figure 22) indiquent une variation considérable des teneurs en polyphénols totaux dans les différents décoctés aqueux de *C. spinosa*.

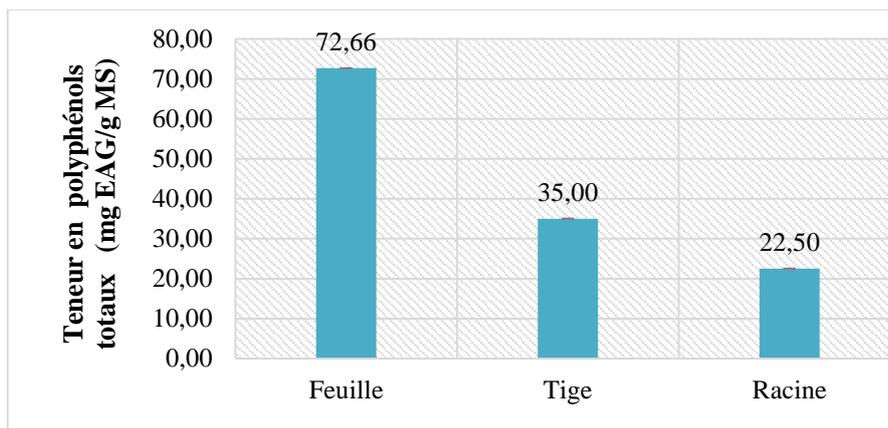


Figure 22 Teneurs en polyphénols totaux dans les décoctés aqueux des feuilles, des tiges et des racine de *C. spinosa*.

Les teneurs en polyphénols totaux varient entre 22.50 ± 0.025 et 72.66 ± 0.02 mg EAG/g MS. L'extrait aqueux des feuilles possède la meilleure teneur en polyphénols totaux (72.66 ± 0.02 mg EAG/g MS) suivi de celui des tiges (35.00 ± 0.01 mg EAG/g MS) et des racines (22.50 ± 0.025 mg EAG /g MS), respectivement.

3.3.2 Dosage des flavonoïdes totaux

La raison principale pour laquelle on a choisi cette classe de polyphénols, réside dans le fait que les flavonoïdes totaux constituent la classe polyphénolique la plus importante, avec plus de 5000 composés déjà décrits (Gomez-Caravaca et al., 2006).

L'estimation de la quantité des flavonoïdes totaux contenus dans les différents extraits aqueux de *C. spinosa* a été effectuée suivant la méthode du trichlorure d'aluminium décrite par Cherfia et al. (2017), en utilisant la quercétine comme standard. La courbe d'étalonnage a été ajustée, avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0.982$ et une équation de régression $y = 0.01493x + 0.066$ (Figure 23).

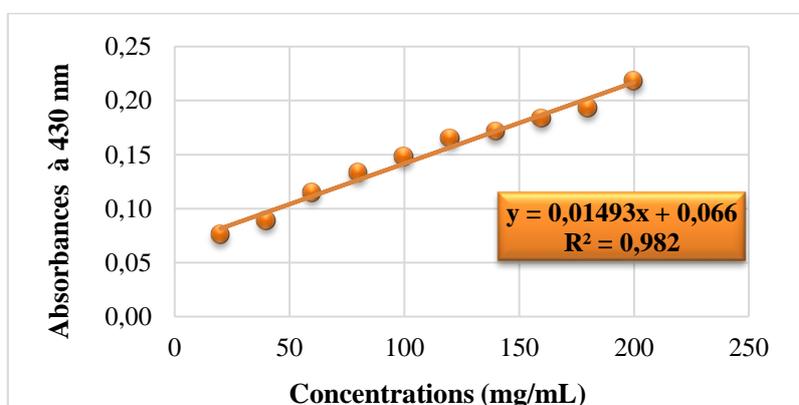


Figure 23 Courbe d'étalonnage de la quercétine.

Les résultats illustrés dans l'histogramme ci-dessous (**Figure 24**) montrent une légère différence dans la teneur en flavonoïdes totaux entre les trois décoctés aqueux de la plante.

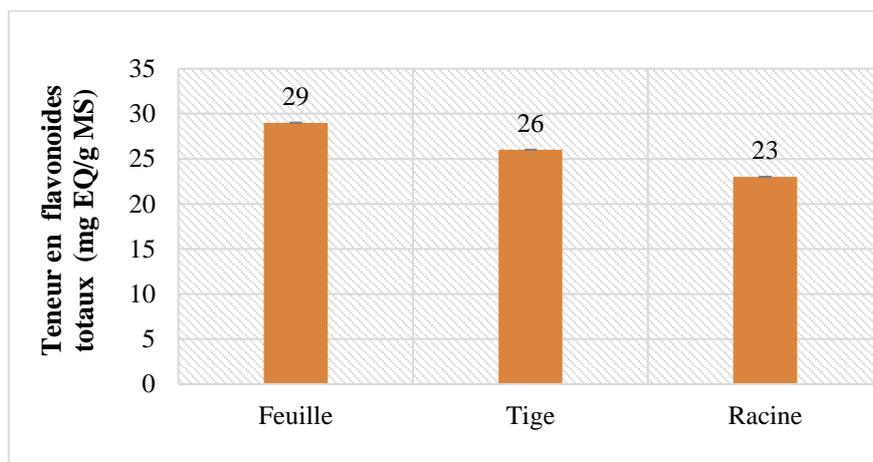


Figure 24 Teneurs en flavonoïdes totaux des décoctés aqueux des feuilles, des tiges et des racines de *C. spinosa*.

La teneur en flavonoïdes totaux varie entre 23.00 ± 0.00 et 29.00 ± 0.02 mg EQ/g MS. L'extrait aqueux des feuilles représente la teneur la plus élevée avec 29.00 ± 0.02 mg EQ/g MS suivi de celui des tiges (26.00 ± 0.01 mg EQ/g MS) et des racines (23.00 ± 0.00 mg EQ/g MS), successivement.

3.3.3 Dosage des tannins condensés

La méthode décrite par **Porter et al. (1986)** a permis de quantifier les tannins condensés dans les différents extraits de la plante en utilisant la catéchine comme standard. La courbe d'étalonnage a été ajustée, avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0.974$ et une formule de régression $y = 0.203x + 0.041$ (**Figure 25**).

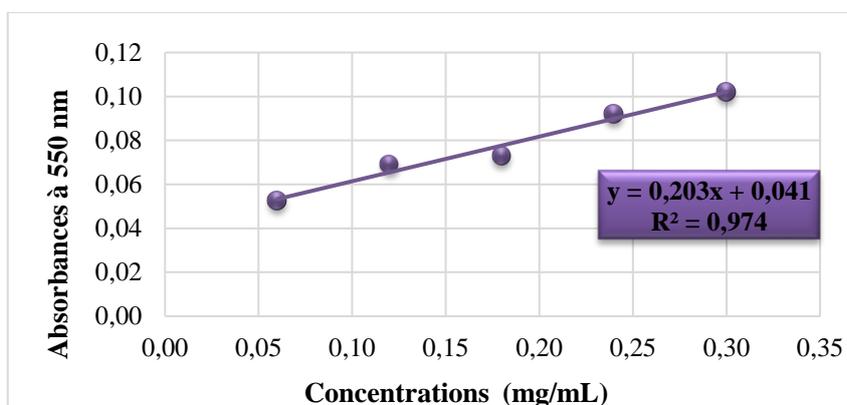


Figure 25 Courbe d'étalonnage de la catéchine.

Les teneurs en tannins condensés ont été calculées à partir de l'équation de régression linéaire de la catéchine. Les résultats obtenus sont illustrés dans l'histogramme ci-dessous (**Figure 26**).

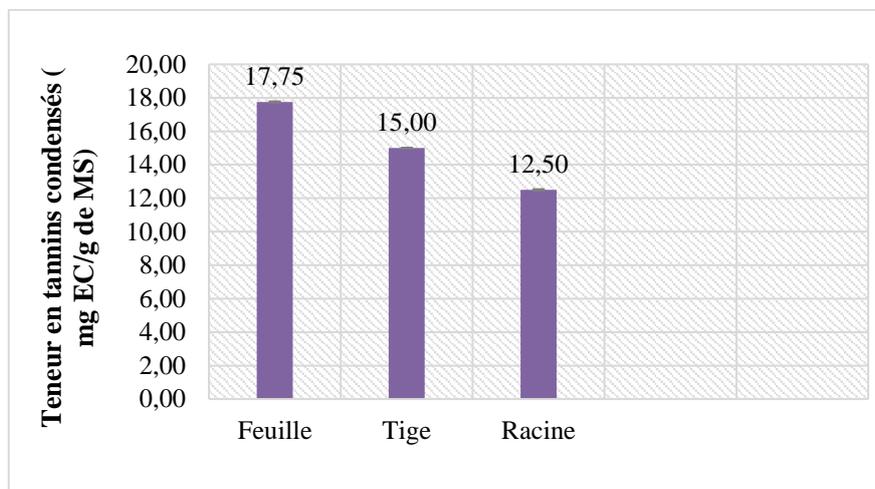


Figure 26 Teneurs en tannins condensés dans les décoctés aqueux des feuilles, des tiges et des racines de *C. spinosa*.

Selon les résultats présentés dans la figure ci-dessus, la teneur en tannins condensés varie entre 12.50 ± 0.04 et 17.75 ± 0.04 mg EC/g MS. Celle-ci est considérée faible par rapport aux autres composés phénoliques (polyphénols totaux et flavonoïdes totaux).

L'extrait aqueux des feuilles révèle toujours la teneur la plus élevée avec 17.75 ± 0.04 mg EC/g MS, suivi constamment de celui des tiges (15.00 ± 0.00 mg EC/g MS) et des racines (12.50 ± 0.04 mg EC/g MS), respectivement.

L'ensemble des résultats du dosage des polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et tannins condensés des trois extraits de la plante figurent dans le tableau suivant (**Tableau 10**).

Tableau 10 Quantification des composés phénoliques des décoctés aqueux des feuilles, des tiges et des racines de *C. spinosa*.

Décoctés aqueux	Polyphénols totaux (mg EAG/g MS)	Flavonoïdes totaux (mg EQ/g MS)	Tannins condensés (mg EC/g MS)
Feuilles	72.66 ± 0.02	29.00 ± 0.02	17.75 ± 0.04
Tiges	35.00 ± 0.01	26.00 ± 0.01	15.00 ± 0.00
Racines	22.50 ± 0.025	23.00 ± 0.00	12.50 ± 0.04

L'estimation quantitative des composés phénoliques dans les décoctés aqueux des feuilles, des tiges et des racines de *C. spinosa* indique que l'extrait aqueux des feuilles est le plus riche en polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et tannins condensés ; suivi de celui des tiges et des racines respectivement (**Tableau 10**).

Le travail effectué par **Boudechiche et al. (2014)** sur les feuilles de neuf arbustes fourragers a indiqué des teneurs en polyphénols totaux et tannins totaux dans les feuilles de *C. spinosa* de l'ordre de 119.43 mg équivalent acide tannique/g MS (mg EAT/g MS) et de 83.68 mg EAT/g MS, respectivement. Ces teneurs sont considérées beaucoup plus supérieures à celles qu'on a obtenues ; cela est peut-être dû à la différence dans la période de récolte.

Nos résultats sont significativement supérieurs à ceux obtenus par **Ayoola et al. (2018)** qui ont travaillé sur l'extrait hydro-méthanoliques des feuilles de *Desmodium adscendens* (Fabaceae). Les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes totaux et en tannins condensés étaient de l'ordre de 11.5 mg EAG/ g MS, de 12.84 mg EC/ g MS et de 0.39 mg EC/ g MS, successivement.

Le travail de **Mahmoudi et al. (2013)** sur différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus L.*) (Asteraceae) a indiqué que l'extrait aqueux des tiges avait des teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes totaux et en tannins condensés estimées à 14.49 ± 1.51 mg EAG/g MS, à 4.18 ± 0.49 mg EQ/g MS et à 4.40 ± 0.26 mg EC/g MS, respectivement. Ces résultats sont largement inférieurs à ceux qu'on a obtenus.

Concernant la quantification des tannins condensés, nos résultats sont significativement supérieurs par rapport à ceux trouvés par **Haddouchi et al. (2014)** qui ont travaillé sur un extrait hydro-méthanolique des feuilles de *Helichrysum stoechas subsp. Rupestre* et *Phagnalon saxatile* sub sp. *Saxatile* (Asteraceae) récoltées de la région de Tlemcen. Des teneurs de 3.21 ± 0.19 et de 2.08 ± 0.28 mg EC/g MS ont consécutivement été rapportées.

La variation qualitative et quantitative du contenu des composés phénoliques peut être attribuer à plusieurs facteurs; climatiques et environnementaux, période de récolte, stade de développement végétatif de la plante (le degré de maturité, l'âge des feuilles et des fleurs), patrimoine génétique et méthodes d'extraction et de quantification (**Bentabet et al., 2014; Halmi, 2015; Boudechiche et al., 2014**).

Il a été prouvé que la teneur en flavonoïdes est élevée lorsque le milieu de vie de la plante n'est pas adéquat. Dans ce cas, la plante favorise la synthèse des métabolites secondaires afin de s'adapter et de survivre (**Benchaachoua, 2019**).

Les faibles teneurs en tannins condensés dans les différentes parties de la plante étudiée, comparées avec celles des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux, sont probablement dues au fait que l'eau n'est pas le solvant approprié à l'extraction de ces composés. Cette probabilité est soutenue par plusieurs travaux qui ont montré que les tannins condensés sont mieux extraits par un mélange acétone/eau (70/30) (**Benchaachoua, 2019**).

3.4 Détermination de l'activité antioxydante

Des études récentes ont montrés qu'il peut y avoir des différences dans les résultats de la détermination de l'activité antioxydante d'un produit selon la méthode antioxydante utilisée. Ainsi pour mieux évaluer le potentiel antioxydant d'un extrait de plante, il est nécessaire d'utiliser au moins deux méthodes (**Bangou, 2012**).

Dans cette étude, l'évaluation du pouvoir antioxydant *in vitro* des décoctés aqueux des feuilles, des tiges et des racines de *C. spinosa* a été réalisée par trois tests chimiques à savoir : la capacité antioxydante totale (CAT), le piégeage du radical libre DPPH et le pouvoir réducteur du fer (FRAP).

3.4.1 Capacité antioxydante totale (CAT)

Le test de la CAT est contrairement aux autres tests d'évaluation de l'activité antioxydante, une méthode quantitative qui permet d'évaluer la capacité antioxydante totale d'un extrait (**Cherfia et al., 2020**). Les résultats de ce test ont été confirmés par un virage de couleur verte plus ou moins foncé (**Annexe II**).

La méthode décrite par **Prieto et al. (1999)** a permis d'évaluer la capacité antioxydante totale des décoctés de la plantes (feuilles, tiges et racines). La courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique a été ajustée, avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0.995$ et une formule de régression $y = 0.338x + 0.098$ (**Figures 27, 28**).



Figure 27 Gamme d'étalonnage de l'acide ascorbique.

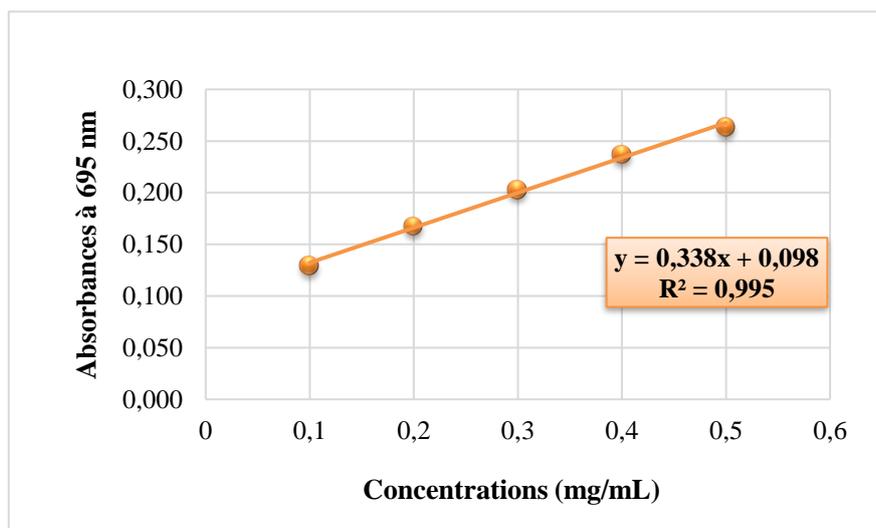


Figure 28 Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique.

La capacité antioxydante totale des décoctés aqueux de la plante (**Figure 28**) a été déterminée à partir de leurs absorbances et de la courbe d'étalonnage du standard.

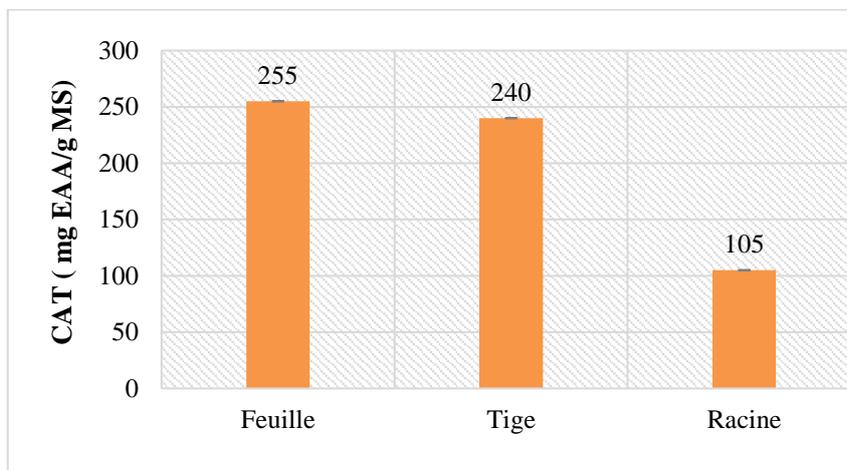


Figure 29 Capacité antioxydante totale des décoctés aqueux des feuilles, des tiges et des racines de *C. spinosa*.

D'après les résultats illustrés dans la figure ci-dessus (29), la capacité antioxydante totale des décoctés aqueux de *C. spinosa* varie entre 105 ± 0.01 et 255 ± 0.00 mg EAA/g MS.

Le décocté aqueux des feuilles possède la meilleure capacité antioxydante (255 ± 0.00 mg EAA/g MS) suivi de celui des tiges (240 ± 0.01 mg EAA/g MS) et des racines (105 ± 0.01 mg EAA/g MS), respectivement. Ceci peut-être essentiellement dû à la richesse des feuilles en certaines molécules, particulièrement les composés phénoliques doués d'activités antioxydantes importantes (Benchaachoua, 2019).

Nos résultats sont significativement supérieurs à ceux trouvés par Boughaleb et al. (2019) qui ont obtenu une valeur de la CAT d'un extrait méthanolique de graines de *Calycotome villosa* égale à 10.5 ± 0.00 mg EAG/ g MS.

Nos résultats sont également supérieurs à ceux rapportés par Rick-Leonid et al. (2017) qui ont travaillé sur deux extraits de l'écorce de *Lophira procera* : aqueux et hydro-méthanolique. Des valeurs de 117.686 ± 0.202 et de 50.264 ± 0.499 mg EAA/g MS ont été rapportées, consécutivement.

Le décocté aqueux des feuilles de *C. spinosa* possède une capacité antioxydante totale supérieure à celle estimée par Haddouchi et ses collaborateurs (2014) qui ont travaillé sur un extrait méthanolique des feuilles de *Helichrysum stoechas subsp. Rupestre*. Une valeur de 29.43 ± 0.38 mg EAG/g MS a été révélée.

Zitouni (2017) a indiqué des valeurs de la CAT des fractions butanoliques des feuilles, des tiges et des racines de *Pistacia lentiscus L.* (Anacardiaceae) de l'ordre de 63.714 ± 3.972 , 7.372 ± 0.170 et de 0.824 ± 0.192 mg EAA/g MS, respectivement. Ces résultats sont largement inférieurs à ceux qu'on a trouvés.

Un travail plus récent de Benchaachoua (2019) sur les décoctés aqueux des feuilles et des tiges de *Silybum marianum* (Asteraceae) a révélé des valeurs estimées à 0.69 ± 0.041 mg EAG /g MS et à 31.18 ± 4.40 mg EAG /g MS, successivement. Ces valeurs sont également inférieures à celles qu'on a obtenues.

Selon Fidrianny et al. (2015), la capacité antioxydante totale pourrait être liée au contenu phénolique total, y compris les acides phénoliques. Cette suggestion est confirmée dans notre étude, car les décoctés aqueux de *C. spinosa* qui avaient tous des teneurs plus ou moins

élevées en composés phénoliques ont révélés des capacités antioxydantes totales élevées ; ce qui fait de ces décoctés de potentiels agents antioxydants.

3.4.2 Piégeage du radicale libre DPPH

L'activité antiradicalaire des différents extraits de *Calycotome spinosa* a été évaluée, *in vitro*, par le test de DPPH. Les résultats ont été confirmés par le virage de couleur.

Tous les décoctés aqueux de la *C. spinosa* ont provoqués une décoloration plus au moins différente de la solution DPPH (**Annexe III**). Cette décoloration est représentative de la capacité des composés phénoliques à piéger ces radicaux libres ; ce test permet alors d'obtenir des informations sur le pouvoir antiradicalaire direct de différentes substances phénoliques des extraits (**Benchaachoua, 2019**).

L'activité antioxydante est déterminée par spectrométrie UV-Visible en mesurant la diminution de l'absorbance d'une solution alcoolique de DPPH. Le maximum de son absorption dans le visible se situe vers 515- 517 nm (**Benchaachoua, 2019**).

Les absorbances mesurées à 517 nm servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH qui est proportionnel au pouvoir antiradicalaire de l'extrait (**Benchaachoua, 2019**). L'activité de piégeage des radicaux libres est observée à partir de la diminution de l'absorbance du DPPH avec augmentation de la concentration de l'extrait (**Zitouni, 2017**).

Les pourcentages d'inhibition (%I) du DPPH par le standard BHT ainsi que les différents décoctés aqueux de la plante sont portés dans la figure ci-dessous (**Figure 30**).

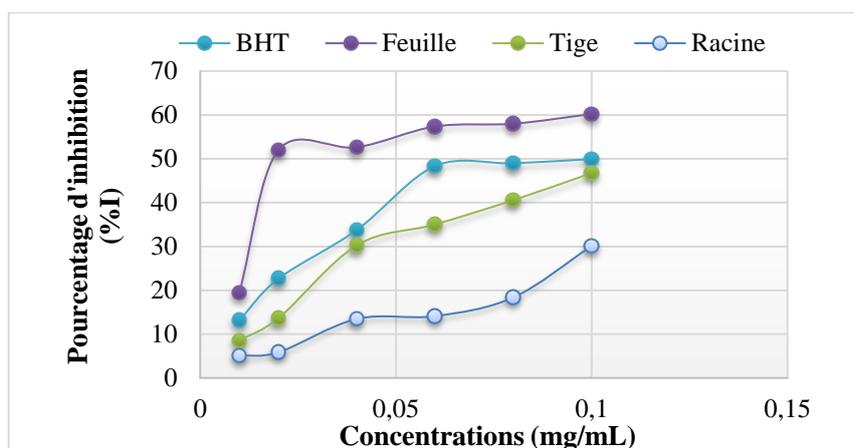


Figure 30 Pourcentage d'inhibition du BHT et des décoctés aqueux des feuilles, des tiges et des racines de *C. spinosa*.

Selon la figure ci-dessus, tous les extraits ainsi que l'antioxydant de référence synthétique BHT ont montré une augmentation du pourcentage d'inhibition avec l'augmentation de la concentration. Leurs pourcentages d'inhibition varient de 30.22 à 60.22 %.

A la concentration maximale de 0.1 mg/mL, le pourcentage d'inhibition (%I) était de l'ordre de 49.99 ± 0.00 % pour le BHT, de 60.22 ± 0.01 % pour les feuilles, de 46.75 ± 0.02 % pour les tiges et de 30.11 ± 0.02 % pour les racines. Le décocté des feuilles avait donc le pourcentage d'inhibition le plus élevé suivi du BHT, des décoctés des tiges et des racines respectivement.

Dans le test DPPH, l'activité antiradicalaire des extraits est estimée par la CI_{50} . Cette dernière est définie par la concentration efficace du substrat qui cause la réduction de 50% du radical DPPH en solution (Benchaachoua, 2019). Elle est très utile pour comparer les résultats car elle est indépendante de la concentration des extraits (Elkhamlichi *et al.*, 2017).

Le BHT a été utilisé comme témoin positif, sa courbe d'étalonnage a été ajustée, avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0.935$ et une équation de régression $y = 531.7x + 11.04$ (Figure 31).

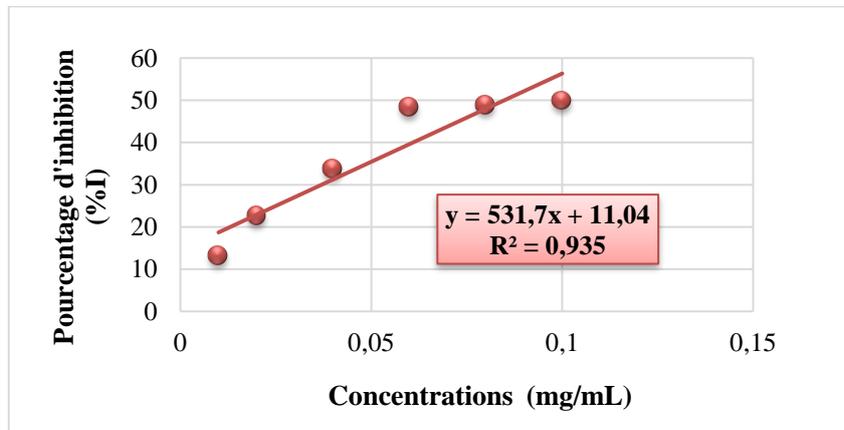


Figure 31 Courbe d'étalonnage du BHT.

La CI_{50} est inversement proportionnelle à l'activité antioxydante (%I) d'un composé : plus la CI_{50} est faible, plus l'activité antiradicalaire d'un composé est importante (Douaouri, 2018; Madi, 2018).

Les valeurs de la CI_{50} ont été déterminées graphiquement à partir des courbes des pourcentages d'inhibition du BHT et des différents décoctés. Ils sont illustrés dans la figure ci-dessus.

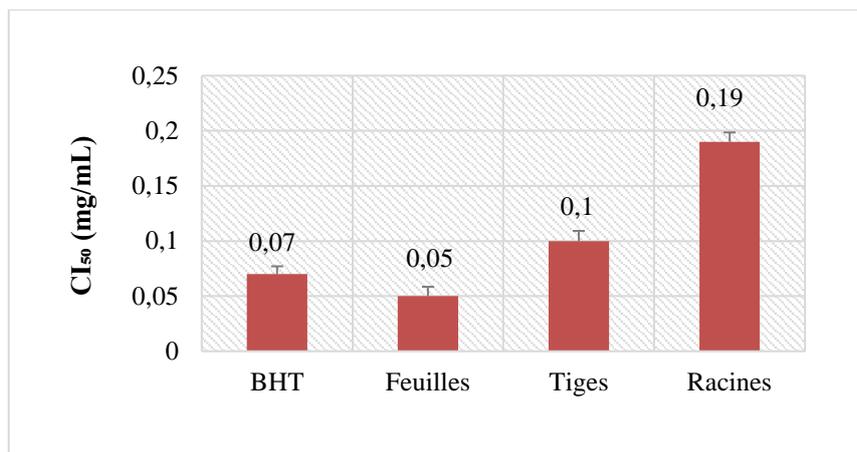


Figure 32 Valeurs des CI₅₀ du BHT, des décoctés aqueux des feuilles, des tiges et des racines de *C. spinosa*.

Selon les résultats illustrés dans la figure (32), les concentrations inhibitrices des différents décoctés aqueux de *C. spinosa* varient entre 0.05 ± 0.01 et 0.19 ± 0.01 mg/mL. Le décocté des feuilles possède la CI₅₀ la plus élevée (0.05 ± 0.01 mg/mL). Par conséquent, il est doué de l'activité antiradicalaire la plus importante, suivi de décocté aqueux des tiges (0.10 ± 0.01 mg/mL) et des racines (0.19 ± 0.01 mg/mL), respectivement.

Puisque le décocté aqueux des feuilles possède une CI₅₀ comparable à celle du BHT, il est considéré comme très efficace à piéger le radical DPPH.

D'après ces résultats, il est évident que les feuilles de *C. spinosa* possèdent une activité antioxydante plus importante par rapport aux tiges et racines. On peut expliquer ça par leurs grandes surfaces conduisant à un pouvoir photosynthétique important car la plante, comme tout être vivant, consomme beaucoup d'énergie au cours de son développement, les feuilles, en particulier qui sont le siège des réactions chloroplastiques, enregistrent une forte consommation d'oxygène et produisent donc par conséquent des radicaux libres. En plus de leurs richesses en molécules bioactives (composés phénoliques) qui peuvent conduire à une augmentation de la capacité réductrice (Odabasoglu et al., 2004; Ahama et al., 2010).

Un travail précédent de Elkhamlichi et al. (2017) sur deux extraits méthanoliques et d'acétate d'éthyle des graines de *Calycotome villosa* subsp. *Intermedia* (espèce appartenant au même genre) ont indiqué des CI₅₀ comparables à celles qu'on a obtenues. Elles étaient estimées à 0.34 et à 0.2 mg/mL, respectivement. Ce qui fait également les extraits des graines de *Calycotome villosa* des excellents agents antiradicalaires.

Les résultats de **Mehmood et al. (2015)** sur des extraits aqueux, méthanolique et éthanolique de *Thymus vulgaris* (Lamiaceae) ont révélé des CI_{50} élevées, elles étaient égales à 9.00 ± 1.00 mg/mL, à 17.00 ± 1.00 mg/mL et à 11.33 ± 1.00 mg/mL, consécutivement. Cela signifie que les décoctés aqueux de *C. spinosa* ont une activité antiradicalaire très importante par rapport à celle obtenue les différents extraits de *Thymus vulgaris*.

Les résultats de **Zitouni (2017)** sont comparables à ceux qu'on a trouvés, il a indiqué des CI_{50} des extraits méthanoliques des feuilles (0.166 ± 0.001 mg/mL), des tiges (0.076 ± 0.001 mg/mL) et des racines (0.370 ± 0.002 mg/mL) de *Pistacia lentiscus*. *L.*

Vermerris et Nicholson (2007) ont signalé que la forte activité antioxydante est liée à la complexité des extraits en substances polyphénoliques y compris les flavonoïdes et les tan- nins. Cela a été confirmé dans notre étude car l'activité antiradicalaire de chaque décocté était proportionnelle aux teneurs de ces composés. L'activité antiradicalaire de ces composés phénoliques est principalement due à leurs propriétés red/ox, qui peuvent jouer un rôle im- portant dans l'absorption et la neutralisation des radicaux libres (**Elkhamlichi et al., 2017**).

3.4.3 Pouvoir réducteur du fer (FRAP)

Le pouvoir réducteur des décoctés aqueux des feuilles, des tiges et des racines de *C. spinosa* a été évalué en utilisant la technique de FRAP selon la méthode décrite par **Ferriera et al. (2007)**.

Les résultats de l'activité réductrice des trois parties de la plante et de l'acide ascorbique sont représentés dans la figure ci-dessous :

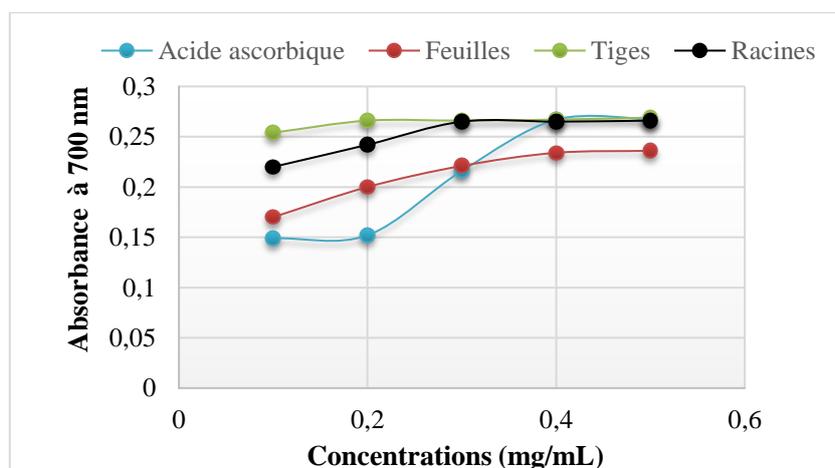


Figure 33 Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique, des décoctés aqueux des feuilles, des tiges et des racines de *C. spinosa*.

Dans le test FRAP, l'activité antioxydante d'un échantillon est basée sur la réduction de l'ion ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe $[\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6]$ en ion ferreux (Fe^{2+}). Ceci provoque la transformation du ferricyanure de potassium de couleur jaune en bleu dans un milieu réactionnel à 700 nm, dont l'intensité dépend du pouvoir réducteur de l'échantillon (Goudjil et al., 2015). Cette réaction explique la couleur bleue révélée sur la figure (Annexe IV) qui est donc un indicateur de l'activité réductrice des décoctés aqueux de la plante.

D'après les résultats illustrés dans la figure (36), les absorbances de l'ensemble des décoctés aqueux de *C. spinosa* et de l'acide ascorbique varient entre 0.149 et 0.266 et sont proportionnelles à l'augmentation de la concentration des extraits. Cela indique que le pouvoir réducteur de ces derniers est dose-dépendante : c'est-à-dire que la capacité de réduction du fer est proportionnelle à l'augmentation de la concentration des extraits.

Effectivement, une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (Goudjil et al., 2015).

Le pouvoir réducteur d'un extrait est aussi évalué par la CE_{50} . Cette dernière est la concentration efficace qui réduit le fer à une absorbance de 0.5 (Goudjil et al., 2015 ; Kusmardiyani et al., 2016). L'équation de régression linéaire de la courbe du standard (AA) $y = 0.351x + 0.1049$ avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0.9046$ (Figure 34) ainsi les différentes courbes des extraits peuvent être utilisée pour déterminer les CE_{50} . La valeur la plus basse de ces dernières indique le pouvoir réducteur le plus élevé (Fidrianny et al., 2015; Kusmardiyani et al., 2016).

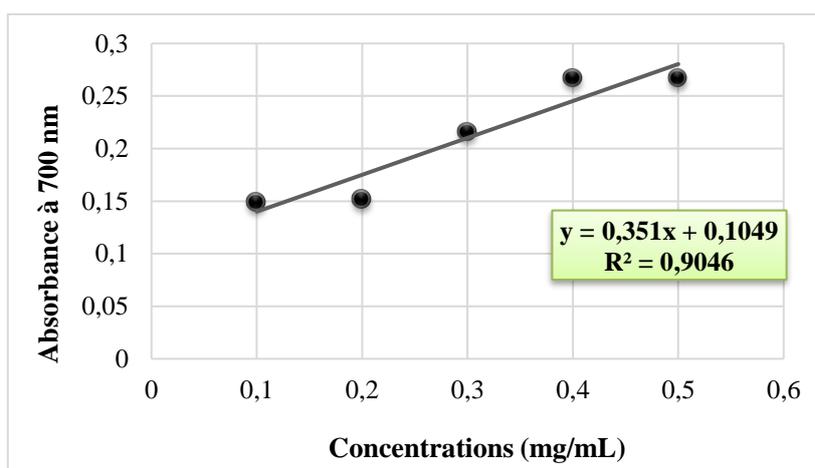


Figure 34 Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique.

Les CE₅₀ des différents décoctés de la plante ainsi que de l'acide ascorbique sont portés dans la figure ci-dessous :

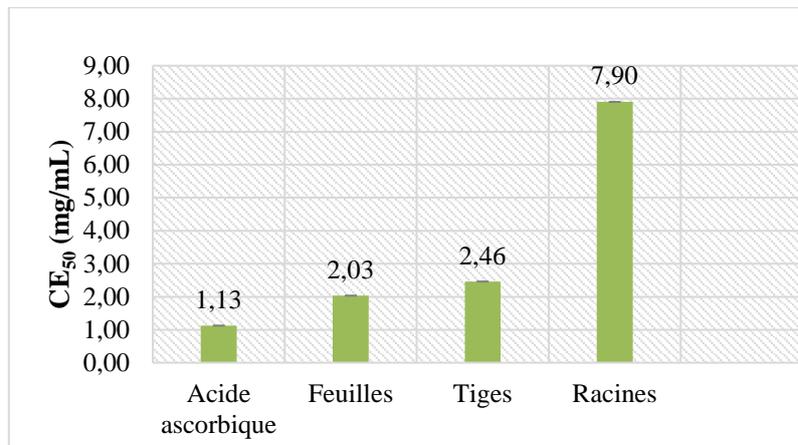


Figure 35 Valeurs des CE₅₀ de l'acide ascorbique, des feuilles, des tiges et des racines de *C.spinosa*.

Les résultats illustrés dans la figure (35) montrent une variation considérable des valeurs de la CE₅₀ des décoctés aqueux et de l'acide ascorbique, allant de 1.13 ± 0.01 jusqu'à 7.90 ± 0.01 mg/mL).

La capacité de tous les décoctés aqueux à réduire le fer est largement inférieure à celle de l'acide ascorbique. Le décocté aqueux des racines possède la CE₅₀ la plus élevée (7.90 ± 0.01 mg/mL) suivi de celle des tiges (2.46 ± 0.01 mg/mL), des feuilles (2.03 ± 0.0 mg/mL) et de l'acide ascorbique (1.13 ± 0.01 mg/mL), respectivement.

Nos résultats sont largement inférieurs à ceux obtenus par **Mehmood et al.(2015)** qui ont estimé des CE₅₀ des extraits; aqueux, méthanoliques et éthanoliques de *Thymus vulgaris* (Lamiaceae) égales à 2629.74 ± 0.06 mg/mL, à 1248.05 ± 0.03 mg/mL et à 1922.65 ± 0.05 mg/mL, successivement. Le pouvoir réducteur des décoctés aqueux de *C. spinosa* est donc plus élevé que celui de *Thymus vulgaris*.

Nos résultats sont par contre supérieurs à ceux estimés par **Zulkifli et al. (2012)** qui ont travaillé sur les pelures des fruits de quatre espèces : *Psidium guajava*, *Mangifera indica*, *Malus sylvestris* et *Citrus sinensis*. Des CE₅₀ de l'ordre de 0.2652 mg/mL, de 0.1461 mg/mL, de 0.7165 mg/mL et de 0.5157 mg/mL ont été révélées, consécutivement.

Zitouni (2017) a rapporté des valeurs de la CE₅₀ des extraits méthanoliques des feuilles (2.242 ± 0.044 mg/mL), des tiges (1.643 ± 0.023 mg/mL) et des racines (3.663 ± 0.026

mg/mL) de *Gymnocarpos decander*. Forsk. Le décocté aqueux des feuilles de *C. spinosa* est le seul qui a un pouvoir réducteur comparable à celui de **Zitouni (2017)**, les autres décoctés ont un pouvoir réducteur inférieur.

Un travail plus récent de **Bakari et al. (2018)** a révélé des CE_{50} de l'acide ascorbique et d'un extrait hydro-alcoolique des feuilles de *Erodium glaucophyllum* estimées à 0.115 ± 0.7 mg/mL et à 0.111 ± 0.1 mg/mL successivement, qui sont également inférieures à celles qu'on a enregistrées.

En fait, le pouvoir réducteur d'un composé peut servir comme indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle (**Bougandoura et Bendimerad, 2013**).

Dans la littérature, beaucoup d'études montrent que les propriétés antioxydantes (dont le pouvoir réducteur) d'un extrait végétal sont fortement liées à sa teneur en polyphénols (**Tolba, 2016**). Le pouvoir réducteur de l'espèce *C. spinosa* est donc probablement dû à la présence de groupement hydroxyle dans les composés phénoliques qui peuvent servir comme donneur d'électron (**Shahwar et Raza, 2012; Bougandoura et Bendimerad, 2013**).

Dans les trois tests précédents, le décocté des feuilles avait la meilleure activité antioxydante, suivi toujours de celui des tiges et des racines respectivement.

Cherfia et al. (2020) suggère que les feuilles de *C. spinosa* peuvent être une source naturelle de molécules antioxydantes. Cela est en accord avec nos résultats qui montrent que les feuilles de *C. spinosa* ont un potentiel antioxydant élevé.

Dans notre étude, les valeurs de l'essai FRAP étaient considérablement inférieures par rapport à l'essai DPPH. Cela était peut-être dû à la présence de certains composés antioxydants tels que les polyphénols qui réagissaient aux radicaux libres DPPH mais qui ne réagissaient pas efficacement avec le fer ferrique en raison de la résistance stérique (**Aizad et al., 2016**).

Les différences de l'activité antioxydante peuvent être attribuées à la présence de différents composés phénoliques, en occurrence les flavonoïdes, les acides phénoliques et les autres composés phénoliques qui ont des effets antioxydants différents.

Le potentiel antioxydant des polyphénols est dû à leurs propriétés Red/Ox, qui leur permettent d'agir comme agents réducteurs, donneurs d'hydrogène ou d'électron et chélateurs de

métaux. Ils peuvent piéger les radicaux libres en excès et réduire efficacement le stress oxydatif, protégeant donc les plantes, les fruits et les légumes ainsi que l'ADN, les protéines et les lipides du corps humain des dommages oxydatifs (**Tolba, 2016; Elkhamlichi et al., 2017 ; Bakchiche et al., 2018**).

Selon **Benchaachoua (2019)**, l'activité antioxydante peut varier selon les organes de la plante, l'origine géographique, la période de récolte, la méthode d'extraction, la nature du solvant utilisé, la composition et la teneur en composés phénoliques .

Selon **Yahiaoui (2019)**, Il existe une forte corrélation entre les polyphénols et le pouvoir antioxydant. Cela est démontré chez de nombreuses plantes dont *C. spinosa*.



Conclusion et perspectives

4. Conclusion et perspectives

Les plantes médicinales semblent être une source inépuisable de matières premières disponibles pour l'industrie aussi bien cosmétique que pharmaceutique. Pour cette raison, l'objectif de ce travail était d'étudier la caractérisation phytochimique et d'évaluer les activités biologiques des décoctés aqueux des feuilles, des tiges et des racines de *C. spinosa* dans le cadre d'une contribution à une meilleure connaissance de cette espèce pour des fins cosmétiques.

En premier lieu, un criblage phytochimique des extraits aqueux de la plante a permis de caractériser les principaux métabolites secondaires, en l'occurrence, les polyphénols totaux, les flavonoïdes totaux et les tannins condensés. Par la suite, la quantification de ces métabolites a révélé des teneurs considérablement importantes en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux. Ensuite, l'évaluation de la capacité antioxydante par les tests CAT, DPPH et FRAP a montré des propriétés antioxydantes remarquables de ces extraits. La diversité structurale des polyphénols totaux, des flavonoïdes totaux et des tannins condensés et leurs teneurs notablement élevées sont probablement responsables du potentiel anti-oxydant important de ces extraits, particulièrement celui des feuilles.

Compte tenu de ces résultats, nous pouvons conclure que la plante endémique *Calycotome spinosa* appartenant aux fabacées d'Algérie, peut constituer une nouvelle source d'une panoplie de composés bioactifs doués d'une capacité antioxydante élevée.

Cependant, ces résultats restent insuffisants pour estimer s'il est possible d'utiliser cette plante dans l'industrie cosmétique. Pour cela, quelques perspectives peuvent être envisagées :

- Mise en évidence des autres activités biologiques à savoir les activités ; antimicrobiennes, anti-inflammatoires et anti-cancérogènes ;
- Evaluation toxicologique des extraits de la plante étudiée, en vue de leur utilisation à base de produits cosmétiques, car les plantes renferment un grand nombre de molécules qui peuvent être fatales pour l'homme, si mal employées.

Abstract

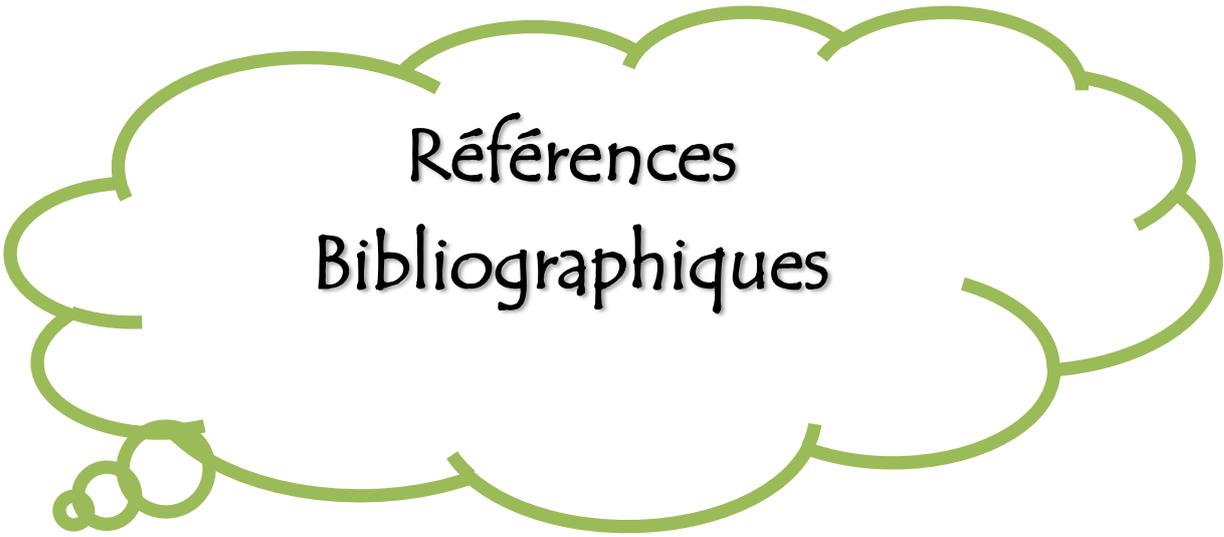
The aim of the present study was the valorization of a plant belonging to the Fabaceae family, *Calycotome spinosa*, for cosmetic applications. First of all, the aqueous extracts of leaves, stems and roots of this plant were prepared by an aqueous decoction. This latter revealed a variable yield; the most important one was obtained from the decoction of leaves (29.7%). Then, the phytochemical screening of decocts made it possible to demonstrate the presence of main secondary metabolites, in particular the phenolic compounds, varying from one part of the plant to another. This was confirmed by a quantitative analysis of total polyphenols, total flavonoids and condensed tannins using Folin ciocalteu, AlCl_3 and n-BuOH-HCl, respectively. The obtained results showed that the decocts of leaves of *C. spinosa* revealed the highest contents in total polyphenols, in total flavonoids, and in condensed tannins equal to 72.66 ± 0.02 mg EAA / g DW, 35.00 ± 0.01 mg EQ / g DW, and 12.50 ± 0.025 mg EC / g DW; consecutively. Whereas, the stems' decoct exhibited moderate values and that of the roots demonstrated the lowest amounts. Besides, the antioxidant activity of decocts was tested using three different methods: the total antioxidant capacity (TAC), the free radical scavenging activity DPPH, and the ferric reducing antioxidant power (FRAP). Whereby the best antioxidant activity was constantly expressed by leaves's aqueous extract with a TAC equal to 255 ± 0.00 mg EAA / g DW, an IC_{50} of 0.05 ± 0.01 mg / mL (DPPH), and an EC_{50} of 2.034 ± 0.00 mg / mL (FRAP). The previous findings confirmed that *Calycotome spinosa*, especially leaves, could be use as a source of thermoresistant bioactive compounds with intresting antioxidant properties.

Key words: *Calycotome spinosa*, phytocosmetics, decoction, thermoresistant, phenolic com-

الملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تقيم نبات ينتمي إلى عائلة البقوليات *Calycotome spinosa* لغايات تجميلية. أولاً، تم تحضير المستخلصات المائية لأوراق، سيقان وجذور هذا النبات عن طريق المغلي. أظهر هذا الأخير مردوداً متنوعاً ، أهمه مردود الأوراق (29.7%). بعد ذلك، أبرز الفحص الكيميائي للمستخلصات وجود المواد الأيضية الثانوية الرئيسية، لا سيما المركبات الفينولية التي تختلف في النبات من جزء لآخر. وقد تم تأكيد هذا من خلال التحليل الكمي للبوليفينولات الكلية، الفلافونويدات الكلية والثانات المكثفة باستخدام Folin ciocalteu، $AlCl_3$ و $n-BuOH-HCl$ على التوالي. كشفت النتائج أن أوراق نبات *C. spinosa* أعطت أعلى محتوى من البوليفينولات الكلية ، من الفلافونويدات الكلية و من الثانات المكثفة و الذي يساوي (72.66 ± 0.02 mg EAA /g MS - 35.00 ± 0.01 mg EQ /g MS - 12.50 ± 0.025 mg EC /g MS) بنفس الترتيب. في حين أن مغلي السيقان أظهر قيمةً متوسطة و الجذور كميات أقل . علاوة على ذلك ، تم إختبار النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات بإستخدام ثلاث طرق مختلفة و هي : القدرة الكلية المضادة للأكسدة (CAT)، كسح الجذور الحرة (DPPH) وإختزال الحديد (FRAP) ، حيث أبدى المستخلص المائي للأوراق النشاطاً المضاداً للأكسدة الأعلى من المستخلصات الأخرى تقدر ب (FRAP) : 2.034 ± 0.00 mg /mL (DPPH)- IC_{50} : 0.05 ± 0.01 mg /mL (CAT) : 255 ± 0.00 mg EAA /g MS . وفقاً للنتائج التي تم الحصول عليها ، يمكن إستخدام *Calycotome Spinosa* ، خصوصاً الأوراق ، كمصدر للمركبات النشطة بيولوجياً المقاومة للحرارة ذات الخصائص المهمة المضادة للأكسدة.

الكلمات المفتاحية : *Calycotome Spinosa* ، مستحضرات التجميل النباتية ، المغلي، مقاومة للحرارة ، المركبات الفينولية ، مضادات الأكسدة.



Références
Bibliographiques

5. Références bibliographiques

A

Abdelli, W. (2017). *Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de Juniperus phoenicea et de Thymus vulgaris* (Thèse de doctorat, Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem).

Aboura, I. (2018). *Effet anti-inflammatoire et anti obésité des extraits polyphénoliques de feuilles de caroube "Ceratonja siliqua" et cladode de figuier de barbarie "Opuntia ficus-indica"* (Université Bourgogne Franche-Comté, France ; Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, Algérie).

Abderrazak M et Joël R (2007). *La botanique de A à Z*. Ed. Dunod. Paris : 177p.

Ahama KYS, Quashie MA, AgbononI, Koumaglo K (2010). Activités antioxydantes *in vitro* des feuilles de *Crataeva adanso* II. Rev. Ivoir. Sci. Technol. 16 : 153 – 164.

Aizad S, Khairiri NM, Yahaya BH, Zubairi SI (2016). A novel anti-proliferative activity (CE₅₀) of pegaga (*Centella asiatica*) extract through in vitro 3-D culture microenvironment. Jurnal Teknologi (Sciences & Engineering) 79:2 (2017) 1–10.

Akroum, S. (2011). *Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels* (Thèse de doctorat, Université des frères Mentouri, Constantine).

Allangba MRA, Kadja AB, Guessennnd NK, Kouadio NJ, Mamyrbékova-Békro JA, Békro YA (2016). Etude phytochimique bio-guidée, activités antibactérienne et analgésique de décoctions éthanoliques d'une *Mimosaceae* de Côte d'Ivoire. International Journal of Innovation and Applied Studies.18 : 569-577.

Ayoola GA, Eze SO, Johnson OO, Adeyem DK (2018). Phytochemical screening, antioxidant, antiulcer and toxicity studies on *Desmodium adscendens* (Sw) DC *Fabaceae* leaf a flavonoïdes nd stem. Tropical Journal of Pharmaceutical Research. 17(7): 1301-1307. DOI:<http://dx.doi.org/10.4314/tjpr.v17i7.11>.

Azwanida NN. (2015). A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. Medicinal & Aromatic Plants. DOI:<http://dx.doi.org/10.4172/2167-0412.1000196>.

B

Bakari S, Hajlaoui H, Daoudi A, Mighri H, Ross-Garcia JM, Gharsallah N, Kadri A (2018). Phytochemicals, antioxidant and antimicrobial potentials and LC-MS analysis of hydroalcoholic extracts of leaves and flowers of *Erodium glaucophyllum* collected from Tunisian Sahara. Food Sci. Technol, Campinas, 38(2) : 310-317.

Bakasso, S. (2009). *Etudes phytochimiques et potentialités biologiques de cinq espèces d'Indigofera (Fabaceae) utilisées en médecine traditionnelle au Burkina Faso* (Thèse de doctorat, Université de Ouagadougou).

Bakchiche B, Habati M, Benmebarek A, Gherib A (2018). Caractéristiques physico-chimiques, concentrations en composés phénoliques et pouvoir antioxydant de quatre variétés de miels locales (Algérie). Rev. Mar. Sci. Agron. Vét. 6 (1):118-123.

Ballasundram N, Sundram K, Samman S (2007). Phenolic compounds in plants and agricol-industrial by products: antioxidants activity, occurrence and potential uses. Food Chemistry.99 : 191-203.

Bangou, MJ. (2012). *Etude phytochimique et activités biologiques des tiges feuillées de Lantana camara L. et de Lippia chevalieri Moldenke : deux VERBENACEAE du BURKINA FASO* ((Thèse de Doctorat, Université de Ouagadougou).

Ben Amor, B. (2009). *Maîtrise de l'aptitude technologique de la matière végétale dans les opérations d'extraction de principes actifs : texturation par détente instantanée contrôlée (DIC)* (Thèse de Doctorat, Université de la Rochelle). Repéré à <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00399131>.

Bénard, C. (2009). *Etude de l'impact de la nutrition azotée et des conditions de culture sur le contenu en polyphénols chez la tomate* (Thèse de Doctorat, Université de Nancy). Repéré à <https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01748724>.

Benchaachoua, A. (2019). *Caractérisation et Valorisation d'une plante de la famille des astéracées de la région de Sidi Bel Abbès : Évaluation des substances bioactives de Silybum marianum* (Thèse de doctorat, Université Djillali Liabès, Sidi Bel Abbès).

Bentabet N, Boucherit-Otmani Z et Boucherit Z (2014). Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredolia aretioides* de la région de Béchar en Algérie. Pharmacognosie.12:364-371. DOI: [10.1007/s10298-014-0834-x](https://doi.org/10.1007/s10298-014-0834-x).

- Bernadin KK, Witabouna KM, Julien CK, Mireille D. (2017). Microbial Contamination of the Stem Bark of Mitragnyna Ciliata, A Commercially Available Medicinal Plant in the District of Abidjan (Cote d'Ivoire). J. of Pharm. Chem. and Biol. Sci. 5(4) : 404-415.
- Benzeggouta, N. (2015). *Evaluation des Effets Biologiques des Extraits Aqueux de Plantes Médicinales Seules et Combinées* (Thèse de doctorat, Université des frères Mentouri, Constantine).
- Benzidane, N. (2014). *Effets antioxydant, vasoactif, bronchorelaxant et cytotoxique des extraits de Capparis spinosa* (Thèse de doctorat, Université Ferhat Abbas, Sétif).
- Benzie IF, Devaki M. (2018). The ferric reducing/antioxidant power (FRAP) assay for non-enzymatic antioxidant capacity: Concepts, procedures, limitations and applications. Measurement of antioxidant activity and capacity. Recent Trends Appl. 77-106.
- Bhandary S K, Kumari S N, Bhat V S, Sharmila K P, Bekal M P (2012). Preliminary Phytochemical Screening of various extracts of *Punica granatum* peel, whole fruit and seeds. Nitte University Journal of Health Science NUJHS. 2(4) : 34-38.
- Bohui PSG, Adima AA, Niamké FB, N'Guessan JD (2018). Etude comparative de trois méthodes d'extraction des flavonoïdes totaux à partir des feuilles de plantes médicinales : Azadirachtaindica et Psidiumguajava. J. Soc. Ouest-Afr. Chim. 46 : 50 – 58.
- Boubekri, C. (2014). *Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de Solanummelongena par des techniques électrochimiques* (Thèse de doctorat, Université Mohamed Khider, Biskra).
- Boudechiche ML, Cherif M, Boudechiche L, Sammar F (2014). Levels of primary and secondary compounds of foliage from fodder shrubs of Algerian wet area. ResearchGate.
- Bougandoura N et Bendimerad N (2013). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Saturejascalaminthasp.Nepeta* (L.) Briq. Revue « Nature & Technologie ». B- Sciences Agronomiques et Biologiques, n° 09/ Juin 2013.
- Boughaleb F, Mahmou M, Abdellaoui R, Yahia B, Zaidi S, Nasri N (2019). Effect of long-term storage on phenolic composition, antioxidant capacity, and protein profiles of *Calicotomevillosa* subsp. intermedia seeds. Journal of foodbiochemistry. DOI : [10.1111/jfbc.13093](https://doi.org/10.1111/jfbc.13093).
- Boumaza, O. (2017). *Recherche et détermination structurale des métabolites secondaires de Genistaticuspidata (Fabaceae), et Haloxylonscoparium (Chenopodiaceae)* (Thèse de Docteur d'Etat, Université Mentouri, Constantine). Répéré à <http://hdl.handle.net/123456789/10360>.
- Boutaghane, N. (2013). *Etude phytochimique et pharmacologique de plantes médicinales Algériennes GenistaulicinaSpach (Fabaceae) et Chrysanthemummacrocarpum (Sch. Bip.) Coss. &Kralik ex Batt (Asteraceae)* (Thèse de doctorat, Université des frères Mentouri, Constantine).
- Boubekeur Hafsa Boubekeur, H. (2019). *Activités biologiques d'Helichrysum stoechas* (Thèse de doctorat, Université Ferhat Abbas, Sétif).
- Brullo C, Brullo S, Fichera G, Giusso Del Galdo G, Scuderi L, Salmeri C (2013). Il genere Calicotome (Fabaceae) in Sicilia, in: S. Peccenini, G. Domina (Eds.). Contributi alla ricerca floristica in Italia. Orto Botanico, la Sapienza, Univeristà di Roma, Società Botanica Italiana Gruppo per la Floristica (2013) 29-31. [http:// www.societabotanicaitaliana.it/download/SBI Roma2013.pdf](http://www.societabotanicaitaliana.it/download/SBI_Roma2013.pdf).
- Brasseur T (1989). Anti-inflammatoryproperties in flavonoids. J. Pharm. Belg.44: 235-241.
- Bruneton J (1999). Pharmacognosie (3^{ème} Ed.) *Phytochimie, plantes médicinales*, Tec & Doc, Lavoisier, Paris : 207-211p.
- Bruneton J (2009). Pharmacognosie (4^{ème} Éd.) *Phytochimie, plantes médicinales*, Tec & Doc. Médicales internationales, Paris : 1292 p.
- Bruneton J (2015). Pharmacognosie (5^{ème} Éd.) *Phytochimie - Plantes médicinales*, Tec and Doc, Lavoisier, Paris : 1504p.
- C**
- Chaudhry PS, Cabrera J, Juliani HR, Varma SD (1993). Inhibition of human lens aldose reductase by flavonoids, sulindac and indomethacin. BiochemPharmacol.32 (13) : 1995-98. DOI : [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(83\)90417-3](https://doi.org/10.1016/0006-2952(83)90417-3).

Cherfia R, Kara Ali M, Talhi I, Benaissa A, Kacem Chaouche N (2017). Phytochemical analysis, antioxidant and antimicrobial activities of leaves and flowers ethyl acetate and nbutanol fractions from an Algerian endemic plant *Calycotome spinose* (L.) Link. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*.9 (12):185-196. DOI: [10.5897/JPP2017.0471](https://doi.org/10.5897/JPP2017.0471).

Cherfia R, Zaiter A, Akkal S, Chaimbault P, Abdelwahab A B, Kirsch G, Kacem Chaouche N (2020). New approach in the characterization of bioactive compounds isolated from *Calycotome spinose* (L.) Link leaves by the use of negative electrospray ionization LITMSn, LC-ESI-MS/MS, as well as NMR analysis. *Bioorganic Chemistry*. DOI : <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.103535>.

Chikhi, I. (2014). *Composition chimique et activités biologiques des extraits de cinq plantes aromatiques et médicinales de l'ouest d'Algérie* (Thèse de doctorat, Université Abou BekrBelkaid, Tlemcen).

Coffi A, Philippe R, Zannou-Boukari ET, Beaudoin-Ollivier L, Glitho I (2012). Efficacité des composés métabolites secondaires extraits des folioles du palmier à huile contre les larves de la mineuse des feuilles, *Coelaenomenoderalameensis* (Coleoptera : Chrysomelidae). *Bulletin de la Recherche Agronomique du Bénin (BRAB)*. Repéré à <http://www.slire.net>.

Collin S et Crouzet J (2011). *Polyphénols et procédés : Transformation des polyphénols au travers des procédés appliqués à l'agro-alimentaire*, Ed. Lavoisier (Tec & Doc), Paris.

Costa IM (2015). Phytocosmetics – where nature meets well-being. *International Journal of Phytocosmetics and Natural Ingredients*.2: 1. DOI: [10.15171/ijpni.2015.01](https://doi.org/10.15171/ijpni.2015.01).

Couteau C et Coiffard LJM (2010). Why are biocosmetics not better than the others?. *ResearchGate*. Repéré à <https://www.researchgate.net/publication/286862472>.

D

Dacosta Y (2003). *Les phytonutriments bioactifs*. Ed. Yves Dacosta. Paris : 317.

Damerdj A (2011). Diversité orthoptérologique sur trois plantes xérophiles (DISS – DOUM - GENÊT) dans les environs de Tlemcen (ALGÉRIE NORD - OCCIDENTALE). *Rev. Ivoir. Sci. Technol.* 17.

Damerdj A (2014). Diversité orthoptérologique sur différentes plantes dans la région de Tlemcen. *Actes AFPP Dixième Conférence Internationale sur les Ravageurs en Agriculture*. Montpellier 25-26 et 27 Octobre 2011. 8 pages.

Dangles O, Stoeckel C, Wigand MC, Brouillard R. (1992). Two very distinct types of anthocyanin complexation: Copigmentation and inclusion. *Tetrahedron Lett.* 33 (36): 5227-30. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(00\)79139-8](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)79139-8).

De Rijke E, Out P, Niessen WMA, Ariese F, Gooijer C, Brinkman UAT. (2006). Analytical separation and detection methods for flavonoids. *Journal of Chromatography A*. 1112 (1-2): 31 –63. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.01.019>.

Decaux I. (2002). *Phytothérapie : Mode d'emploi*. Ed : Le bien public. Pp 6.

Djahra AB, Bordjiba O et Benkherara S. (2012). Activité antibactérienne des flavonoïdes d'une plante médicinale spontanée *Marrubium vulgare* L. de la région d'El Tarf (Nord-Est Algérien). *Rev. Sci. Technol.*, 24: 29-37.

Djeddi S, Djahoudi AG, Benchalia N, Himour H. (2015). Antimicrobial activity of *Calycotome villosa* (Poiret) Link extracts. *Rev. Fac. Med.* 3(1) :13-18.

Douaouri, NE. (2018). *Contribution à une étude phytothérapeutique, anti-inflammatoire et antioxydante du grenadier (Punicagranatum L.) – Etude in vivo* (Thèse de doctorat, Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem). Repéré à <http://hdl.handle.net/123456789/646>.

Dridi, A. (2018). *Etude phytochimique et activité biologique des deux espèces : Teucrium polium L. et Pituranthos chloranthus Coss et Dur* (Thèse de doctorat, Université de Badji Mokhtar, Annaba).

Dridi, F. (2015). *Synthèse et caractérisation des dérivés quinoniques. Application du tannage et test biologiques* (Thèse de doctorat, Université M'hamed Bougara, Boumerdes).

Dupont F and Guignard JL (2007). *Abrégé de Botanique* (14^{ème} Ed.) Editions Masson, Paris: 285.

E

- El Bouzidi L, Jamali, CA, Bekkouche K, Hassani L, Wohlmuth H, Leach D, Abbad A (2013). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oils obtained from wild and cultivated Moroccan Thymus species. *Industrial Crops and Products*.43: 450-456. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.07.063>
- Elhachimi F, Al antari A, Boujnah M, Bendrisse A, Alfaiz C (2015). Comapaison des huiles des graines et de la teneur en acides gras de différentes populations marocaines de jujubier, de grenadier et de figuier de barbarie. *J. Mater. Environ. Sci.* 6 (5).
- Elicoh-Middleton Jr, Chithan K, Theoharis C (2000). Effect of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart diseases and cancer. *Pharmacology and Experimental therapeutics*, 4(52): 673-751.
- Elkhamlichi A, El Hajaji H, Faraj H, Alami A, El Bali B, Lachkar M (2017). Phytochemical screening and evaluation of antioxidant and antibacterial activities of seeds and pods extracts of *Calycotome villosa* subsp. *Intermedia*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 7 (04): 192-198. DOI: [10.7324/JAPS.2017.70428](https://doi.org/10.7324/JAPS.2017.70428).
- Elmastas M, Telci I, Akşit H, Erenler R (2015). Comparison of total phenolic contents and antioxidant capacities in mint genotypes used as spices. *J. Biochem.* 40(6): 456-462. DOI: <https://doi.org/10.1515/tjb-2015-0034>.
- El Yahyaoui O, Ait Ouaziz N, Guinda I, Sammana A, Kerrouri S, Bouabid B, El Bakkall M, Quayou A, Lrhorfi A, Bengueddour R. (2017). Phytochemical screening and thin layer chromatography of two medicinal plants: *Adansonia digitata* (Bombacaceae) and *Acacia raddiana* (Fabaceae). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* .6(1): 10-15.
- Epifano F, Genovese S, Menghini L, Curini M (2007). Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites. *Phytochemistry*. 68 (7): 939-953. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2007.01.019>.
- Erenler R, Sen O, Akşit H, Demirtas I, Yaglioglu A S, Elmastas M, Telci I (2016). Isolation and identification of chemical constituents from *Origanum majorana* and investigation of antiproliferative and antioxidant activities, *J. Sci. Food Agric.* 96 (3):822-836. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.7155>.

F

- Fankam, A.G., Kuete, V., Voukeng, I.K., Kuate, J.R., Pages, J.M., 2011. Antibacterial activities of selected Cameroonian spices and their synergistic effects with antibiotics against multidrug-resistant phenotypes. *BMC Complement. Altern. Med.* 11, 104.
- Feknous S, Saidi F et Mohamed Said R (2014). Extraction, caractérisation et identification de quelques métabolites secondaires actifs de la mélisse (*Melissa officinalis* L.). *Revue « Nature & Technologie ». A- Sciences fondamentales et Engineering*, n° 11/Juin 2014. Pages 07 à 13.
- Ferreira I C F R, Baptista P, Vilas-Baos M, Barros L (2007). Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: Individual cap and stipe activity, *Food Chem.* 100 (4): 1511-1516. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.11.043>.
- Fidrianny I, Natalia S et Insanu M (2015). Antioxidant Capacities of Various Fruit Extracts from three Varieties of Tomato and Correlation with Total Phenolic, Flavonoid, Carotenoid Content. *International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 7(4): 283-289.

G

- Garcin DG et Carral S (2007). *Le safran marocain entre tradition et marché : Étude de la filière du safran au Maroc, en particulier dans la région de Taliouine, province de Taroudannt*. Ed.FAO. Maroc.
- Ghalem, M. (2014). *Effets antioxydants et anti-inflammatoires des extraits de Zizyphus lotus et Anthyllis vulneraria* (Thèse de doctorat, université Abou bekrbelkaid, Telemcen).
- Gomez-Caravaca AM, Gomez-Romero M, Arraez-Roman D, Segura-Carretero A, Fernandez-Gutierrez A (2006). Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*.41(4): 1220-1234. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2006.03.002>.
- Goudjil MB, Ladjel S, Bencheikh S, Zighmi S, Hamada D (2015). Study of the chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of the essential oil extracted from the leaves of Algerian *Laurus nobilis* Lauraceae. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 7(1) :379-385.
- Grosmond (2001). *La phytothérapie Bulletin des GTV, HS : Elevage et agriculture biologique*, 143-145 Métabolites des plantes.

Guillouty, A. (2016). *Plantes médicinales et antioxydants* (Thèse de doctorat, Université Toulouse III Paul Sabatier).

#

Haddouchi F, Chaouche T M, Ksouri R, Medin, F, Sekkal F Z, Benmansour A (2014). Antioxidant activity profiling by spectrophotometric methods of aqueous methanolic extracts of *Helichrysumstoechassubsp.rupestre* and *Phagnalonsaxatile* subsp. saxatile. *Chinese journal of natural medicines*. 12(6) : 415-422.

Haddouchi F, Chaouche T M, Halla N (2016). Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. *Phytothérapie*. DOI : [10.1007/s10298-016-1086-8](https://doi.org/10.1007/s10298-016-1086-8).

Hadj salem, J. (2009). *Extraction, identification, caractérisation des activités biologiques de flavonoïdes de Nitrariaretusa et synthèse de dérivés acylés de ces molécules par voie enzymatique* (Thèse de doctorat, Université de Lorraine). Repéré à <https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01748769>.

Hagerman AE, Riedl KM, Jones GA, Sovik KN, Ritchard NT, Hartzfeld PW, Richel TL (1998). High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. *J. Agric. Food Chem.* 46(5): 1887-92. DOI : <https://doi.org/10.1021/jf970975b>.

Halmi, S. (2015). *Etude botanique et phytochimique : Approche biologique et pharmacologique d'opuntia ficus indica* (Thèse de doctorat, Université des frères mentouri, Constantine). Repéré à <http://hdl.handle.net/123456789/130764>.

Harborne JB et Williams CA (2000). Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*. 55 (6) : 481-504. DOI : [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)00235-1](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)00235-1).

Hassane, A. (2010). *Étude de l'activité antioxydante des saponines du tourteau de l'arganier* (Thèse de doctorat, Université Mohammed V Agdal, Rabbat).

Heller W et Forkmann G (1993). The flavonoids. Advances in research since 1986. In Harborne JB. *Secondary Plant Products*. Encyclopedia of plant physiology. Ed. Chapman & Hall, London, 399-425.

Hertog MG, Feskens EJ, Hollman PC, Katan MB, Kromhout D (1993). Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: The Zutphen Elderly Study. *Lancet*. 342 (8878):1007-1011. DOI: [https://doi.org/10.1016/0140-6736\(93\)92876-U](https://doi.org/10.1016/0140-6736(93)92876-U).

Hseini S, Kahouadji A, Lahssissene H & Tijane M (2007). Analyses floristique et ethnobotanique des plantes vasculaires médicinales utilisées dans la région de Rabat (Maroc occidental). *Lazaroa*. 28: 93-100.

Hollman PCH (2001). Evidence for health benefits of plant phenols: local or systemic effects? . *J. Sci. Food Agric.* 81 (9): 842-852. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.900>.

I

Ignat I, Volf I et Popa VI (2011). A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chemistry*. 126 (4): 1821-1835. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.026>.

Iserin P. (2001). *Larousse Encyclopédie des plantes médicinales*. Ed Larousse, pp10-335.

Iwashina T (2000). The structure and distribution of the flavonoids in plants. *Journal of Plant Research*. 113 (3) : 287-299. DOI : [10.1007/PL00013940](https://doi.org/10.1007/PL00013940).

J

Johnson O et More D (2014). *Guide delachaux des arbres de France : 200 espèces décrites et illustrées*. Paris : Delachaux et Niestlé.

Joseph-Angelique, J. (2015). *Contribution à la connaissance chimique et valorisation biologique de Nectandramembranacea (Swartz) Grisebach de Guadeloupe* (Thèse de doctorat, université des Antilles et de la Guane, Pointe-à-Pitre).

K

Kahlouche-Riachi, F. (2014). *Evaluation chimique et activité antibactérienne de quelques plantes médicinales en Algérie* (Thèse de doctorat, Université des frères Mentouri, Constantine).

Kardong D, Upadhyaya S, Saikia LR (2013). Screening of phytochemicals, antioxidant and antibacterial activity of crude extract of *Pteridiumaquilinum* Kuhn, *Journal of Pharmacy Research*. 6: 179-182.

Kassi ABB, Soro Y, Fante B, Golly KJ, Sohro S, Toure AS, Coustard JM (2014). Isolation and identification of bioactive compounds from kernel seed cake of the mango (*Mangifera indica* Lam). *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 8: 1885–1895.

Khitri W, Lachgueur N, Tasfaout A, Lardjam A, Khalfa A (2016). Plantes antilithiasiques utilisées en médecine traditionnelle dans la ville d'Oran, Algérie, *Revue d'ethnoécologie* [En ligne], 9 | 2016, mis en ligne le 01 juillet 2016, DOI : [10.4000/ethnoecologie.2511](https://doi.org/10.4000/ethnoecologie.2511).

Krief, S. (2004). *Métabolites secondaires des plantes et comportement animal : surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées* (Thèse de doctorat, Museum National D'histoire naturelle). Repéré à <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00006170>.

Kusmardiyani S, Novita G et Fidrianny I (2016). Antioxidant activities from various extracts of different parts of Kelakai (*Stenochlaenapalustris*) grown in central Kalimantan – Indonesia. *Asian J Pharm Clin Res.* (9) : 2 : 215-219.

L

Lacharme, F. (2011). *Les produits cosmétiques biologiques : labels, composition et analyse critique de quelques formules* (Thèse de doctorat, Université Joseph Fourier).

Lahsissene H, Kahouadji A, Tijane M, Hseini S (2009). Catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de Zaer (Maroc occidental). *Lejeunia, Revue de Botanique* [En ligne], N° 186 (décembre 2009), Repéré à <https://pups.uliege.be/443/0457-4184/index.php?id=701>.

Lamsaouri, Z. (2017). *Phyto-cosmétique : Produits et plantes utilisés au Maroc* (Thèse de doctorat, Université de Mohammed V, Rabat). Repéré à <http://hdl.handle.net/123456789/15512>.

Lebeau J, Furman C, Bernier JL, Duriez P, Teissier E and Cotelle, N (2000). Antioxidant properties of di-tert-butylhydroxylated flavonoids. *Free Radical Biology and Medicine.* 29(9) : 900-912. DOI : [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(00\)00390-7](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(00)00390-7).

Lehmann, H. (2014). *Le médicament à base de plantes en Europe: statut, enregistrement, contrôles* (Thèse de doctorat, Université de Strasbourg). Repéré à <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00936734>.

Lehmann H, Pabst J-Y. (2015). La phytovigilance : impératif médical et obligation légale. *Ann Pharm Fr.* DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pharma.2015.06.004>.

Lewis K et Ausubel FM (2006). Prospects for plant-derived antibacterials. *Nature Biotechnology*, 2006, 24 (12): 1504-1507.

Louarn G, Corre-Hellou G, Fustec J, Lô-Pelzer E, Julier B, Litrico I, Hinsinger P, Lecomte C (2010). Déterminants écologiques et physiologiques de la productivité et de la stabilité des associations graminées-légumineuses. *Innovations Agronomiques.* 11 : 79-99.

Lutge U, Kluge M et Bauer G (2002). Botanique (3^{ème} Ed.). *Technique et documentation*. Lavoisier, Paris : 211p.

M

Maazi MC et Cherfour A (2016). Contribution à l'étude phytochimique d'une plante médicinale (*Ammoides verticillata* leaf. Briq.) de l'Est Algérien. *ResearchGate*. Repéré à : <https://www.researchgate.net/publication/331970963>.

Macheix JJ, Fleuriet A et Allemand CJ (2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économiques. *PPUR presses polytechniques*, Lausanne, Suisse.

Madi, A. (2018). *Caractérisation phytochimique et évaluation des activités biologiques de *Cleome arabica** (Thèse de doctorat, Université des frères mentouri, Constantine). Repéré à : <http://hdl.handle.net/123456789/136279>.

Mahmoudi S, Khali M et Mahmoudi N (2013). Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*cynarascolymus* l.). *Nature & technologie. B- sciences agronomiques et biologiques ;* N° 09 35.

Manceau P (1946). *Précis de Matière Médicale*. Ed. Maloine. Paris : 1092-1093 et p 1286.

Marfak, A. (2013). *Radiolyse gamma des flavonoïdes. Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools : Formation de dépsides* (Thèse de doctorat, Université de Limoges).

Martin S et Andriantsitohaina R (2002). Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de Cardiologie.* 51(6) : 304-315. DO: [https://doi.org/10.1016/S0003-3928\(02\)00138-5](https://doi.org/10.1016/S0003-3928(02)00138-5).

Mayouf, N. (2019). *Propriétés antioxydante, anti-inflammatoire et immunomodulatrice des extraits d'Asphodelus microcarpus* (Thèse de Doctorat, Université de Farhat Abbas, Sétif).

flavonoïdes

Mehmood T, Shafique S, Tabassam Q, Afzal M, Ahmad S (2015). Variation in antioxidant attributes individual phenolic acids composition and biological activities of *Thymus vulgaris*: effects of extraction solvents. *International Journal of Biosciences*. 6 (11) : 73-86. Repéré à <http://www.innspub.net>.

Mekkiou, R. (2005). *Recherche et Détermination Structurale des Métabolites Secondaires d'espèces du Genre Genista (Fabacées) : G. saharae, G. ferox* (Thèse de Doctorat d'Etat, Université Mentouri, Constantine).

Merck, F. (2018). *La biodiversité végétale au service des ingrédients naturels : étude des propriétés antimicrobiennes et antioxydantes d'extraits végétaux et développement d'un conservateur naturel pour l'industrie cosmétique* (Thèse de doctorat, Université Cote D'azur). Repéré à <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01708778>.

Miguel-Chávez SR. (2017). Phenolic antioxidant capacity: a review of the state of the art. Phenolic compounds: Biological activity. *IntechOpen, Rijika*. 59-74. DOI: <http://dx.doi.org/10.5772/66897>.

Mokhtari, M. (2012). *Etude phytochimique de la plante Calycotomespinosa. Link*. (Mémoire de magister, Université El-Hadj Lakhdar, Batna).

Molyneux P (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, *Songklanakarin J. Sci. Technol*. 26 (2):211–219.

Muanda FN. (2010). *Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques* (Thèse de doctorat, Université de Lorraine).

Marles, R., Farnsworth, N. (1995). Antidiabetic plants and their active constituents. *Phytomedicine*, 2(2), 137-189.

Moreau, D. (2006). *Étude de nouvelles cibles moléculaires de cancer bronchopulmonaire non à petites cellules pharmacomodulées par des substances originales naturelles et synthétiques* (Thèse de doctorat, Université de Nantes).

Morel, S. (2011). *Etude phytochimique et évaluation biologique de Derris ferruginea Benth. (Fabaceae)* (Thèse de doctorat, Université d'Angers).

N

Ngene JP, Ngoule CC, PoukaKidik CM, MvogoOttou B, Ndjib RC, Dibong S Didier, MpondoMpondo E (2015). Importance dans la pharmacopée traditionnelle des plantes à flavonoïdes vendues dans les marchés de Douala est (Cameroun). *Journal of Applied Biosciences*.88: 8194– 8210. DOI: [10.4314/jab.v88i1.6](https://doi.org/10.4314/jab.v88i1.6).

N'guessan K, Kadja B, Zirih G, Traoré D, Aké-Assi.L. (2009). Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Sciences & Nature*. 6 (1) : 1 – 15. DOI : <http://dx.doi.org/10.4314/scinat.v6i1.48575>.

Nkhili, E. (2009). *Polyphénols de l'alimentation : extraction, interactions avec les ions du fer et du cuivre, oxydation et pouvoir antioxydant* (Thèse de doctorat, Université Cadi Ayyad, Marrakech).

O

Obame, E.L.C. (2009). *Etude Phytochimique, Activités Antimicrobiennes et Antioxydantes de Quelques Plantes Aromatiques et Médicinales Africaines* (Thèse de doctorat, Université de Ouagadougou).

Odabasoglu F, Aslan A, Cakir A, Suleyman H, Karagoz Y, Halici M (2004). Comparison of antioxidant activity and phenolic content of three-lichen species. *Phytotherapy Research*.18 (11). DOI: <https://doi.org/10.1002/ptr.1488>.

Ouattara LH, Kabran GRM, Guessennd NK, Konan KF, Mamyrbekova-Bekro JA, Bekro YA (2016). Activités antibactériennes in vitro des extraits d'écorces de racines de *Mezoneuron benthamianum* et de tiges de *Paullinia pinnata* : 2 plantes de la pharmacopée Ivoirienne. *Revue CAMES – Série Pharm. Méd. Trad. Afr.*18(1) : 31-40.

P

Paolini V, Dorchie P et Hoste H (2003). Effet des tanins condensés et des plantes à tanins sur les strongyloses gastro-intestinales chez le mouton et la chèvre. *Alter. Agri*.

Peirs, C. (2005). *Contribution à l'étude phytochimique de Galega officinalis L. (Fabaceae)* (Thèse de doctorat, Institut polytechnique de Toulouse). Repéré à <http://ethesis.inp-toulouse.fr/archive/00002728/>.

Petit-Aldana J, Noguera-Savelli E, Cetzal-Ix W, Solorio-Sanchez F, Infante-Cruz A (2014). Productive potential of fenugreek (Fabaceae: Trigonella foenum-graecum L.) in Venezuela. American J. of Social Issues and Humanities. ISSN: 2276 – 6928.

Petrache AM (2018). Homeopathy could be the solution?. ResearchGate. Repéré à <https://www.researchgate.net/publication/330514840>.

Peynet, J, Beaudoux, J L, Legrand, A (2005). Stress oxydant et athérosclérose. Dans Delattre J., Beaudoux J.-L., Bonnefont-Rousselot D. (Ed.). *Radicaux libres et stress oxydant*. Lavoisier, Paris, 45-86

Porter LJ, Hrstich LN et Chan BG (1986). The conversion of procyanidins and prodelphinidins to cyanidins and delphinidin. *Phytochemistry*. 1:223 - 230.

Prieto P, Pineda M et Aguilar M (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 1999, vol. 269, pp. 337- 341.

Parsons WT et Cuthbertson EG (2001). *Noxious Weeds of Australia*. Ed. Csiro Publishing.

Q

Qnais E A, Elokda A S, Abu Ghalyun Y Y & Abdulla F A. (2008). Antidiarrheal Activity of the Aqueous Extract of *Punica granatum*. (Pomegranate) Peels. *Pharmaceutical Biology* .45 (9). DOI: <https://doi.org/10.1080/13880200701575304>.

R

Rached w ,Zeghada FZ, Bennaceur M, Barros L, Calhelha RC, Heleno S, Alves MJ, Carvalho AM Marouf A, Ferreira ICFR (2018). Phytochemical analysis and assessment of antioxidant, antimicrobial, anti-inflammatory and cytotoxic properties of *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters leaves. *Industrial Crops and Products* 112: 460-466. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.12.037>.

Rasolofonantenaina, R. (2018). *Etude phytochimique et biologique des extraits de feuilles d'Astrotrichilia parvifolia (Méliacées), une plante médicinale malgache* (Thèse de doctorat, Université d'Antananarivo).

Ribéreau-Gayon J, Peynaud E, Sudraud P, Ribéreau-Gayon P (1982). *Composés phénoliques*. In « *traité d'oenologie, science et technique du vin* ». Ed. Dunod : 477-499.

Royer, M. (2018). *Étude des relations entre croissance, concentrations en métabolites primaires et secondaires et disponibilité en ressources chez la tomate avec ou sans bioagresseurs* (Thèse de doctorat, Université de Lorraine).

Rameau JC, Mansion D, Dumé G (2008). *Flore forestière française : guide écologique illustré. Région méditerranéenne*. Vol 3. Ed. Forêt privée française.

S

Sahli, R. (2017). *Etude phytochimique de quelques plantes extremophiles tunisiennes et exploitation de leurs activités biologiques* (Thèse de doctorat, Université Lille 2).

Saidi B, Latrech A, Mehdadi Z, Hakemi Z, Dadache M, Ammar B (2015). Floristic, Ethnobotanical and Phytotherapy Studies of Medicinal Plants Spontaneous in the Area of Mountains Tessala, Western Algeria. *Global Journal of Medicinal Plant Research*, 3(5): 5. Repéré à <https://www.researchgate.net/publication/322640969>.

Šaponjac VT, 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.

Sari M, Hendel N, Sarri D, Boudjelal A, Benkhaled A (2013). Ethnobotanical study of medicinal Flora used by the people of the Forest El Haourane-Msila (Alegria). *Journal Of Ecoagritourism*. 9(2) : 27. Repéré à http://rosita.ro/jeat/archive/2_2013.pdf.

Saxena M, Saxena J, Nema R, Singh D, Gupta A (2013). Phytochemistry of Medicinal Plants. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 1 (6). Repéré à www.phytojournal.com.

Schofield P, Mbugua DM et Pell AN. (2001). Analysis of condensed tannins: a review. Anim. Feed Sci. Technol. 91: 21-40.

Shahwar D et Raza MA. (2012). Antioxidant potential of phenolic extracts of *Mimusops elengi*. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 2(7). DOI: [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60094-X](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60094-X).

Soubeiran E (1857). Traité de pharmacie théorique et pratique, Volume 1. Ed. Victor Masson.

T

Tankeo SB, Lacmata ST, Noumedem JA, Dzoyem JP, Kuate JR, Kuete V (2014). Antibacterial and antibiotic-potential activities of some Cameroonian food plants against multi-drug resistant gramnegative bacteria. Chin. J. Integr. Med. 20 (7) : 546–554.

Tegos G, Termitz FR, Lomovskaya O, Lewis K (2002). Multidrug Pump Inhibitors Uncover Remarkable Activity of Plant Antimicrobials. Antimicrobial agents and Chemotherapy. 46 (10) : 3133-3141.

Terescenco, D. (2018). *Evaluation et compréhension de la structure de l'émulsifiant et son impact sur les propriétés physiques, physico-chimiques et sensorielles d'émulsions cosmétiques* (Thèse de doctorat, Université Normandie). Repéré à <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01792505>.

Tigrine, C. (2014). *Effets anticancéreux et chimioprotecteur de l'extrait polyphénolique, riche en flavonoïdes, des feuilles de Cléome arabica* (Thèse de doctorat, Université Ferhat Abbas, Setif).

Tolba, I. (2016). *Détermination d'un méta-paramètre pour l'estimation de la capacité antioxydante globale des thés, tisanes et jus* (Thèse de doctorat, Université du Québec).

V

Valko M, Rhodes CJB, Moncol J, Izakovic M, Mazur M (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chemico-Biological Interactions. 160 (1): 1-40. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2005.12.009>.

Verhoeven ME, Bovy A, Collins G, Muir S, Robinson S, De Vos CHR, Colliver S (2002). Increasing antioxidant levels in tomatoes through modification of the flavonoid biosynthesis pathway. Journal of experimental botany. 53 (377): 209 -210. DOI: <https://doi.org/10.1093/jxb/erf044>.

Vermeris W et Nicholson R. (2007). *Phenolic compound biochemistry*. Ed. Springer. France.

W

Wanda GJMK, Gamo FZ, Njamen D (2015). *Fabaceae: Classification, nutrient composition and health benefits*. Edition Wayne Garza. New York. USA.

Wojciechowski MF, Lavin M, Sanderson MJ (2004). A phylogeny of Legumes (Leguminosae) based on analysis of the plastid MATK gene resolves many well-supported subclades within the family. American Journal of Botany. 91 (11):1846–1862. DOI: <https://doi.org/10.3732/ajb.91.11.1846>.

Y

Yahiaoui, H. (2019). *Pouvoir Antioxydant et Neuroprotecteur de Quelques Plantes Algériennes* (Thèse de doctorat, Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem).

Z

Zeenat A, Archana M, Siddhartha K M, Laxmi A. (2017). Medicinal plants as natural antioxidants: a review. Journal of Botanical Society.

Zerriouh, M. (2015). *Contribution à l'étude phytochimique et activité antidiabétique de Hammada scoparia (Pomel), « Remth »* (Thèse de doctorat, Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen).

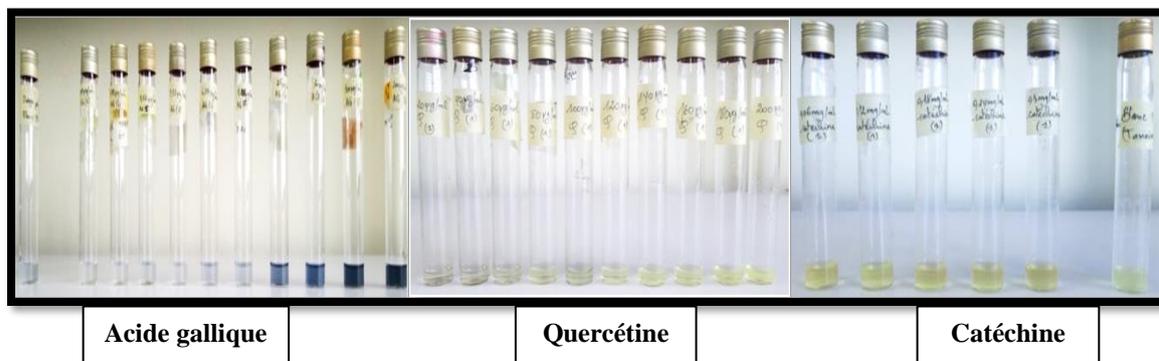
Zitouni, A. (2017). *Profil polyphénolique et activité antioxydante de deux plantes médicinales Pistacialentiscus. L et Gynocarpusdecander. forsk* (Thèse de doctorat, Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen).

Zulkifli KS, Abdullah N, Abdullah A, Aziman N, Kamarudin WSSW (2012). Phytochemical screening and activities of hydrophilic and lipophilic antioxidant of some fruit peels. The Malaysian Journal of Analytical Sciences. 16 (3): 309 – 317.

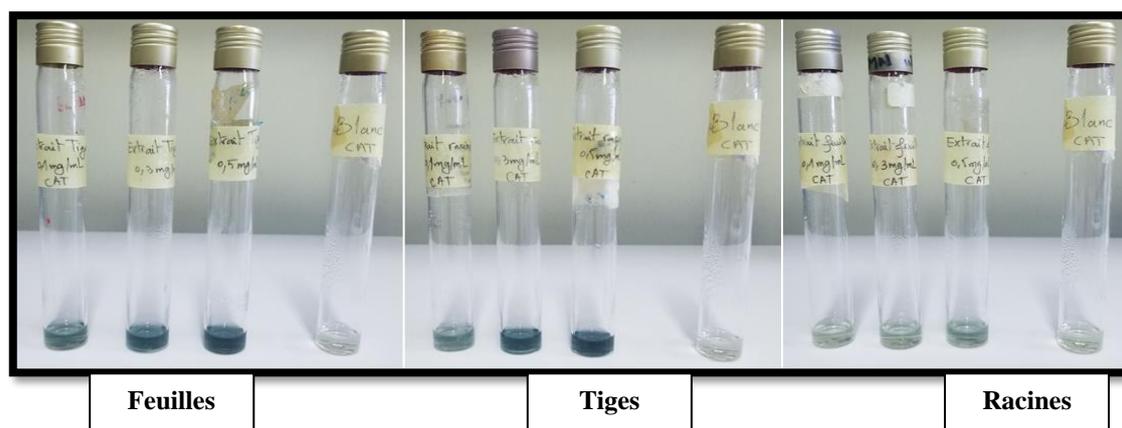
<https://www.who.int/topics/cancer/fr/>

Annexes

Annexe I : Photos représentant les résultats des gammes d'étalonnage de l'acide gallique, de la quercétine et de la catéchine.



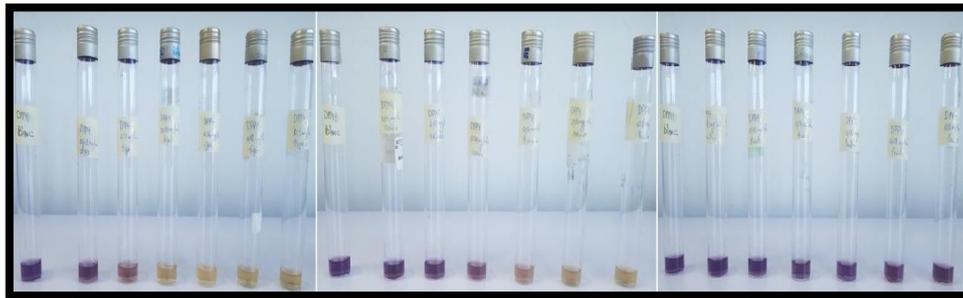
Annexe II : Photos représentant les résultats du test CAT des décoctés aqueux des feuilles, des tiges et des racines de *C. spinosa*.



Annexe III : Photos représentant la gamme d'étalonnage du BHT ainsi que les résultats du test DPPH des décoctés aqueux des feuilles, des tiges et des racines de *C. spinosa*.



BHT

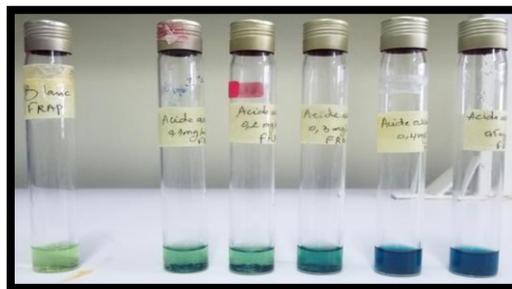


Feuilles

Tiges

Racines

Annexe IV : Photos représentant la gamme d'étalonnage de l'acide ascorbique ainsi que les résultats du test FRAP des décoctés aqueux des feuilles, des tiges et des racines de *C. spinosa*.



Acide ascorbique



Feuilles

Tiges

Racines

Valorisation de *Calycotome spinosa* pour des applications en cosmétique: étude de l'activité antioxydante des extraits thermorésistants**Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master professionnel en Bio-industrie Analyse et Contrôle (BAC)****Résumé**

L'objectif de la présente étude était la valorisation d'une plante appartenant à la famille des Fabaceae, *Calycotome spinosa*, pour des applications en cosmétique. Tout d'abord, les extraits aqueux des feuilles, des tiges et des racines de cette plante ont été préparés par une décoction aqueuse. Cette dernière a révélé un rendement variable, dont le plus important était celui des feuilles (29.7%). Ensuite, un criblage phytochimique des décoctés a permis de mettre en évidence la présence des principaux métabolites secondaires, notamment les composés phénoliques, qui varient d'une partie à une autre de la plante. Ceci a été confirmé par une analyse quantitative des polyphénols totaux, des flavonoïdes totaux et des tannins condensés en utilisant le Folin ciocalteu, l' AlCl_3 et le n-BuOH-HCl, respectivement. Les résultats obtenus ont montré que le décocté des feuilles de *C. spinosa* a révélé les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux, en flavonoïdes totaux et en tannins condensés qui étaient égales à 72.66 ± 0.02 mg EAA /g MS, à 35.00 ± 0.01 mg EQ /g MS et à 12.50 ± 0.025 mg EC /g MS, consécutivement. En revanche, le décocté des tiges montrait des valeurs modérées et celui des racines révélait des quantités moindres. Par ailleurs, l'activité antioxydante des décoctés a été testée en utilisant trois méthodes différentes, en l'occurrence la capacité antioxydante totale (CAT), le piégeage du radical libre DPPH et le pouvoir réducteur du fer (FRAP). En effet, la meilleure activité antioxydante a constamment été exprimée par l'extrait aqueux des feuilles avec une CAT égale à 255 ± 0.00 mg EAA /g MS, une CI_{50} de 0.05 ± 0.01 mg /mL (DPPH) et une CE_{50} de 2.034 ± 0.00 mg /mL (FRAP). L'ensemble des résultats précédents a confirmé que *Calycotome spinosa*, en particulier ses feuilles, peuvent être utilisées comme une source de composés bioactifs thermorésistants ayant des propriétés antioxydantes intéressantes.

Mots clés : *Calycotome spinosa*, phytocosmétique, décoction, thermorésistant, composés phénoliques, antioxydant.

Laboratoire de recherche : Laboratoire de Mycologie, de Biotechnologie et de l'Activité Microbienne (LaMyBaM), Département de Biologie Appliquée. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Université des Frères Mentouri- Constantine-1.

Jury d'évaluation :Président du jury : **Pr. KACEM CHAOUICHE Norednine**Rapporteur : **M^{me}. CHERFIA Radia**Examinatrice : **M^{me}. MOSBAH Asma****Pr. UFM Constantine 1.****M.A.A. UFM Constantine 1.****M.C.A. UFM Constantine 1.****Date de soutenance : 24/09/2020**