

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE & BIOCHIMIE

N°:



DOMAINE : SCINCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

FILIERE : SCIENCE BIOLOGIQUE

OPTION : BIOCHIMIE APPLIQUEE

**Mémoire présenté pour l'obtention**

**Du diplôme de Master Académique**

Par : Gasri Fatiha

Hamadi Safa

**Intitulé**

**Evaluation de l'activité antioxydant de l'extrait  
méthanolique de la plante *Genista quadriflora***

Soutenu devant le jury composé de :

Dr.Benslama Abderrahim

Université Mohamed Boudiaf M'sila

Rapporteur

Dr.Bouaziz Samia

Université Mohamed Boudiaf M'sila

Examinatrice

Dr.Bencheikh Dalila

Université Mohamed Boudiaf M'sila

Presidente

Année universitaire : 20.. /20..

**2021/2022**

## DEDICACE

*Que je dedie : a ma famille specielement aux personnes les plus cheres au monde .mon père **Tahar** et ma mere **Noura**, qui sont la lumiere de mes yeux,lombre de mes pas et le benheur de ma vie. qui mont apportees son appui durant toutes mes annees detudes, pour ses sacrifices et soutien et qui mont donne la tendresse,la confiance, le courage et la securite.*

*A mon chers frere : **Islam Mohamed**.*

*A mes deux chers soeur : **Douaa et Ritadj** .*

*À ma chère tante **Aicha**, que j'ai trouvé dans tous les moments de besoin et de détresse.*

*À mes meilleures amies qui m'ont toujours ouvert les portes de A mes cher les collègues avec qui j'ai travaillé au laboratoire l'espoir: (**Lamiss, Ferdous , Imane et Zineb** ).*

*À mon binôme **Fatiha** et sa famille.*

*À mes cher les collègues avec qui j'ai travaillé au laboratoire.*

*À tous ceux qui me sont chers.*

***Hamadi Safa***

## DEDICACE

*Personne ne peut rien réaliser seule, c'est pourquoi je dédie mon humble travail à :*

- ❖ *Mon père, sans lui je ne serais pas qui je suis maintenant.*
- ❖ *Ma mère, qui ne m'a pas épargné d'amour, soutien et prières*
- ❖ *À ma deuxième mère, ma grand-mère qui a illuminé mon chemin et mon cœur de son amour et de nombreuses prières*
- ❖ *A mon deuxième père, mon grand-père Omar, que Dieu lui fasse miséricorde, à qui j'ai voulu qu'il témoigne et voit ce jour*
- ❖ *A mon ami et mon frère **Omar***
- ❖ *A mes soeurs: **Achwak, Zahra, Malak***
- ❖ *À mon **oncle Khaled**, que j'ai trouvé dans tous les moments de besoin et de détresse*
- ❖ *A ma collègue **Safaa** et sa famille*
- ❖ *Et à mes amis et tous ceux qui m'ont aidé, même avec un sourire.*

*Gasri Fatiha*



## **REMERCIEMENTS**

*Tout d'abord, louange à « **ALLAH** » le tout puissant, le très miséricordieux qui mes donnés la santé, la force et le courage d'entamer et de terminer ce mémoire.*

*Tout d'abord, nous voudrais dans un premier temps remercié l'encadrement de mémoire **Dr. Ben Slama**, pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils durant notre préparation de ce mémoire.*

*Nous remercions les membres de jury d'avoir accepté de juger notre modeste travail.*

*Nous remercions également le professeur **Dr.Hamid Bendif** qui nous a donné des conseils et fourni la plante sur laquelle les expériences ont été menées.*



## Sommaire

<b>Résumé</b> .....	iii
<b>Liste des abréviations</b> .....	iv
<b>Liste des figures</b> .....	v
<b>Listes des tableaux</b> .....	vi
<b>Introduction</b> .....	1

### Chapitre I. Les plantes médicinales

I.1. Généralité.....	3
I.2. Les plantes médicinales .....	3
I.3. Principe actif.....	4
I.4. Les polyphénols .....	4
I.5. Classification des polyphénols .....	6
I.6. Les activités biologiques des polyphénols.....	7
I.6.1. L'activité antioxydante .....	7
I.6.2. L'activité antimicrobienne .....	7
I.6.3. Effet cardio-protecteur .....	8
I.6.4. L'activité anti-inflammatoire .....	8
I.6.5. Chélateurs de métaux .....	9
I.6.6. Application cosmétique de polyphénols .....	9

### Chapitre II. Stress oxydatif

II.1. Définition de stress oxydatif.....	10
II.2. Origine du stress oxydatif.....	10
II.3. Radicaux libres .....	11
II.3.1. Définition de radical libre .....	11

II.4.	Espèces réactives et stress oxydatif .....	11
II.5.	Mécanismes de réaction.....	14
II.6.	Les antioxydants .....	14
II.6.1.	Classification des antioxydants .....	14
II.6.2.	Mécanisme enzymatique .....	15
II.6.3.	Mécanisme non enzymatique .....	15
II.7.	Système de défense antioxydant dans la cellule .....	16

### **Chapitre III. *Genista quadriflora***

III.1.	Généralité .....	17
III.2.	Nomenclature .....	18
III.3.	Habitat (distribution géographique).....	18
III.4.	Systématique botanique .....	18
III.5.	Description botanique .....	19
III.6.	Usages traditionnels .....	19

### **Chapitre IV. Matériels et méthodes**

IV.1.	Matière végétale .....	20
IV.2.	Réactifs .....	20
IV.3.	Matériels .....	20
IV.4.	Extraction.....	20
IV.4.1.	Dosage de polyphénols .....	22
IV.4.2.	Dosage des flavonoïdes .....	22
IV.5.	Étude de l'activité antioxydante.....	23
IV.5.1.	Test de piégeage du radical DPPH .....	23
IV.5.2.	Pouvoir réducteur (FRAP).....	23

### **Chapitre V. Résultats et discussion**

V.1.	Rendements d'extraction .....	24
V.2.	Dosage de polyphénol et flavonoïde .....	25

V.2.1. Teneur en polyphénols totaux .....	25
V.2.2. Teneur en flavonoïdes .....	25
V.3. L'activité antioxydante et antiradicalaire .....	27
V.3.1. Test anti-radicalaire (Test DPPH) .....	27
V.3.2. Test de la réduction (FRAP).....	29
<b>Conclusion</b> .....	30
<b>Références bibliographiques</b> .....	32

## ملخص

*Genista quadriflora* من عائلة البقوليات (fabales)، المسمى محلياً "Chdida"، هو نبات طبي يستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي في الجزائر لعلاج لمختلف الأمراض. نهدف في هذه الدراسة الى تحديد محتوى المستخلص الميثانولي (E.Meth) من المركبات الفينولية وتقييم نشاطها المضاد للأكسدة. تعرض الجزء الجوي من النبات (السيقان والأوراق) للنقع في الميثانول، وبلغ إنتاج المستخلص 12.02% (م / م). تم تحديد محتوى البوليفينول الكلي باستخدام كاشف Folin-Ciocalteu، وهو ما يعادل 198.16 مجم من حمض الجاليك / جم من المستخلص. تم تقييم مركبات الفلافونويد بالطريقة باستخدام كلوريد الألومنيوم AIC13 ويقدر المحتوى بـ 20.23 مجم كيرسيتين مكافئ / جرام من المستخلص. تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلص باستخدام DPPH-2 (diphenyl-1-picrylhydrazyl) واختبار قدرة التنقيح. أظهر المستخلص نشاطاً قوياً مضاداً للجذور وأظهر قوة اختزال جيدة، وكانت النتائج IC50 5.19 ميكروغرام / مل و 218,7 ميكروغرام / مل، على التوالي. في الختام، يحتوي المستخلص الميثانولي لـ *G. quadriflora* على نشاط هام كمضاد للأكسدة بسبب وجود المركبات الفينولية التي يمكن استغلالها في صناعة الأدوية.

**الكلمات المفتاحية:** *Genista quadriflora*، النشاط المضاد للأكسدة، البوليفينول الكلي، DPPH، FRAP.

## **Abstract**

*Genista quadriflora* from the legume family (fabales), subfamily Papilionaceae (fabaceae), locally called “Chdida”, is a medicinal plant widely used in traditional medicine to treat various diseases, in Algeria and Morocco. The objective of this study is to determine the content of the methanolic extract (E.Meth) in phenolic compounds and to evaluate their antioxidant activity. The aerial part of the plant (stems and leaves) was subjected to maceration in methanol, the extract yield was 12.02% (m/m). The content of total polyphenols was determined using the Folin-Ciocalteu reagent, it is 198.16 mg equivalent of gallic acid/g of extract. The flavonoids were evaluated by the method using aluminum chlorides  $AlCl_3$ , the content is estimated at 20.23 mg quercetin equivalent/g of extract. The antioxidant activity of the extract was evaluated using 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and the reducting power test. The extract exhibited strong anti-radical activity and showed good reducing power, the results were  $IC_{50}$  5.19 mcg/mL and 218,73  $\mu$ g/mg, respectively. In conclusion, the methanolic extract of *G.quadriflora* has an important antioxidant activity due to the presence of phenolic compounds which can be exploited in the pharmaceutical industry.

**Key words:** *Genista quadriflora*, , antioxidant activity, total polyphenols DPPH, FRAP.

## Résumé

*Genista quadriflora* de la famille des légumineuses (fabales), sous-famille des papilionacées (fabacées), appelé localement «Chdida», est une plante médicinale largement utilisée en médecine traditionnelle pour traiter diverses maladies, en Algérie et Marocco. L'objectif de cette étude est déterminer la teneur de l'extrait méthanolique (E.Meth) en composés phénoliques et d'évaluer leur activité antioxydante. La partie aérienne de la plante (tiges et feuilles) a été soumise à une macération dans le méthanol, le rendement d'extrait était de 12,02 % (m/m). La teneur en polyphénols totaux a été déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, elle est de 198,16 mg équivalent d'acide gallique/ g d'extrait. Les flavonoïdes ont été évalués par la méthode utilisant les chlorures d'aluminium AlCl<sub>3</sub>, la teneur est estimée à 20,23 mg équivalent quercétine/ g d'extrait. L'activité antioxydante de l'extrait a été évaluée à l'aide du 2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) et le teste de pouvoirn reducteur . L'extrait a exhibé une forte activité anti radicalaire et présenté un bon pouvoirn réducteur, les résultats étaient IC50 5.19 mcg/mL et 218,73 µg/mg, respectivement. En conclusion, l'extrait méthanolique de *G.quadriflora* possède une activité antioxydante importante due à la présence des composés phénoliques qui peuvent être exploités dans l'industrie pharmaceutique.

**Les Mots clés :** *Genista quadriflora* , activité antioxydante, polyphénols totaux, DPPH, FRAP.

## Liste des abréviations

**BHT** : Butylhydroxytoluène.

**E.Meth** : Extrait méthanolique.

**EC50**: Concentration efficace 50.

**FRAP**: Ferric Reducing Antioxidant Power.

**ROS** : Espèce réactive d'oxygène.

**I.P.N.I** : International Plant Name Index

**µg EAG/mg E** : Microgramme équivalent acide gallique par milligramme d'extrait. □g

**µEQ/mg E** : Microgramme équivalent de Quercitine par milligramme d'extrait.

**OMS** : Organisation Nationale de la Santé

**PGH** : Plants Growth Hormones

**TCA** : Trichloroacetic acid

**DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl.

## Liste des figures

<b>Figure 1.</b> Schéma des principaux polyphénols et de leurs structures chimiques ( <b>Acquasaliente et al, 2019</b> )	6
<b>Figure 2.</b> Les origines du stress oxydant ( <b>Durackova, 2008</b> )	11
<b>Figure 3.</b> Le stress oxydatif et sa relation avec le cancer ( <b>Sies, 2019</b> )	13
<b>Figure 4.</b> Classification des antioxydants ( <b>Hunaef, 2013</b> )	15
<b>Figure 5.</b> <i>Genista quadriflora</i> ( <b>Muséum national d'Histoire naturelle,2007</b> )	17
<b>Figure 6.</b> Description botanique de <i>Genista quadriflora</i> ( <b>Homrani Bakali, 2020</b> )	17
<b>Figure 7.</b> Protocole d'extraction méthanolique ( <b>Benslama et al., 2016</b> )	22
<b>Figure 8.</b> Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	25
<b>Figure 9.</b> Courbe d'étalonnage de la Quercitine	26
<b>Figure 10.</b> L'activité antiradicalaire de l'extrait méthanolique, de BHT	28
<b>Figure 11.</b> Le pouvoir réducteur de l'extrait de <i>Genista quadriflora</i> exprimé et de Quercitine	30

## Listes des tableaux

<b>Tableau 1.</b> Analyses quantitatives des extraits de <i>Genista quadriflora</i> .....	24
---	----

# **Introduction**

## Introduction

Les plantes médicinales sont très importantes car non seulement elles maintiennent la santé et la vitalité, mais elles traitent également diverses maladies chez les humains et les animaux sans provoquer d'effets secondaires toxiques. Ces agents thérapeutiques sont facilement disponibles et efficaces (**Kashyap, 2022**), notre époque est profondément marquée par la recherche d'une vie plus saine et un retour à la nature et aux valeurs fondamentales. Mais le succès de la phytothérapie s'explique avant tout par le niveau de maîtrise technique et scientifique atteint aujourd'hui dans ce domaine. La chimie et la pharmacologie ont permis, grâce aux progrès, de développer des traitements plus sûrs, plus pratiques et plus efficaces. La phytothérapie, par son action douce et profonde, apparaît comme la réponse idéale aux "maladies du siècle". Les espèces végétales contiennent une variété de structures chimiques qui correspondent à une variété d'activités biologiques, y compris des capacités antibactériennes, cytotoxiques, antifongiques et antioxydantes (**Jeeb et al., 2016**).

Souvent, le corps humain est sujet à diverses maladies, dont la cause peut être la présence excessive de radicaux libres ou même le phénomène d'oxydation dépassant la plage normale. Les deux conditions peuvent entraîner un vieillissement prématuré et rapide des cellules du corps. mais aussi faciliter l'émergence de divers troubles ou maladies (**Kashyap, 2022**).

Les antioxydants sont utilisés dans les aliments pour les protéger des effets néfastes de l'oxydation, et ils sont également utilisés comme compléments nutritionnels pour contrer les effets néfastes du stress oxydatif. De nombreux antioxydants naturels d'intérêt sont d'origine végétale et appartiennent à la classe des composés phénoliques et polyphénoliques ainsi que des caroténoïdes et des vitamines antioxydantes, entre autres (**Shahidi, 2015**).

Les antioxydants sont un mécanisme de défense que le corps produit pour neutraliser les effets des espèces réactives de l'oxygène. Il peut être à la fois enzymatique et non enzymatique. Les sources non enzymatiques d'antioxydants comprennent la vitamine C, la vitamine E, le sélénium, le zinc, le bêta-carotène, le carotène, la taurine, l'hypobutorine et le glutathion. Les antioxydants enzymatiques comprennent la SOD, la catalase, la glutaredoxine et la glutathion réductase. Cependant, à mesure que le corps vieillit, les niveaux d'antioxydants diminuent, entraînant un déséquilibre entre les antioxydants et les molécules prooxydantes (**Mulgund, 2015**).

L'objectif de notre travail est d'étudier l'activité antioxydante de l'extrait de *Genisra quadriflora* médicinale algérienne *Genista quadriflora*. Le plan pilote de ce travail est le suivant :

Préparation d'extraits méthanoliques de la partie aérienne de la plante.

- Dosages des polyphénols totaux et des flavonoïdes.
- Étude en laboratoire de l'effet antioxydant des extraits préparés par test DPPH et test de réduction du fer FRAP.

PARTIE  
BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I

Les plantes médicinales

## Chapitre I. Les plantes médicinales et polyphénols

### I.1. Généralité

Depuis les temps anciens, les gens ont instinctivement utilisé des plantes trouvées dans la nature pour traiter diverses maladies, bien qu'il n'y ait pas suffisamment d'informations sur la maladie, la plante ou comment l'utiliser comme traitement, c.-à-d. basé uniquement sur l'expérience.

Au fil du temps, l'utilisation des plantes médicinales est devenue basée sur des faits explicatifs, les raisons de l'utilisation de plantes spécifiques pour traiter certaines maladies ayant été découvertes, en particulier avec l'émergence de l'iatrochimie au XVI<sup>e</sup> siècle, ainsi que la diminution de l'efficacité des drogues synthétiques et de leurs contre-indications et effets secondaires croissants font de l'utilisation des plantes médicinales une question d'actualité (**Bauer Petrovska, 2012**).

### I.2. Les plantes médicinales

Les plantes médicinales ont des définitions différentes et nombreuses, mais plus simple est une plante ou une partie d'une plante par exemple la feuille, tige, racine etc. possédant des propriétés médicamenteuses par l'action synergique de ses composés actifs sans avoir des effets nocifs aux doses recommandées (**Jorite, 2015**).

Les plantes médicinales sont principalement des plantes entières, fragmentées ou brisées, des algues, des champignons ou des lichens, non transformés, généralement sous forme séchées mais parfois fraîches, dans un ou plusieurs de ses organes, contient des substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs pour la synthèse de médicaments utiles. Cette description permet de distinguer entre les plantes médicinales dont les propriétés thérapeutiques et les constituants ont été scientifiquement établis, et les plantes qui sont considérées comme médicinales mais qui n'ont pas encore fait l'objet d'une étude scientifique approfondie. Les médicaments à base de plantes sont précisément définis par le nom scientifique botanique selon le système binominal (genre, espèce variété et auteu) (**Sofowora et al., 2013**).

Un certain nombre de plantes sont utilisées en médecine traditionnelle même s'il n'y a pas suffisamment de données scientifiques (essais en double aveugle, par exemple) pour confirmer leur efficacité. Ces plantes devraient être considérées comme des plantes médicinales. Le terme « drogues brutes d'origine naturelle ou biologique » est utilisé par les pharmaciens et les pharmacologues pour décrire des plantes entières ou des parties de plantes qui ont des propriétés médicinales. Une définition des plantes médicinales aux fins de cette présentation devrait comprendre ce qui suit (**Sofowora et al., 2013**).

Les risques cliniques associés à l'utilisation des plantes médicinales peuvent être importants, bien que leur efficacité comme un médicament. L'OMS (2007) a publié des monographies sur la qualité, la sécurité et l'efficacité de certaines plantes médicinales, des recommandations sur la culture de plantes médicinales et des recommandations sur le contrôle de la qualité, la sécurité et l'efficacité des PGH (Ghosh, 2016).

### **I.3. Principe actif**

Les plantes médicinales consistent en éventail des composés, certains sont dits primaires car nécessaires à la vie de la plante lui-même, et d'autres secondaires, utilisés par la plante comme moyens de protection ou pour l'adaptation avec l'environnement...etc. Alors que les êtres humains l'utilisent pour leur intérêt thérapeutique (Hussein et El-Anssary, 2018).

Le principe actif est contenu dans une plante médicinale ou une préparation à base de drogue végétale, présentant un intérêt thérapeutique curatif ou préventif pour l'homme ou l'animal.

Les principes actifs sont des substances chimiques se trouvant dans la plante médicinale, agissant de façon isolée ou en association pour une action thérapeutique. Une plante médicinale peut contenir des centaines, voire des milliers de principes actifs différents (Creapharma, 2022).

Une drogue végétale en l'état ou sous forme de préparation est considérée comme un principe actif dans sa totalité, que ses composants ayant un effet thérapeutique soient connus ou non (Wichtl et Anton, 2003).

L'extraction est la meilleure méthode pour l'obtention de ces composés à partir des cellules végétales d'une plante et utilisables tels quels, ou après modification chimique, ou enfin isolés pour être ensuite synthétisés (Zhang, 2018).

Les composés bioactifs sont classés comme terpénoïdes, alcaloïdes, composés contenant de l'azote, composés organosulfes et composés phénoliques. On rapporte que les composés bioactifs possèdent diverses activités biologiques, comme les antioxydants, les anticancéreux, les antipaludiques, les ulcères, les antimicrobiens et les anti-inflammatoires (Senem Kamiloglu et al, 2021).

### **I.4. Les polyphénols**

Le terme « polyphénols » est fréquemment utilisé dans le langage courant et même dans des articles scientifiques ou de vulgarisation pour désigner l'ensemble des composés phénoliques qui sont largement répandus dans le règne végétal et dans nos aliments. (Fleuriet et al., 2005)

Les polyphénols sont des composés naturels synthétisés exclusivement par les plantes (depuis les racines jusqu'aux fruits), appartiennent à leur métabolisme secondaire. Leurs fonctions ne sont pas strictement indispensables à la vie du végétal, cependant ces substances jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement, contribuant ainsi à la survie de l'organisme dans son écosystème (**Achat, 2013**).

L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'un ou plusieurs cycle aromatique comportant au moins un groupe hydroxyle, et leur structure peut varier d'une molécule simple à un polymère complexe ayant un poids moléculaire élevé (**Singla et al., 2019**).

Selon **Muanda Nsemi (2010)**, ces composés présentent une grande diversité de structures, divisées en non flavonoïdes et flavonoïdes. Toutes les classes de composés phénoliques comportent un grand nombre de structures différentes en fonction du nombre et de la position des groupements hydroxyles sur le squelette de base. Ces structures peuvent également être diversement substituées (glycosylées, estérifiées, acylées...ect).

La première est représentée par les acides phénoliques, qui comprennent les acides benzoïques (acide gallique).

La seconde classe est constituée d'un noyau phénolique porteur d'une chaîne latérale insaturée en C3 (acide caféique).

La dernière classe est basée sur un squelette en C6-C3-C6 (catéchine), elle comprend plusieurs groupes qui se distinguent par le degré d'oxydation de l'hétérocycle central en C3.

Les polyphénols naturels ont montré de nombreuses activités biologiques et des avantages pour la santé pour la prévention et le traitement des maladies liées à l'âge, les cancers, les maladies cardiaques, etc. Les activités les plus importantes étaient l'activité antioxydante, l'activité anticancéreuse, l'activité anti-inflammatoire, l'activité cardioprotection, l'effet anti-âge et l'effet antimicrobien (**Li et al., 2014**).

Les polyphénols sont de puissants antioxydants qui peuvent aider à neutraliser les radicaux libres. Les radicaux libres sont des composés instables qui se forment à la suite de facteurs tels que les rayonnements UV, les radiations, le tabac, la pollution atmosphérique, l'inflammation etc... et qui s'accumulent dans le corps en causant des dommages au niveau des cellules (stress oxydatif) (**Muanda Nsemi, 2010**).

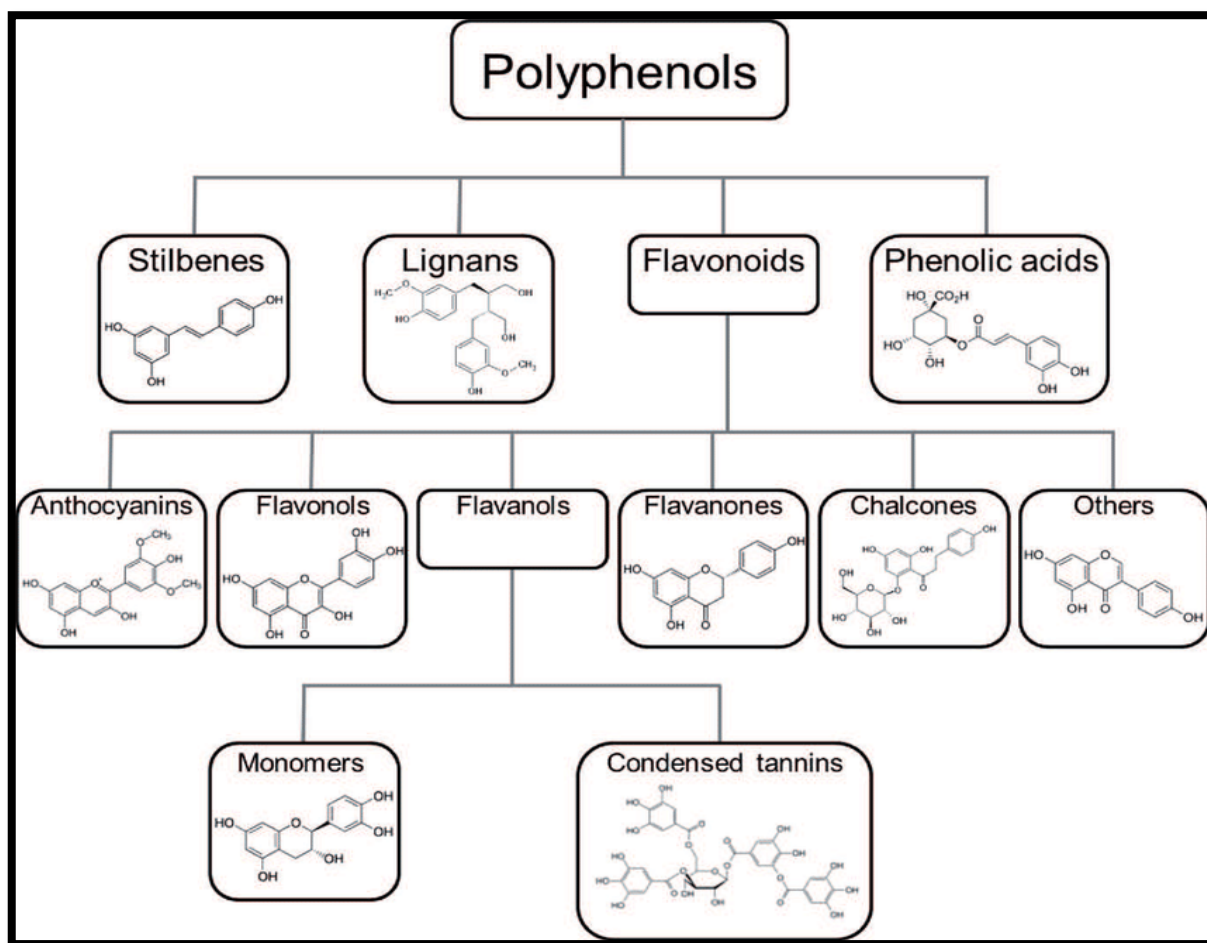
Un certain nombre de facteurs pourraient influencer sur la teneur en polyphénols des aliments quotidiens, comme l'état de l'environnement, l'entreposage et la transformation des aliments. Par exemple, l'exposition au soleil, les précipitations, les différents types de culture et le degré

de maturité pourraient influencer de différentes façons sur les concentrations et les proportions de polyphénols. (Gomez-Rico *et al.*, 2006).

## I.5. Classification des polyphénols

Plusieurs milliers de composés polyphénoliques différents (dont plus de 8150 flavonoids) ont été identifiés avec un large éventail de structures. La diversité et la grande distribution des polyphénols dans les plantes ont mené à différentes façons de catégoriser ces composés naturels. La classification la plus adoptée implique la subdivision des phénoliques en deux groupes principaux : les flavonoïdes (flavones, flavonols, anthocyanidines, isoflavones, flavonones, catéchines) et les polyphénols non flavonoïdes (resvératrol, acides phénoliques, lignanes), et cette classification a été couramment utilisée dans la littérature (Belščak-Cvitanović *et al.*, 2018., Durazzo *et al.*, 2019).

Les polyphénols ont été classés selon leur origine, leur distribution naturelle, leur biofonction logique et structure chimique. Comme on peut le voir à la figur(01) (Belščak-Cvitanović *et al.*, 2018).



**Figure 1.** Schéma des principaux polyphénols et de leurs structures chimiques (Acquasaliente *et al.*, 2019)

## **I.6. Les activités biologiques des polyphénols**

Les polyphénols sont des métabolites secondaires des plantes. Ils sont distribués partout dans le règne végétal, ont montré de nombreuses activités biologiques et des avantages pour la santé pour la prévention et le traitement des maladies liées à l'âge, les cancers, les maladies cardiaques, etc. Les activités les plus importantes étaient l'activité antioxydante, l'activité anticancéreuse, l'activité anti-inflammatoire, l'activité cardioprotection, l'effet anti-âge et l'effet antimicrobien. Ces activités sont dues à leur capacité d'interagir avec certaines enzymes, hormones, neurotransmetteurs et d'autres facteurs impliqués dans la genèse de ces maladies (**Li et al., 2014**).

### **I.6.1. L'activité antioxydante**

L'activité antioxydante des composés phénoliques est attribuée à la capacité de récupérer les radicaux libres, en donnant des atomes d'hydrogène, des électrons ou des cations métalliques chélatés. Les structures moléculaires, en particulier le nombre et les positions des groupes hydroxyles, et la nature des substitutions sur les cycles aromatiques, confèrent aux composés phénoliques la capacité d'inactiver les radicaux libres, ce qu'on appelle la relation d'activité de structure (DAS). Les radicaux libres sont des composés instables qui se forment à la suite de facteurs tels que les rayonnements UV, les radiations, le tabac, la pollution atmosphérique, l'inflammation etc... et qui s'accumulent dans le corps en causant des dommages au niveau des cellules (stress oxydatif). Les polyphénols peuvent réagir dans la membrane plasmique avec des composés non polaires présents dans la partie hydrophobe de la couche membranaire (couche interne), et ces réactions peuvent affecter le taux d'oxydation des protéines et des lipides. Certains flavonoïdes dans le noyau hydrophobe de la membrane peuvent empêcher l'accès aux oxydants et protéger la structure et le fonctionnement de la membrane. Dans certaines circonstances, les flavonoïdes peuvent être oxydés directement par les radicaux libres en raison de la réactivité élevée du groupe hydroxyle des flavonoïdes, ce qui entraîne une formation plus stable et moins réactive des radicaux. Certains flavonoïdes peuvent piller directement les superoxydes, et d'autres flavonoïdes peuvent piller seulement un radical dérivé de l'oxygène très réactif appelé peroxy-nitrite. En raison de ces réactions, les flavonoïdes peuvent inhiber l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (LDL), empêchant l'apparition d'athérosclérose.

(**Muanda Nsemi, 2010 ; Minatel et al., 2017 ; Belščak-Cvitanović et al., 2018**).

### **I.6.2. L'activité antimicrobienne**

L'activité antimicrobienne des polyphénols présents dans les aliments végétaux et les plantes médicinales a fait l'objet d'études approfondies visant un large éventail de microorganismes.

Parmi les polyphénols, les flavan-3-ols, les flavonols et les tanins ont reçu la plus grande attention en raison de leur large spectre et de leur activité antimicrobienne plus élevée que d'autres polyphénols, et du fait que la plupart d'entre eux sont capables de supprimer un certain nombre de facteurs de virulence microbiens (comme l'inhibition de la formation de biofilm, la réduction de l'adhésion des ligands hôtes, et la neutralisation des toxines bactériennes) et montrent une synergie avec les antibiotiques. Les propriétés antimicrobiennes de certaines classes des polyphénols ont été proposées soit pour développer de nouveaux conservateurs alimentaires, en raison de la pression croissante des consommateurs sur l'industrie alimentaire pour éviter les conservateurs synthétiques, ou de développer des thérapies innovantes pour le traitement de diverses infections microbiennes, compte tenu de l'augmentation de la résistance microbienne aux antibiotiques classiques. (Daglia, 2012).

### **I.6.3. Effet cardio-protecteur**

L'athérosclérose est une maladie inflammatoire chronique qui se développe dans les régions sujettes aux lésions des artères de taille moyenne. Les polyphénols sont de puissants inhibiteurs de l'oxydation du LDL et ce type d'oxydation est considéré comme un mécanisme clé dans le développement de l'athérosclérose. D'autres mécanismes par lesquels les polyphénols peuvent être protecteurs contre les maladies cardiovasculaires sont antioxydants, antiplaquettaires, anti-inflammatoires ainsi que l'augmentation de la HDL, et l'amélioration de la fonction endothéliale. Les polyphénols peuvent également contribuer à la stabilisation de la plaque d'athérome (Bhooshan Pandey et Rizvi., 2009).

### **I.6.4. L'activité anti-inflammatoire**

L'inflammation est la réponse immunitaire de l'organisme à une agression par des agents pro-inflammatoires d'origine virale, bactérienne ou autre (par exemple, les lipoprotéines oxydées, marqueurs du stress oxydant). L'inflammation est précisément régulée afin de limiter les altérations des biomolécules de l'hôte. Cependant, une régulation inappropriée de ce phénomène peut conduire à un état inflammatoire chronique et la plupart des pathologies chroniques, citées précédemment, possèdent une composante inflammatoire. Les différentes études menées sur les effets protecteurs des polyphénols dans ces contextes pathologiques ont montré que ceux-ci diminuaient les marqueurs de l'inflammation et agissaient sur de nombreuses cibles moléculaires au centre des voies de signalisation de l'inflammation. Des études *in vitro* et *in vivo* ont permis de montrer que les polyphénols pouvaient agir sur les activités enzymatiques du métabolisme de l'acide arachidonique (AA)μ phospholipase A2, cyclooxygénase et lipoxygénase. Des travaux menés *in vitro* ont également montré que des flavonoïdes comme la lutéoline ou l'apigénine

inhibaient la production de cytokines telles que IL-4, IL-5 et IL-13, que la quercétine inhibait la production de TNF- $\alpha$  par des macrophages stimulés au lipopolysaccharide (LPS), que le kaempférol inhibait l'expression et la sécrétion du TNF- $\alpha$ , de l'IL-1 $\beta$  ou de l'IL-6 dans les mastocytes. De plus, il est maintenant connu que les polyphénols exercent leur activité anti-inflammatoire en agissant in vitro et in vivo sur l'activation du facteur de transcription NF- $\kappa$ B (Achat, 2013).

#### I.6.5. Chélateurs de métaux

Il a été constaté que les flavonoïdes peuvent chélater les métaux, et le succès de ce processus dépend du nombre de groupes hydroxyles et du pH du milieu. Le site de liaison proposé pour les ions métalliques traces aux flavonoïdes est la partie 3,4 -diOH dans l'anneau B. En outre, les groupes C-3 et C-5 OH et le groupe 4-carbonyl contribuent également à la chélation des ions métalliques. La majorité des flavonoïdes ont une capacité de réduction plus élevée pour les ions de cuivre que pour en fer. Cet effet peut s'expliquer par les potentiels de réduction standard du cuivre et du fer ; le potentiel de couple Cu<sup>2+</sup>/Cu (0,15V) est bien inférieur à celui du couple Fe<sup>3+</sup>/Fe (+0,77V). La chélation du fer par les polyphénols protège les microsomes de rat de la peroxydation lipidique en bloquant la réaction de Fenton, mais on a également constaté que la chélation du fer ne joue pas un rôle important dans la prévention de la peroxydation lipidique microsomale. La chélation du fer par les polyphénols est plus liée à l'antioxydant que la nature prooxydante des polyphénols (Belščak-Cvitanović *et al.*, 2018).

#### I.6.6. Application cosmétique de polyphénols

Les effets bénéfiques des polyphénols en tant qu'ingrédients fonctionnels ont attiré l'attention considérable de l'industrie pharmaceutique et cosmétique au cours des dernières années. En conséquence, de nombreux produits de soins de la peau ou soi-disant cosméceutiques ont été développés à base d'extraits végétaux enrichis de polyphénol. Pour exercer leurs activités biologiques désignées, les substances appliquées localement doivent pouvoir être libérées de la formulation, atteindre la peau et, enfin, franchir la barrière Stratum Corneum et pénétrer dans l'épiderme et le derme. La libération de substances actives et la perméation cutanée dépendent des propriétés de la molécule, telles que le poids moléculaire et la lipophilie, mais aussi de la formulation du véhicule. Les formulations doivent être chimiquement, physiquement et microbiologiquement stables pour assurer la stabilité et la productibilité des substances actives aux couches cutanées cibles. (Zillich *et al.*, 2015).

# Chapitre II

## Stress oxydatif

## Chapitre II. Stress oxydatif

### II.1. Définition de stress oxydatif

Le stress oxydatif est défini comme une augmentation de la génération de radicaux libres cellulaires à des niveaux d'antioxydants cellulaires (**Pizzino et al., 2017**) et se caractérise par un déséquilibre important entre les précurseurs et les antioxydants qui provoque des dommages cellulaires irréversibles.

Il s'agit d'une attaque biochimique de notre corps causée par une surabondance de molécules particulièrement nocives appelées radicaux libres, qui sont produites par l'oxygène (O<sub>2</sub>) que nous respirons pour survivre. Nos protéines, lipides, glucides, membranes cellulaires, cellules et même notre ADN sont tous dénaturés par oxydation. Nous vieillissons à cause de l'oxydation. (**Brack, 2010**).

Un état de stress oxydant existe lorsqu'au moins une des trois conditions suivantes est satisfaite :

- Excès des espèces réactives d'O<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> ou Cl<sub>2</sub> ...
- Défenses insuffisantes (endogènes et exogènes).
- Mécanismes de réparation insuffisants

### II.2. Origine du stress oxydatif

Une surproduction endogène d'agents pro-oxydants d'origine inflammatoire, une carence nutritionnelle en antioxydants ou encore une exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants (tabac, alcool, stupéfiants, métaux toxiques, amiante, pesticides, rayonnement UV, ozone...ect) (**Magder, 2006**).

Ces variables diminuent nos défenses antioxydantes ou provoquent une surproduction d'espèces réactives de l'oxygène (ROS). L'accumulation des espèces réactives de l'oxygène provoquent l'apparition de lésions souvent irréversibles des cellules et des tissus, parmi lesquelles les cibles biologiques les plus vulnérables sont les protéines, les lipides et l'acide désoxyribonucléique (**Smirnoff, 2005**).

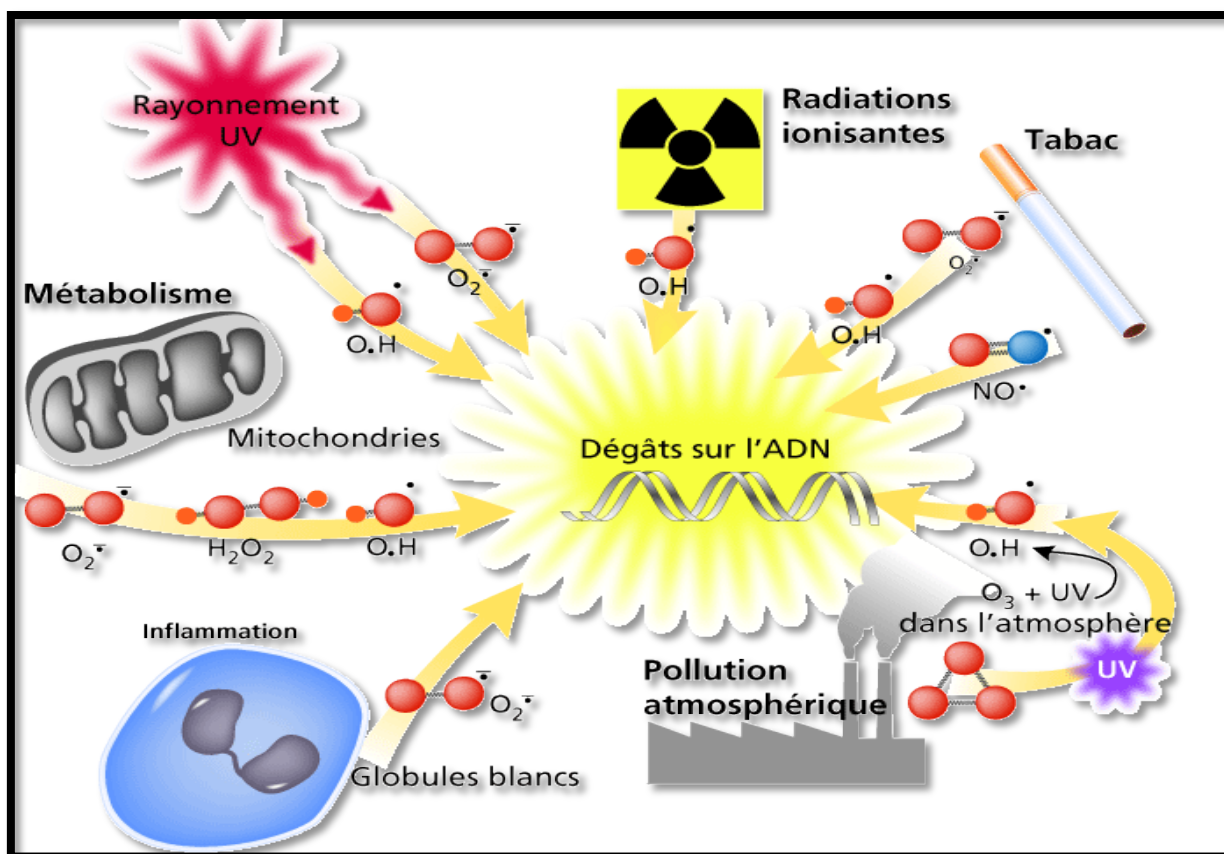


Figure 2. Les origines du stress oxydant (Durackova, 2008).

## II.3. Radicaux libres

### II.3.1. Définition de radical libre

Un radical libre est une substance chimique (atome ou molécule) qui n'a pas de double électron dans l'orbite externe, ce qui la rend trop instable, pour atteindre la stabilité. Elle se corrige en acceptant un autre électron ou en transférant cet électron libre à une autre particule, tout ce qui se transforme en radical libre.

## II.4. Espèces réactives et stress oxydatif

Les radicaux libres contiennent un ou plusieurs électrons non appariés dans la coque la plus externe de leurs atomes, ce qui les rend étonnamment réactifs et plus instables. Ils se forment naturellement dans notre corps en tant que sous-produits au cours de processus biologiques ou à partir de sources exogènes et peuvent potentiellement endommager les cellules. (Shrivastava *et al.*, 2019). Les radicaux libres sont liés aux espèces réactives de l'oxygène (ROS), aux espèces réactives de l'azote (RNS), aux espèces réactives du soufre (RSS), aux espèces réactives du carbonyle (RCS) et aux espèces réactives du sélénium (RSeS) (Sies *et al.*, 2017). Ces espèces réactives se forment en permanence à partir de sources endogènes et exogènes dans notre corps. Les sources endogènes comprennent les organites intracellulaires, comme les peroxysomes, les

mitochondries et les composants extracellulaires comme les cellules inflammatoires (macrophages, éosinophiles et neutrophiles). D'autre part, les sources exogènes comprennent les rayonnements ionisants élevés, les toxines environnementales (pollution, allergènes, métaux toxiques comme le cadmium, le plomb, le mercure, le fer, l'arsenic et les pesticides, les micro-organismes, certains médicaments, la fumée de cigarette, l'alcool et les xénobiotiques alimentaires (**Pizzino et al., 2017**).

Parmi ces espèces réactives, les ROS sont largement étudiées. Les ERO sont générées dans le cytosol par des composants cellulaires solubles et des enzymes cytosoliques, sur les membranes des mitochondries, dans les peroxysomes, dans le réticulum endoplasmique, sur la membrane plasmique des cellules dysfonctionnelles et dans les lysosomes (**Di Meo et al., 2016**). Cependant, ROS est de deux classes; un type est constitué de radicaux avec un électron non apparié dans leur enveloppe la plus externe (anion superoxyde, oxyde nitrique, radicaux hydroperoxyde et peroxyde et radical hydroxyle); une autre classe comprend les ROS non radicaux, et ces ROS sont sans électron non apparié mais ont toujours la réactivité chimique, même peuvent être changés en ROS radicaux, par exemple, l'oxygène singulet, l'ozone, le peroxyde d'hydrogène et l'acide hypochloreux (**Chahal et al., 2018**). Dans la signalisation cellulaire, les ROS peuvent servir de messagers secondaires, jouant un rôle essentiel dans une gamme de processus cellulaires en stimulant différentes voies de transduction du signal qui impliquent l'activation des gènes ou la croissance cellulaire (**Klaunig et Wang, 2018**).

Les ROS réagissant avec l'oxyde nitrique donnent naissance à des RNS et RSS, avec des thiols (**Corpas et Barroso, 2015 ; Mut-Salud et al., 2015 ; Sies et al., 2017**). Les RNS, oxydants contenant de l'azote, sont constitués d'oxyde nitrique ( $\text{NO}\bullet$ ) et de radical dioxyde d'azote ( $\text{NO}_2\bullet$ ), de peroxydinitrite ( $\text{HNO}_2^{\bullet}$ ), ainsi que d'autres oxydes d'azote. De même, les espèces soufrées réactives (RSS) sont des molécules contenant du soufre, qui comprennent le sulfure d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{S}$ ), les thiols (RSH), les persulfures (RSSH), les polysulfures, les S-nitrosothiols (RSNO), les polysulfures d'hydrogène et les acides sulféniques (RSOH), qui ont des rôles essentiels dans la régulation des systèmes cellulaires (**Xu et al., 2019**).

En tant que notion en biologie redox, le terme de stress oxydatif a été mentionné pour la première fois dans le livre intitulé "Stress Oxydatif" en 1985. Le stress oxydatif (OS) survient lorsqu'il existe une disproportion entre la génération et la détoxification du RS par le système biologique. dans les cellules (**Di Meo et al., 2016**). Selon Helmut Sie, le stress oxydatif est "un déséquilibre entre les oxydants et les antioxydants en faveur des oxydants, entraînant une perturbation de la signalisation et du contrôle redox et/ou des dommages moléculaires". Le stress oxydatif peut exercer des actions bilatérales, classées selon leur intensité, en stress oxydatif et en

détresse oxydative. Une faible exposition à des espèces oxydantes ou réactives permet d'atteindre des cibles particulières pour la signalisation redox, essentielle au maintien d'une physiologie normale, appelée stress oxydatif. Le niveau basal de l'OS augmente le système de défense grâce à l'expression de composés antioxydants et de protéines, ce qui a des effets bénéfiques sur la santé. Au contraire, un oxydant excessif ou un défi RS entraîne une perturbation de la signalisation redox, provoquant des effets délétères, comme des dommages macromoléculaires dans les organites intracellulaires, l'inactivation des enzymes régulatrices redox ou une prolifération et une mort cellulaires anormales, appelées détresse oxydative (Niki, 2016 ; Go and Jones, 2017 ; Sies, 2020) (Figure 2). Il existe différents types de stress oxydatif qui dépendent principalement de la source de génération, tels que le stress oxydatif nutritionnel, postprandial, photooxydant, radio-induit, réducteur et nitroxydatif, nitrosatif, nitratif (Sies, 2019 ).

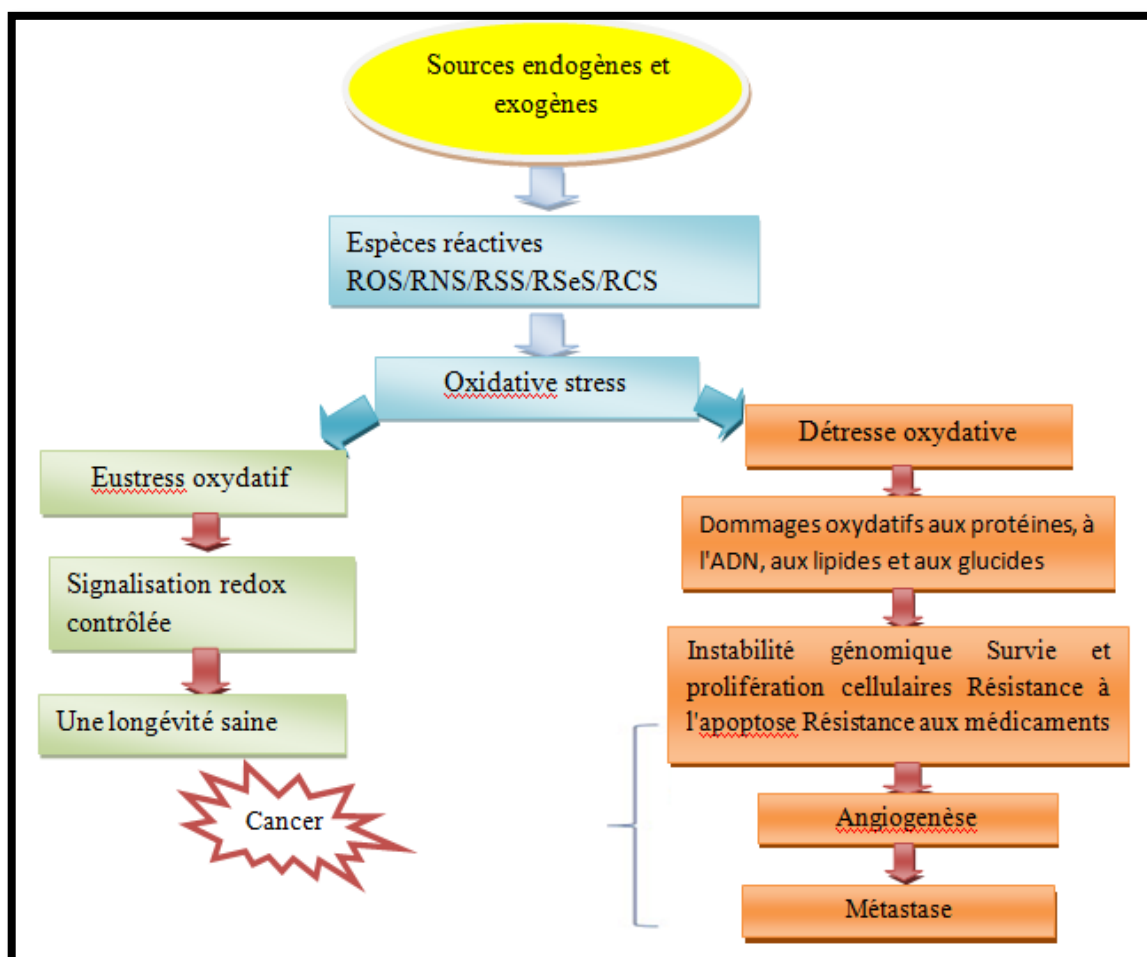
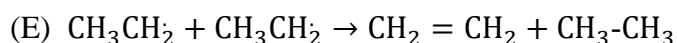
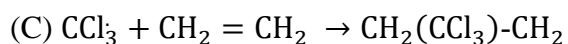
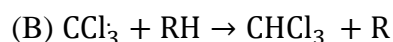
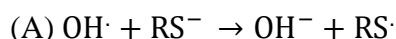


Figure 3. Le stress oxydatif et sa relation avec le cancer (Sies, 2019).

## II.5. Mécanismes de réaction

Les radicaux libres réagissent avec les molécules environnantes par diverses méthodes, notamment le don d'électrons, la réduction de radicaux et l'acceptation d'électrons, l'oxydation radicalaire (A), l'abstraction d'hydrogène (B), l'addition (C), l'auto-élimination (D) et la disproportion (E) (**Carocho et Ferreira, 2013**).



## II.6. Les antioxydants

Les antioxydants sont des composés capables de réduire efficacement l'oxydation et de retarder la peroxydation des lipides tout en n'ayant aucun effet sur les propriétés sensorielles et nutritionnelles des aliments. Ils permettent de maintenir la qualité du produit tout en prolongeant sa durée de conservation (**Miguel, 2010**).

Bien que les réactions d'oxydation soient cruciales pour la vie, elles peuvent aussi être dommageables. Les plantes et les animaux ont un système complexe de plusieurs types d'antioxydants, tels que la vitamine C et la vitamine E, ainsi que des enzymes, telles que la catalase (CAT), la superoxyde dismutase (SOD) et diverses peroxydases (**Hamid et al. 2010**). Le stress oxydatif joue un rôle clé dans l'apparition de diverses maladies humaines, telles que la nécrose cellulaire, les maladies cardiovasculaires, le cancer, les troubles neurologiques, la démence de Parkinson, la maladie d'Alzheimer, les maladies inflammatoires, la dystrophie musculaire, les troubles hépatiques et même le vieillissement (**Kunwar et Priyadarsini, 2011**). En outre, il existe certains antioxydants sous forme de micronutriments qui ne peuvent pas être fabriqués par le corps lui-même, tels que la vitamine E, le  $\beta$ -carotène et la vitamine C, et par conséquent ceux-ci doivent être complétés dans l'alimentation normale (**Teresa et al. 2011**).

### II.6.1. Classification des antioxydants

Selon leur mode d'action, les antioxydants (enzymatiques ou non enzymatiques) sont classés comme primaires (donneurs d'hydrogène ou d'électrons) ou secondaires (capteurs d'oxygène ou agents chélateurs) (**Rahal, 2014**). Les antioxydants peuvent également être classés selon leur taille, leur solubilité ou leur composition.

### II.6.2. Mécanisme enzymatique

Les antioxydants enzymatiques abondants dans les microalgues sont la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), l'ascorbate peroxydase (APX), la glutathion peroxydase (GPX), la glutathion réductase (GR) et la glutathion transférase (GST).

- Superoxyde dismutase (SOD):  $2O_2^- + 2H^+ \rightarrow O_2 + H_2O_2$
- Catalase:  $2 H_2O_2 \rightarrow O_2 + 2 H_2O$
- Glutathion peroxydase :  $2 GSH + H_2O_2 \rightarrow GS-SG + 2 H_2O$

### II.6.3. Mécanisme non enzymatique

Les antioxydants non enzymatiques sont constitués de composés tels que la vitamine C (ascorbate), le glutathion, les caroténoïdes, les composés phénoliques, la proline, la glycine, les polyamines, les AGPI et certains minéraux (cuivre, huiles grasses) (Mtaki, 2020). La plupart des antioxydants enzymatiques et certains antioxydants non enzymatiques (glutathion, ascorbate) sont hydrophiles et se trouvent principalement dans les fluides cellulaires (cytosol ou matrice cytoplasmique), tandis que les antioxydants caroténoïdes (caroténoïdes, tocophérols) sont principalement présents dans les membranes cellulaires (Nimse,2015).

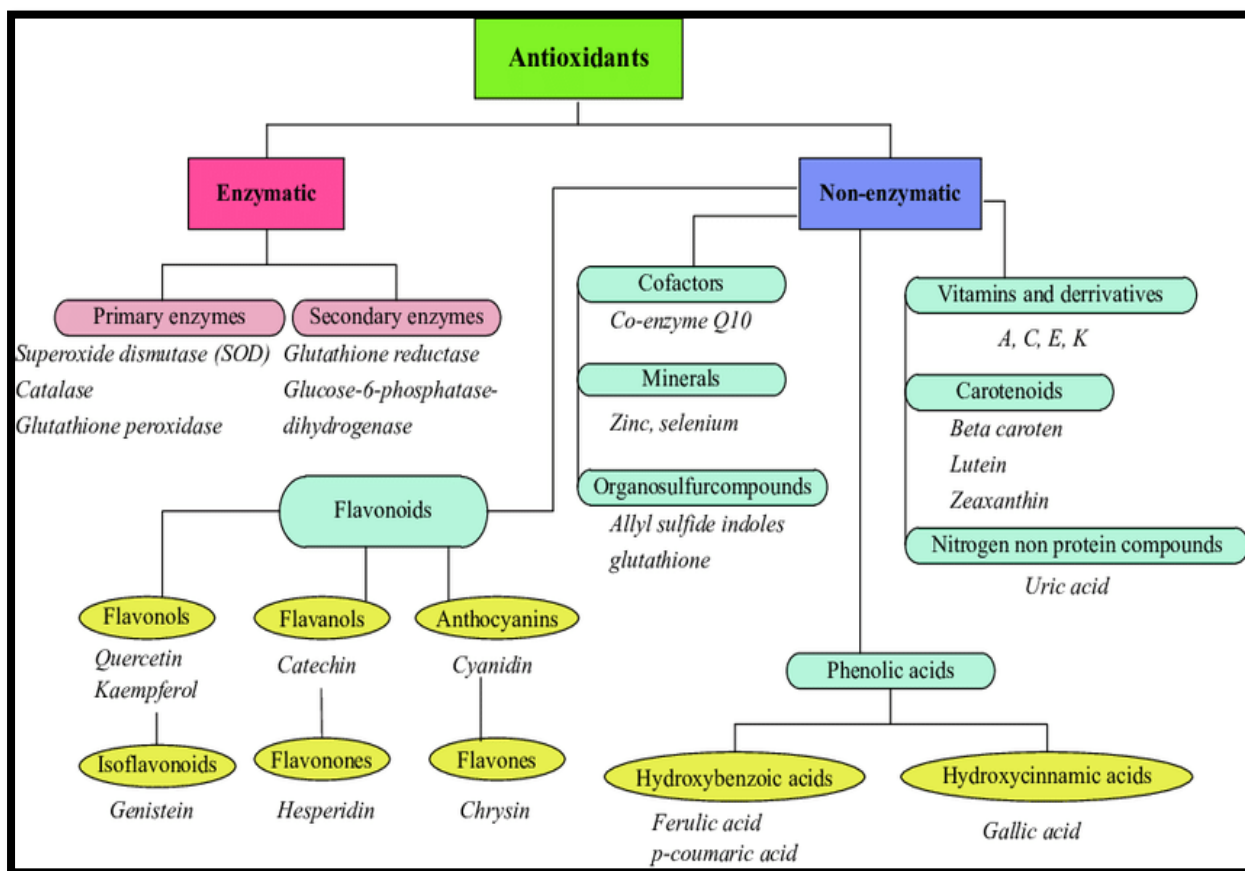


Figure 4. Classification des antioxydants (Hunaef, 2013).

## II.7. Système de défense antioxydant dans la cellule

Les antioxydants protègent les cellules grâce à trois lignes de défense. La première ligne de défense comprend des antioxydants empêchant la formation de nouveaux radicaux libres. Antioxydants enzymatiques tels que SOD, CAT, GPx et glutathion réduit ; protéines liant les métaux (ferritine et céruloplasmine) et minéraux antioxydants tels que le sélénium, le cuivre et le zinc. La deuxième ligne comprend des antioxydants, qui sont impliqués dans le piégeage des radicaux libres, et donc dans la prévention de la SG. Les antioxydants endogènes et exogènes tels que le glutathion, l'albumine, la CoQ, les flavonoïdes, les caroténoïdes, l'acide urique et les vitamines (A, C et E) sont impliqués dans ce groupe. Enfin, différents antioxydants enzymatiques sont les principaux acteurs de la troisième ligne de défense, qui réparent l'ADN endommagé, les protéines intracellulaires et d'autres biomolécules. Par exemple, les enzymes de réparation de l'ADN, les protéases, la peptidase, les lipases, les transférases, etc (**Mut-Salud et al., 2015**).

# Chapitre III

*Genista quadriflora*

## Chapitre III. *Genista quadriflora*

### III.1. Généralité

Le genre *Genista* a été décrit pour la première fois par LINNE en 1753, il appartient à la famille des légumineuses (fabales), sous-famille des papilionacées (fabacées) et à la tribu des génistées. Parmi les 700 genres de la famille des fabacées, on trouve en Algérie environ 53 genres et 337 espèces. Le genre *Genista* comporte 23 espèces dont 11 sont endémiques à l'Algérie. *Genista quadriflora* Munby, communément appelée Chdida, est une plante endémique de la région nord-ouest de l'Afrique. Ce genre montre une richesse en composés phénoliques, notamment les iso flavonoïdes connus pour leur activité biologique diverse, qui est considéré comme que matériel intéressant qui mérite d'être exploré afin de mettre en lumière tous ses avantages et ses potentialités. Il se distingue également par ses effectifs élevés d'espèces, sous espèces et des variétés endémiques et rares (Boukaabache., 2015).

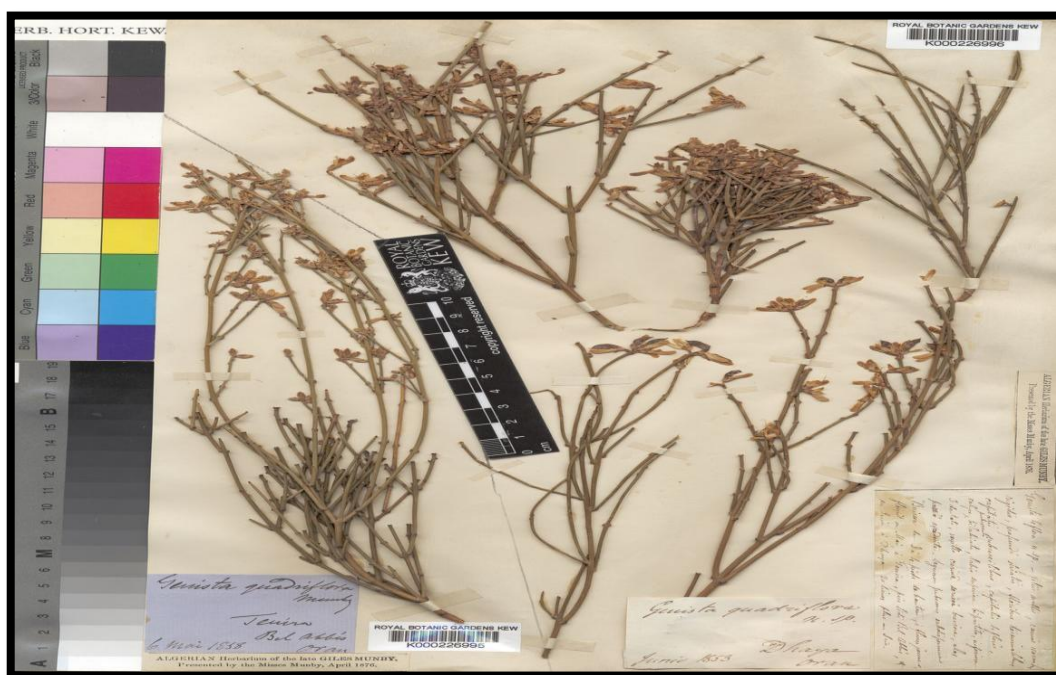


Figure 5. *Genista quadriflora* ( Muséum national d'Histoire naturelle,2007).

### III.2. Nomenclature

Nom scientifique : *Genista quadriflora*

- Synonymes : *Genista moleroi* (Talavera et Gibbs,1996)
- Nom vernaculaire : genêt à 4 fleurs (Français). echouk, elouki – jenista, Chdida (Rhattas et al., 2016 ; Kacem et al., 2014).

### III.3. Habitat (distribution géographique)

Il est constitué d'arbustes épineux et non épineux, dont la plupart de ces espèces (87 espèces) forment des maquis sclérophylles ou des matorrals (Martins et al., 2005). Il est largement distribué dans le bassin méditerranéen (circumméditerranéen) en Europe et en Afrique du nord (Libye, Tunisie, Algérie et Maroc). En Algérie, est une espèce rare, localisé dans la région Est et Sud . Le genre est également très répandu à l'ouest de la Russie, en Turquie, en Syrie et au Caucase. Les espèces du genre ont une grande plasticité écologique, elles sont présentes dans des territoires soumis à des conditions bioclimatiques très différentes, depuis les zones semi-arides jusqu'aux zones très humides ( perdro et al., 2004 ;Kacim., 2015).

### III.4. Systématique botanique

Selon L'APG III (2009) et Dobignard et Chatelain (2010-2013), la position systématique du *Genista quadriflora* est la suivante :

- Règne : **Plantae**
- Embranchement : **Spermaphytes**
- Sous-embranchement : **Angiospermae**
- Classe : **Eudicotyledonae**
- Ordre : **Fabidées**
- Sous-ordre : **Fabales**
- Famille : **Légumineuses (Fabacées)**
- Sous-famille : **Papilionacées**
- Genre : **Genista**
- Espèce : ***Exista quadriflora***

### III.5. Description botanique

Le genre *Genista* est un genre botanique de plantes fleuries vivaces, arbuste de 0,2 et 1,75 m de haut. Les feuilles sont réduites à de simples écailles, tripartites rondes ou ovales et petites (pas plus que 2 mm). Les fleurs sont jaunes, longues de 12\_13 mm, formant habituellement des grappes aux extrémités des tiges. Les gousses (12\_15 mm) contiennent des graines lenticulaires brunes, lisses (de 2 \_1,8 mm). Leur racine pivotante les ancre profondément dans le sol et les pourvoit de nutriments essentiels, leurs tiges minces et parfois épineuses sont des verges carrées vert sombre et atteignent en général une hauteur entre 50 cm et 2 m au bout de 5 à 10 ans. Il en existe cependant des espèces beaucoup plus petites et beaucoup plus grandes. Les genêts perdent leur feuillage assez tôt dans l'année, en général au cours de l'été (**Kacim et al, 2014**).



**Figure 6.**Description botanique de *Genista quadriflora* (**Homrani Bakali, 2020**).

### III.6. Usages traditionnels

*Genista quadriflora* est une espèce endémique, a des propriétés thérapeutiques, souvent utilisée à des fins alimentaires ou médicinales. Bien qu'il soit rare en Algérie et en raison d'un manque d'études, mais il a été utilisé dans la médecine traditionnelle pour traiter de nombreuses maladies.

Les feuilles et les racines (parties aérienne) sont utilisés en décoction comme protective d'ulcère, anti-diabétique, ostrogénique, antiproliférative, antimicrobiennes, antifongiques et comme un anti-inflammatoire. La plante et ses extraits sont également populaires dans le traitement des problèmes de la peau, et pour leur effet hépatoprotecteur (**Boubekri., 2014 ; Baali et al., 2015 ; Kacem., 2015 ; Miara et al., 2018**). Aussi au Maroc, ils sont couramment utilisés dans les cosmétiques et introduits dans le "kohl" (maquillage minéral et végétal) **Rhattas et al (2016)**.

PARTIE

EXPERIMENTALE

Chapitre IV

MATERIEL ET METHODES

## Chapitre IV. Matériels et méthodes

### IV.1. Matière végétale

La plante *Genista quadriflora* été récolté dans la région de Hammam Dhalaa est une commune de la wilaya de M'Sila en Algérie, durant l'année 2020, et été identifiée par Dr.Rebbas Khellaf. Après la récolte, l'échantillon a été séché à température ambiante dans un endroit aéré, à l'abri de la lumière, pour mieux conserver les molécules sensibles à la chaleur.

### IV.2. Réactifs

Les réactifs chimiques utilisés dans cette étude sont : Le méthanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ), Quercétine, Chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ), carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), Folin-Ciocalteu, Acide gallique, Acide trichloracétique (TCA), Ferricyanide de potassium ( $\text{K}_3\text{FeCN}_6$ ), Chlorure ferreux ( $\text{FeCl}_3$ ), 2, 2 diphényl-1-picryl hydrazyl (DPPH).

### IV.3. Matériels

Boîtes pétries en verre, Etuve, Bécher, Erlenmeyer, Eppendorf, Tube à essai, Balance précise, Rotavapeur, Entonnoir, Papier filtre, Papier aluminium, Spectrophotomètre, Micropipette, Bain marie, Vortex, Centrifugeuse.

### IV.4. Extraction

L'extrait méthanolique de la plante a été obtenu par macération. 50 g de plante est trempé dans 500 ml de méthanol à 80%, après recouvert l'erenmeyer avec le papier aluminium, laisser pendant 24h, Ensuite filtrer la solution sur un papier filtre Wattman. Le filtrat est évaporé à l'aide d'un Rotavapeur qui permet a éliminé le solvant sous vide, le produit est récupéré sur le ballon d'évaporation, puis met dans des boîtes pétries. Le filtrat est séché par étuve à 40°C pendant 24h pour obtenir une poudre, et été stockés à température ambiante jusqu'à utilisation (Benslama *et al.*, 2017).

Le rendement d'extrait a été calculé par:

$$R (\%) = M / M_0 \times 100$$

R (%) : Rendement exprimé en %.

M : Masse en gramme de l'extrait sec résultant.

M<sub>0</sub> : Masse en gramme de matériel végétale à traiter.

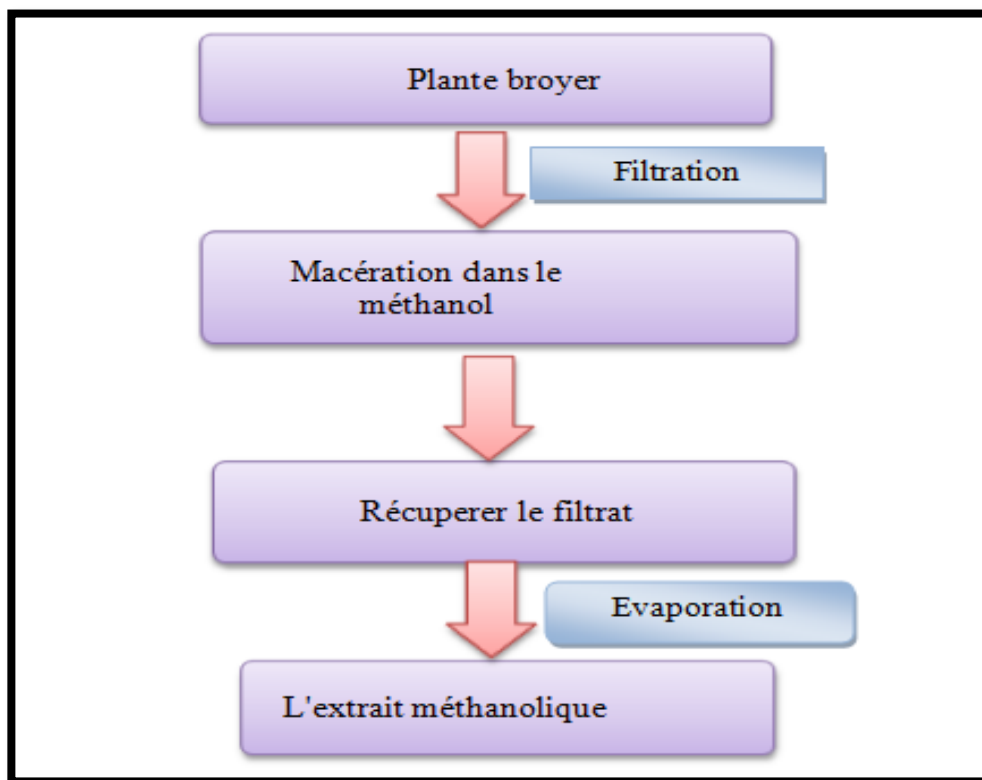


Figure 7. Protocole d'extraction méthanolique (Benslama *et al.*, 2016).

#### IV.4.1. Dosage de polyphénols

Le dosage de polyphénols totaux dans notre extrait a été effectué par la méthode de Folin-Ciocalteu suivant le protocole décrit par Li *et al.* (2007).

L'ensemble des composés phénoliques est oxydé par le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dernier est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique qui est réduit, lors de l'oxydation des substances phénoliques, en mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration bleue produite possède une absorption maximum aux environs de 750-760 nm. Elle est proportionnelle à la quantité de composés phénoliques oxydés présents dans les extraits végétaux (Boizot et Charpentier, 2006).

Mélanger 0.1 ml d'extrait (400 g/ml) avec 0.5 ml Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois dans l'eau distillée). Après 4 min 0.4 ml d'une solution de carbonate de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (7.5%) a été ajouté au milieu réactionnel. Après 2h de l'incubation à la température ambiante l'absorbance doit mesurer dans 760 nm. La même procédure a été répétée avec le standard acide gallique à différentes concentrations (20-160 g/ml).

#### IV.4.2. Dosage des flavonoïdes

La teneur de flavonoïdes totaux contenus dans notre extrait a été réalisée par méthode (Benslama et Harrar, 2016). De 0.5 ml d'extrait (1 mg/ml) ou Quercitrine a été mélangée avec 0.5 ml  $\text{AlCl}_3$  (2%). Après incubation à température ambiante pendant 10 min, l'absorbance est

lue à 430 nm. Utiliser Quercitrine a différentes concentrations (2-40 g/ml) comme standard dans les mêmes conditions que l'extrait. Les résultats sont exprimés en mg équivalent de Quercétine EQ/mg d'extrait.

## IV.5. Étude de l'activité antioxydante

### IV.5.1. Test de piégeage du radical DPPH

Le test au 2,2-diphényl-2-picryl-hydrazyl (DPPH.) est réalisé selon la méthode publiée par (Ammar *et al.*, 2009), qui permet de mesurer le pouvoir réducteur en calculant l'IC50 de l'antioxydant composés présents dans un extrait. Lorsqu'il est réduit par un donneur de protons H<sup>+</sup>, le DPPH est un radical libre violet qui vire au jaune.



Où AH est une substance qui peut donner un H<sup>+</sup> au radical DPPH

Dissolvant 3.9 mg du DPPH dans 100 ml du méthanol, puis un volume de 50 µl d'extrait (0.75, 0.5, 1, 2, 4, 5, 10 µg/ml) est additionné à 1250 µl d'une solution de DPPH. Le mélange réactionnel est agité par vortex pendant un minute puis incubé à l'obscurité pendant 30 minutes, puis La lecture est réalisée a longueur d'onde de 517 nm. L'activité anti radicalaire est estimée selon l'équation suivante:

$$\% \text{ scavenger de radical DPPH} = (\text{Ab}_T - \text{Ab}_E / \text{Ab}_T) \times 100$$

**AbT** : absorbance de témoin

**AbE** : absorbance de l'échantillon

### Calcul de la concentration efficace CI50

C'est la concentration nécessaire de l'échantillon pour réduire 50% de radical libre DPPH. Les CI50 sont déterminées graphiquement par la régression linéaire du graphe tracé (pourcentages d'inhibition en fonction des différentes concentrations de l'échantillon).

### IV.5.2. Pouvoir réducteur (FRAP)

Le pouvoir réducteur d'extrait est mesuré par la réduction directe de Fe<sup>3+</sup> (CN<sup>-</sup>)<sub>6</sub> en une forme ferreuse Fe<sup>2+</sup> (CN<sup>-</sup>)<sub>6</sub> qui est déterminée par la détection spectrophotométrique du complexe (Fe<sup>3+</sup>)<sub>4</sub>[Fe<sup>2+</sup>(CN<sup>-</sup>)<sub>6</sub>]<sub>3</sub> ayant une forte absorption à 700 nm. La couleur jaune du milieu réactionnel change en vert dont l'intensité est en fonction du pouvoir réducteur de l'échantillon étudié.

La capacité des extraits à réduire les ions ferrie (Fe) a été évaluée par la méthode consistant à mélanger 800 µl d'extrait avec 400 µl de tampon phosphate (0,2 M, pH = 6,6) et 800 µl de ferricyanure de potassium à 1 % [K Fe(CN )], puis le mélange a été incubé à 50 °C pendant 20 min. Environ 800 µl (10%) d'acide trichloroacétique (TCA) ont été ajoutés au mélange et centrifugés pendant 10 min (3000 tr/t). Enfin, 400 µl de la solution surnageante ont été mélangés avec 400 µl d'eau distillée et 80 µl de FeCl. (0,1 %) et l'absorbance a été enregistrée à 700 nm. L'absorbance accrue du mélange réactionnel indique un pouvoir réducteur accru.

Chapitre V

RESULTATS ET  
DISCUSSION

## Chapitre V. Résultats et discussion

### V.1. Rendements d'extraction

L'extraction de la plante *Genista quadriflora* permet de récupérer un extrait sous forme poudre. L'opération de l'extraction par macération de la partie aérienne (tiges et feuilles) de *G. quadriflora* dans le méthanol a permis d'obtenir un résidu sec d'extrait brute avec un rendement de 12,02 % (m/m), qui a été déterminé par rapport à 100 g de matière végétale sèche selon la formule suivante :

$$R (\%) = M / M_0 \times 100$$

R (%) : Rendement exprimé en %.

M : Masse en gramme de l'extrait sec récupéré.

M<sub>0</sub> : Masse en gramme du matériel végétal initial.

Les résultats sont représentés dans le **Tableau 1**.

**Tableau 1.** Analyses quantitatives de l'extrait de *Genista quadriflora*.

	Rendement (%)	Polyphénol (µg EAG/mg E)	Flavonoïde (µg EQ/mg E)
<b>E. Meth</b>	12.02%	198,16±0.42	20.23±0.51

L'utilisation de plantes sous forme de poudre rend l'extraction plus efficace, car l'échantillon devient plus homogène, la surface de contact avec le solvant devient plus grande, la pénétration à l'intérieur des cellules est plus facile. (Khoddami *et al*, 2013).

Selon Lrhorfi *et al.* (2016), la solubilité des composés phénoliques augmente avec la croissance de la polarité des solvants; Ce qui justifie l'efficacité significativement plus élevée de l'extraction de méthanol.

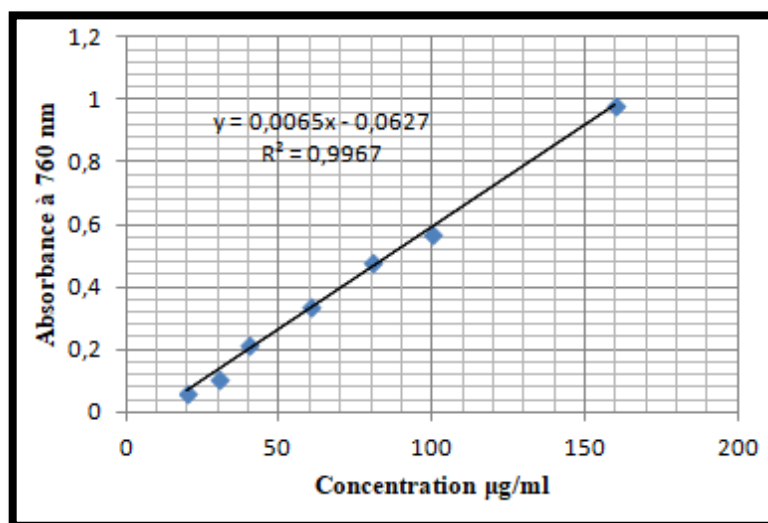
Ces rendements donnent des montres que les composés phénoliques totaux plus élevés lorsque nous avons choisi le solvant organique (méthanol). Ces solvant deviennent idéaux et sélectifs pour extraire un grand nombre de composés bioactifs dont des composés phénoliques, vue la capacité du méthanol d'augmenter la perméabilité des parois cellulaires et de faciliter l'extraction d'un grand nombre de composés hautement polaires ainsi que des composés de moyenne et de faible polarité (Seidel, 2006 ; Mohammedi et Atik, 2011).

## V.2. Dosage de polyphénol et flavonoïde

### V.2.1. Teneur en polyphénols totaux

Le dosage de la teneur totale en polyphénols contenus dans l'extrait a été effectué en utilisant la méthode du réactif Folin-Ciocalteu. L'extrait préparé a été analysé quantitativement à l'aide du spectrophotomètre UV visible.

La courbe présente une linéarité de l'absorption par rapport aux différentes concentrations. La quantité des polyphénols correspondants dans l'extrait ont été rapportées en équivalent gramme d'acide gallique et déterminé par l'équation qui est montrée dans la **fig (08)**.



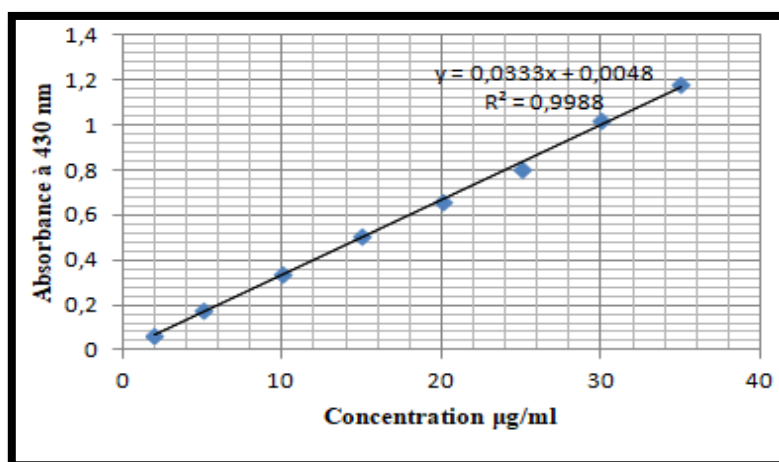
**Figure 8.** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Le teneur en polyphénols totaux de notre extrait méthanolique de *Genista quadriflora* est 198,169 mg EAG/g d'extrait.

Le résultat obtenu dans le **Tableau (01)** est nettement inférieurs au résultat trouvé par **Lrhorfi et al.,(2016)** qui est de 325 mg EAG/ g de Matière fraîche pour les deux extraits méthanolique et aqueux de la même variété de la région de Marocco .Tandis que, ils est nettement supérieure au résultat trouvé par **Bayoud et Belaidi.,(2021)** qui est 84.94 mg EAG/100g d'extrait pour l'extrait n-BuOH des parties aériennes de *Genista quadriflora* sèche ont été macérées à température ambiante par un mélange hydro alcoolique (Ethanol/Eau : 80 : 20 V/V).

### V.2.2. Teneur en flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes totaux de l'extrait a été déterminée par spectrophotométrie à l'aide d'aluminium chlorure ( $AlCl_3$ ), pour l'extrait a été rapporté en mg d'équivalent Quercitine/g de le matériel végétal sec. Le teneur en flavonoïdes de notre extrait est =20.23 qui obtenu à partir de la courbe **fig (09)**.



**Figure 9.** Courbe d'étalonnage de la Quercitine.

La même expérience a été appliquée par **Lrhorfi et al. (2016)**, avec des simples modifications (teneur en flavonoïdes totaux de l'extrait a été rapporté en mg d'équivalent catéchine/g du matériel végétal sec.). Leurs résultats obtenus est 5, 25, de l'extrait méthanolique et respectivement, légèrement inférieurs que notre résultat.

Selon les résultats obtenus dans le **Tableau (01)** et après comparaison avec les autres résultats obtenus en termes expérimentaux similaires suggèrent que le méthanol est le meilleur solvant pour extraire les composés bioactifs de *G. quadriflora*. Cela est dû à solubilité élevée des polyphénols et flavonoïdes dans le méthanol (**Lrhorfi, 2016**).

Dans le cas de nombreuses plantes médicinales, la teneur en polyphénols et flavonoïdes la plus élevée a été observée dans l'extrait méthanolique, ce qui indique que l'efficacité d'extraction favorise les solvants hautement polaires. Cela peut être attribué à des niveaux élevés de composés polaires de la plante qui sont solubles dans des solvants hautement polarisés tels que le méthanol. Cela est dû à la capacité de ce dernier à inhiber l'action du polyphénol oxydase qui provoque l'oxydation des polyphénols dans les tissus végétaux (**Yao et al., 2004; Truong et al., 2019**).

La solubilité des composés phénoliques dépend de leur nature chimique dans la plante, qui varie de composés simples à fortement polymérisés. Cette diversité structurale est responsable de la grande variabilité des propriétés physico-chimiques influençant l'extraction des polyphénols. Entre autres, la solubilité des composés phénoliques est affectée par la polarité du solvant utilisé (**Mahmoudi et al., 2013**).

Les composés phénoliques sont des constituants végétaux très importants en fait de leur capacité de récupération en raison de leurs groupes hydroxyles pouvant réagir avec les radicaux libres.

Les composés phénoliques des plantes sont connus pour être de bons antioxydants naturels **(Boubekri et al., 2014)**.

Les polyphénols et les flavonoïdes jouent un rôle capital dans l'élimination et la détoxification des radicaux libres, et possèdent un large éventail d'activités biologiques *in vitro* (antibactériennes, anti-cancérogène, anti-inflammatoire, antioxydante etc...) liées à leur caractère réducteur et à leur affinité pour les protéines et les ions métalliques. Les polyphénols présentant ainsi des propriétés antioxydantes bien établies et en lien avec l'inhibition de l'oxydation aussi bien dans le domaine alimentaire (oxydation des lipides) que physiologique (stress oxydant) **(Achat, 2013)**.

La concentration des flavonoïdes dans les extraits de la plante dépend de la polarité des solvants utilisés dans la préparation des extraits, Les flavonoïdes aussi tend à ce que des polyphénols présentent de nombreuses activités : anti oxydantes, anti-inflammatoires, inhibitrices d'enzymes, et préventives des maladies cardiovasculaires **(Ghedadba et al., 2014; Boukaabache., 2015)**.

La localisation géographique, la saison de récolte, les conditions climatiques et environnementales, la maturité de la plante ,la durée de conservation de la plante, la salinité et sécheresse pendant la croissance de la plante, et exposition solaire qui agissent sur la biosynthèse des métabolites secondaires, Tous ces facteurs peuvent affecter la quantité des composés phénoliques et des flavonoïdes des extraits de plantes **(Gheffour et al., 2015; Ghedadba et al., 2014)**.

Donc L'importance de l'activité antioxydante des extraits se concentre sur la richesse en molécules à haut potentiel antioxydant tel que les acides phénoliques et les flavonoïdes.

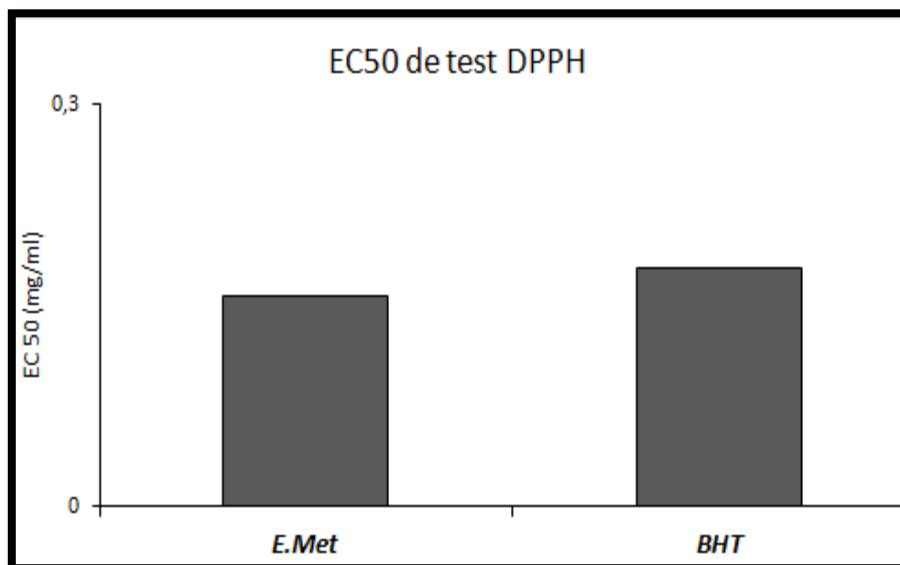
### **V.3. L'activité antioxydante et antiradicalaire**

#### **V.3.1. Test anti-radicalaire (Test DPPH)**

La capacité de l'extrait à diminuer le radical libre DPPH de teinte violet foncé, qui se transforme en une teinte jaunâtre, est à la base de ce test (après réduction). La spectrophotométrie peut détecter cette décoloration. Les valeurs EC50 ont été calculées en comparant la décoloration à l'ordre de concentration d'échantillon, qui est la quantité d'échantillon nécessaire pour réduire l'absorbance DPPH de 50 %. Plus l'activité est élevée, plus la valeur est faible **(Yaici et al., 2019)**.

A des fins comparatives, le BHT qui est un antioxydant standard, a une activité antiradicalaire importante avec une valeur d'EC50 de 0.178 mg/ml. Dans le but de chercher l'effet antioxydant

de *Genista quadriflora* nous avons testé son effet sur la réduction du radical DPPH. Les résultats sont présentés par la **Fig (10)**.



**Figure 10.**L'activité antiradicalaire de l'extrait méthanolique, de BHT.

Les résultats indiquent que l'extrait méthanolique a un effet de piégeage marqué sur les radicaux de DPPH, l'activité anti-radicalaire est présentée dans la **Fig (10)**. L'extrait étudié a une activité anti-radicalaire dépend de la concentration. En fait, l'extrait méthanolique présente un effet de piégeage de  $Ec_{50} = 5,19 \mu\text{g/mL}$  cette activité est faible par rapport de BHT ( $EC_{50} = 0,178 \mu\text{g/ml}$ ).

Le mécanisme de la réaction entre l'antioxydant et le radical DPPH est déterminé par la conformation structurale de l'antioxydant. Ce dernier réagit avec le radical DPPH en abaissant un nombre de groupements hydroxyle égal au nombre de groupements hydroxyle portés par la molécule antioxydante. Ces résultats révèlent que les extraits riches en composés antioxydants (principalement les polyphénols) ont le potentiel de libérer de l'hydrogène, réduisant et décolorant le DPPH.

Une étude de Saeed et al. (2012) sur une plante différente *Torilis leptophylla* L du Pakistan a montré des  $d'IC_{50} (41,0 \pm 1 \mu\text{g/ml})$  d'une plante entière fraîche, lorsqu'elle est extraite par du méthanol. Cette valeur est nettement beaucoup plus élevée à celle trouvée avec nos extraits.

Nous avons observé qu'il existe une relation entre la concentration en polyphénols et l'activité antioxydante, confirmant que les polyphénols ont des propriétés antioxydantes associées à une inhibition oxydative à la fois (oxydation des lipides) et physiologique (stress oxydatif). Ces

antioxydants agissent en bloquant ou en inhibant les deux Formation et prolifération de radicaux libres et résistance à l'oxydation des macromolécules (**Shah et Modi, 2015**). L'activité antioxydante dépend non seulement de la concentration en polyphénols, mais aussi de la nature et de la structure des antioxydants présents dans l'extrait. En général, les polyphénols avec un grand nombre de groupes hydroxyle présentent une grande activité antioxydante (**Fadili et al., 2015**).

Les polyphénols sont des antioxydants qui contribuent au H<sup>+</sup> des radicaux libres, les faisant s'oxyder et devenir des radicaux. La délocalisation de la résonance de l'électron dans le cycle aromatique et la création de structures quinoniques stabilisent ces radicaux (**Maqsood et al., 2014**).

### V.3.2. Test de la réduction (FRAP)

Le test FRAP est basé sur le changement de couleur lors de la réduction du fer, de l'ion fer (Fe<sup>3+</sup>) à l'ion ferreux (Fe<sup>2+</sup>) par transfert d'électrons. Cette réduction se produit en présence d'antioxydants qui doivent avoir une capacité de donneur d'électrons. Le transfert d'atome à l'hydrogène ne serait pas le mécanisme préféré. L'absorbance a été mesurée à 593 nm.

La capacité de l'extrait à réduire Fe<sup>3+</sup> en Fe<sup>2+</sup> (effet réducteur) a été déterminée selon la méthode décrite par **Bensalama et Harrar. (2016)**. La capacité réduite du composé pourrait être un indicateur important de l'activité antioxydante. Des antioxydants tels que l'acide ascorbique ont été utilisés à titre de comparaison. Les résultats ont montré dans que l'extrait de *G. quadriflora* contient des composés ayant une faible capacité à (**figure11**). Activité réductrice été exprimés en µg d'équivalent acide ascorbique/mg d'extrait. Met.E de *G. quadriflora* possède une forte puissance diminutive (218,73 ± 11,31 µg/ml). On utilise la Quercitine comme une référence (2109±6.5 µg d'acide ascorbique/mg).

On note que la capacité à réduire le fer est proportionnelle à l'augmentation de la concentration des extraits. Notre études menées sur le plante *G. quadriflora* ont montré qu'il a une activité réductrice, et cela montre la propriété de don d'électron et donc sa capacité à neutraliser les radicaux libres.

Une étude de **Bensalama et Harrar. (2016)** sur une plante différente *Zygophyllum album L* du désert algérien, qui a montré que la valeur Met.E de *l'album* avait un fort pouvoir réducteur (2399,65 ± 12,31 µg AAequ/mg E), comparée à celle de nos extraits.

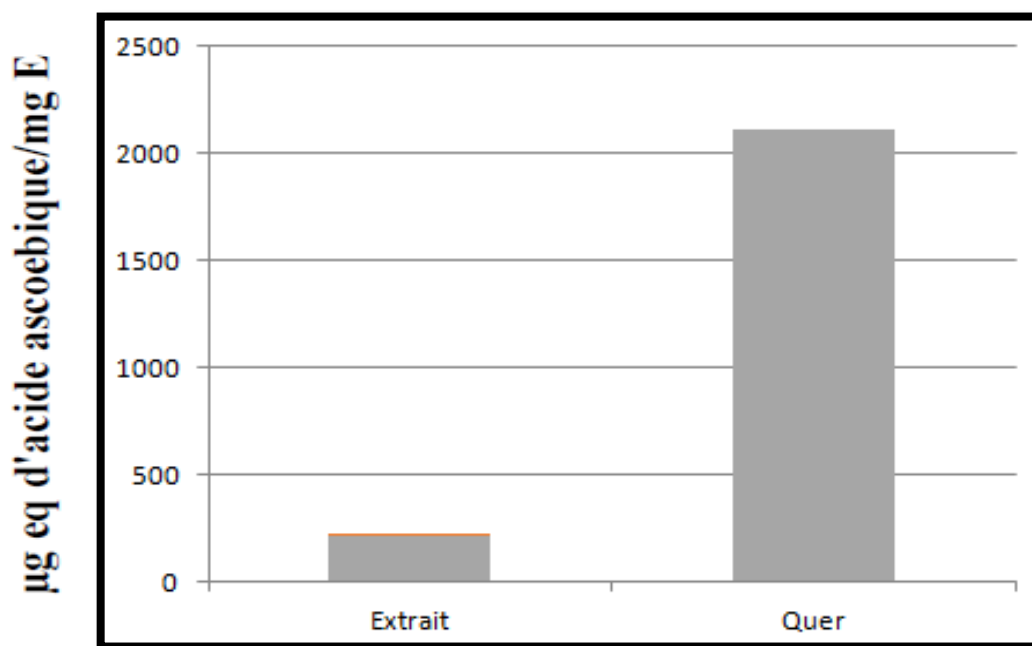


Figure 11. Le pouvoir réducteur de l'extrait de *Genista quadriflora*

Le pouvoir réducteur d'un ensemble composé rapporté à son électron capacité de transfert dans une réaction redox, conduisant à la conversion des radicaux libres dans des produits moins réactifs ou inertes. Cependant, dans butre la stabilisation du radical cationique, les systèmes tampons par contrôler le rapport des états protons ou déprotonés des antioxydants pourrait entraîner un « antioxydant induit » activité. Le pouvoir réducteur de l'antioxydant est dû à leur propriété de transfert d'électrons comme les polyphénols flavonoïdes. De nombreuses études ont démontré que les plantes extraient possèdent un fort pouvoir réducteur. D'autre part, de nombreux les chercheurs ont largement rapporté la relation entre structure des polyphénols et leur pouvoir réducteur ferrique. Les composés phénoliques sont appelés antioxydants en raison de leur capacité à piéger les radicaux libres, la peroxydation lipidique inhibition et effet réducteur (Maksimović., 2005 ; Benslama et Harrar, 2016).

# **CONCLUSION**

## Conclusion

Afin de réduire les effets secondaires des médicaments, les plantes médicinales restent une alternative inégalée et une source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques, en exhibant le pouvoir de traiter diverses pathologies sachant que ces principes actifs extraits de plante à dose déterminé dépourvu généralement des effets indésirables qui peut perturber la santé humaine.

Le présent travail avait pour objet l'évaluation de l'activité antioxydant d'une plante médicinale Algérienne *Genista quadriflora* qui représentent de nombreux effets biologiques qui sont utilisés depuis longtemps pour traiter plusieurs maladies et donc préserver la santé humaine. Pour ce là on peut considérer que cette plante est une plante médicinale et peut extrait partir du quelle des molécules bioactives qui peuvent être exploitées dans le domaine industriel pour produire des médicaments à base de ces molécules.

Extraction de la partie aérienne de la plante par macération dans le méthanol a permis d'obtenir d'un rendement de 12,02 % (m/m), qui diffèrent en fonction des plusieurs facteurs (solvants utilisés, la méthode d'extraction, la région de la récolte ...etc). Les résultats obtenus montrent que le rendement le plus élevé est celui de l'extrait méthanolique.

La teneur en polyphénols et flavonoïdes a été déterminé par la méthode de Folin- Ciocalteu et trichlorure d'aluminium respectivement, en utilisant l'acide gallique et la Quercitine comme standard, Nos résultats montrent que la plante *Genista quadriflora* est très rich en polyphénols et en flavonoïdes.

L'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait de *Genista quadriflora* a été déterminée par : le test de réduction de radical libre DPPH et le test de réduction de fer (FRAP).

Les résultats obtenus ont été: Le potentiel antiradicalaire DPPH (E50:  $5.11 \pm 0.13$  µg/ml), et l'activité réductrice FRAP (  $218,73 \pm 11,31$  µg / ml).

Ces résultats montrent que *Genista quadriflora* a une activité antioxydante très importante, qui doit être exploitée dans le traitement ou à la prévention des diverses maladies telles que le cancer, et les maladies cardiovasculaires.

Enfin, les résultats obtenus montrent que la *Genista quadriflora* a une activité antioxydante très importante, a cause de leur richesse avec les métabolites secondaire. D'autres études complémentaires sont nécessaires pour déterminer les composés phytochimiques des extraits de la plante, plus précisément les molécules impliquées dans les effets antioxydants et pour évaluer d'autres activités biologiques possibles de la plante.

REFERENCES  
BIBLIOGRAPHIQUES

## Références bibliographiques

Achat, S. (2013). Polyphénols de l'alimentation : extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques. P: 211. Doctort en science. Option : Sciences Alimentaires. Université d'Avignon; Université Abderrahmane Mira – Bejaïa. Bejaïa. Algérie.

Acquasaliente, L., Palazzi, L., de Laureto, P.P. (2019). Polyphenols as potential therapeutic drugs. *Neuroprotection - New Approaches and Prospects*. P : 31.

Ammar,R. B., Bhourri, W., Sghaier,M. B., Boubaker,J., Skandrani, I., Neffati, A., Bouhlel, I., Kilani, S., Mariott, A. M., Chekir-Ghedira, L., Dijoux-Franca, M. G. Đ. and Ghedira, K. (2009). Antioxidant and free radical-scavenging properties of three flavonoids isolated from the leaves of *Rhamnus alaternus* L.(Rhamnaceae): A structure-activity relationship study. *Food Chemistry*, 116(1), 258-264.

Atik, F., & Mohamamed,I.Z. (2011). Impact of solvent extraction type on total polyphons content and biological activity from tamarix aphylla (L.) karst . *International journal of pharma and bio sciences*, 2(1).

Baali, N., Belloum, Z., Baali, S., Chabi, B., Pessemesse, L., Fouret, G., Ameddah, S., Benayache, F., Benayache, S., Feillet-Coudray, C., Cabello, G., Et Wrutnaik-Cabello, Ch. (2015). Protective Activity of Total Polyphenols from *Genista quadriflora* Munby and *Teucrium polium geyrii* Maire in Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity in Rats. *Nutrients*. 8(4): 193.

Bauer Petrovska, B. (2012). Historical review of medicinal plants' usage. *Pharmacognosy Reviews*, 6(11), 1-5.

Bayoud, R et Belaidi, F. (2021). Etude phytochimique et de l'évaluation de l'activité antioxydant sur deux extrait de l'espace *Genista aspalathoides* Lamk et *Genista quadriflora* Munby. P : 54. Memoire de master. Chimie des produits naturelles. Université SAAD DAHLEB de Blida. Blida. Alger.

Belščak-Cvitanović, A., Durgo, K., Huđek, A., Bačun-Družina, V., Komes, D. (2018). Overview of polyphenols and their properties : Polyphenols: Properties, Recovery, and Applications. *Science Direct*, P: 3-44

Benslama, A., Harrar, A. (2016). Free radicals scavenging activity and reducing power of two Algerian Sahara medicinal plants extracts. *International Journal of Herbal Medicine*, 4(6), 158-161.

- Benslama, A., Harrar, A., Gul, F., & Demirtas, I. (2017). Phenolic compounds, antioxidant and antibacterial activities of *Zizyphus lotus* L. leaves extracts. *The natural products journal*. 7(4), 316-322.
- Bhooshan Pandey, K., Et Rizvi, S.I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2(5), 270-278.
- Boizot, N., et Charpentier, J-P. (2006) .Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Cahier des Techniques de l'INRA, P : 79-82
- Boubekri, N., Belloum, Z., Boukaabache, R., Amrani, A., Kahoul, N., Hamama, W., Zama, D., Boumaza, O., Bouriche, H., Benayache, F et Benayache, S. (2014). In vivo anti-inflammatory and in vitro antioxidant activities of *Genista quadriflora* Munby extracts. *Scholars Research Library Der Pharmacia Lettre*, 6 (1), 1-7.
- Boukaabache, R. (2015). Recherche et détermination des métabolites secondaires de plantes issues de la famille des fabacées. P: 204. Doctorat en science, En Chimie Organique: Option : Phytochimie. Université des Frères Mentouri Constantine. Constantine. Alger.
- Brack michel.(2010).le stress oxydatif.I.R.S.Institu de recherche sur le stress .
- Carocho, M., & Ferreira, I. C. (2013). A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and chemical toxicology*, 51, 15-25.
- Chahal, A., Saini, A. K., Chhillar, A. K., & Saini, R. V. (2018). Natural antioxidants as defense system against cancer. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 38-44.
- Corpas, F. J., & Barroso, J. B. (2015). Reactive sulfur species (RSS): possible new players in the oxidative metabolism of plant peroxisomes. *Frontiers in Plant Science*, 6, 116.
- Creapharma.cha. Plantes médicinales : Phytothérapie (définition). Mise à jour: 15.03.2022 , disponible sur : <https://www.creapharma.ch/phytotherapie.htm>.
- Daglia, M. (2012). Current Opinion in Biotechnology: Polyphenols as antimicrobial agents. *Science Direct*, 23(2). P: 174-181
- Di Meo, S., Reed, T. T., Venditti, P., & Victor, V. M. (2016). Role of ROS and RNS sources in physiological and pathological conditions. *Oxidative medicine and cellular longevity*.
- Dobignard, A. Et Chatelain, C. (2010-2013). Index synonymique et bibliographique de la flore d'Afrique du Nord in: Dicotyledonae: Fabaceae à Nymphaeaceae, V: 4. P: 431.

- Doukani, K., & Tabak, S. (2015). Profil Physicochimique du fruit " Lendj"(*Arbutus unedo L.*). *Nature & Technology*, (12), 51.
- Ďuračková, Z., & Gvozdjaková, A. (2008). Oxidants, antioxidants and oxidative stress. In *Mitochondrial medicine*, P : 19-54. Springer, Dordrecht.
- Durazzo, A., Lucarini, M., B. Souto, E., Cicala, C., Caiazzo, E., A. Izzo, A., Novellino, E., Santini, A. (2019). Polyphenols: A concise overview on the chemistry, occurrence, and human health. *Phytotherapy Research*, P: 1-23
- Fadili, K., Amalich, S., N'dedianhoua, S. K., Bouachrine, M., Mahjoubi, M., El Hilali, F., & Zair, T. (2015). Teneurs en polyphénols et évaluation de l'activité antioxydante des extraits de deux espèces du Haut Atlas du Maroc: *Rosmarinus Officinalis* et *Thymus Satureioides* [Polyphenols content and antioxidant activity of two species from Moroccan High Atlas: *Rosmarinus officinalis* and *Thymus satureioides*]. *Int J Innov Sci Res ISSN*, 17, 2351-8014.
- Fleuriet, A., Jay-Allemand, C., Macheix, J.J. (2005). Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechniques et universitaires romandes, P: 121-216.
- Ghedadba, N., . Hambaba, L., Aberkane M. C., Oueld-mokhtar S. M., Fercha, N., Et Bousselela, H. (2014). Évaluation De L'activité Hémostatique In Vitro De L'extrait Aqueux Des Feuilles De *Marrubium Vulgare L.* *Algerian Journal of Natural Products*, 2(2), 64-74.
- Gheffour, K., Boucherit, K., and Boucherit-Otmani, Z. (2015). Étude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante des extraits d'*Echinops spinosus*. *Phytothérapie*, 13(5), 288-294.
- Ghosh, D. (2016). Seed to Patient in Clinically Proven Natural Medicines. *Nutraceuticals*, P: 925-931.
- Gibbs, P.E. (1966). A revision of the genus *Genista L.* Notes Royal Botanic Garden, Edinburgh, 27(1), 11-99.
- Go, Y.M., & Jones, D.P. (2017). Redox theory of aging: implications for health and disease. *Clinical Science*, 131(14), 1669-1688.
- Gomez-Rico, A., Salvador, M.D., La Greca, M., Fregapane, G. (2006). Phenolic and volatile compounds of extra virgin olive oil (*Olea europaea L. Cv. Cornicabra*) with regard to fruit ripening and irrigation management. *J Agric Food Chem*, 54, 7130-7136.

- Hamid, A.A., Aiyelaagbe, O.O., Usman, L. A., Ameen, O. M., & Lawal, A. (2010). Antioxidants: Its medicinal and pharmacological applications. *African Journal of pure and applied chemistry*, 4(8), 142-151.
- Hercberg, S., Galan, P., Preziosi, P., Bertrais, S., Mennen, L., Malvy, D., ... & Briançon, S. (2004). The SU. VI. MAX Study: a randomized, placebo-controlled trial of the health effects of antioxidant vitamins and minerals. *Archives of internal medicine*, 164(21), 2335-2342.
- Homrani Bakali, A. (2020). *Genista quadriflora* Endémiques du Maroc et d'Algérie. Disponible sur : <https://www.teline.fr/fr/photos/fabaceae/genista-quadriflora>.
- Hunaefi, D., Akumo, D. N., & Smetanska, I. (2013). Effect of fermentation on antioxidant properties of red cabbages. *Food Biotechnology*, 27(1), 66-85.
- Hussein, R. A. , & El-Anssary, A. A. (2018). Plants Secondary Metabolites: The Key Drivers of the Pharmacological Actions of Medicinal Plants, Herbal Medicine, *IntechOpen*.
- Jeeb, S. A., Mohammed, M. S., Fathelrahman, A. E., & Wadah, J. (2016). Bioactivity-guided isolation of two sesquiterpenes with potential anti-fungal activity from *Citrullus colocynthis* L. (Schard). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 5(6), 422-425.
- Jorite, S. (2015). La phytothérapie, une discipline entre passé et futur : de l'herboristerie aux pharmacies dédiées au naturel. P: 154. Doctorat en Pharmacie. Sciences pharmaceutiques. Université Bordeaux 2.
- Kacem, N. (2015). Etude phytochimique et valorisation biologique des deux plantes, *Genista quadriflora* Munby (Fabaceae) et *Convolvulus tricolor* L. (Convolvulaceae). P: 297. Doctorat en science en Chimie Organique: Option Phytochimie. Université constantine 1: Faculté des Sciences Exactes. Constantine. Alger.
- Kacem, N., Goossens, J-F., Duhail, N., Roumy, V., Thierry, H., Christen, P., Hostettmann, K., Rhouat, S. (2014). Determination of alkaloids in endemic *Genista quadriflora* Munby (Fabaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*. 56, 83-87
- Kashyap, H. (2022). Benefaction of Medicinal Plant *Uraria picta*. *Natural Medicinal Plants*. P 245.
- Kashyap, H. (2022). Benefaction of Medicinal Plant *Uraria picta*. *Natural Medicinal Plants*, 245.
- Khoddami, A., Wilkes, M., Roberts, T (2013). Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds. *Molecules*, 18(2), 2328–2375.

Klaunig, J. E., & Wang, Z. (2018). Oxidative stress in carcinogenesis. *Current Opinion in Toxicology*, 7, 116-121.

Kunwar, A., & Priyadarsini, K. I. (2011). Free radicals, oxidative stress and importance of antioxidants in human health. *Journal of Medical & Allied Sciences*, 1(2), 53.

Li, A-N., Li, Sh., Zhang, Y-J., Xu, X-R., Chen, Y-M., et Li, H-B. (2014). Resources and Biological Activities of Natural Polyphenols. *Nutrients*, 6(12), 6020-6047.

Limonier, A.S. (2018). La phytothérapie de demain: les plantes médicinales au cœur de la pharmacie. P :92. Doctorat en pharmacie . Faculté de pharmacie de Marseille. Marseille. France.

Lrhorfi, L.A., Dahmani, F.Z., Elyahyoui, O., Berrani, A ., Samama, A., Kerrouri, S., Bengueddour, R.(2016). "The secondary metabolites composition of extracts *Genista Quadriflora* of Morocco". *European Scientific Journal*, 12(30), 1857- 7881.

Magder, S. (2006). Reactive oxygen species: toxic molecules or spark of life?. *Critical care*, 10(1), 1-8.

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

Maksimović Z, Malenčić D, Kovačević N. Polyphenol contents and antioxidant activity of *Maydis stigma* extracts. *Bio-resources Technology*. 2005; 96:873-877.

Maqsood, S., Benjakul, S., Abushelaibi, A., & Alam, A. (2014). Phenolic compounds and plant phenolic extracts as natural antioxidants in prevention of lipid oxidation in seafood: A detailed review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(6), 1125-1140.

Martins, A., Wink, M., Tei, A., Brum-Bousquet, M., Tillequin, F., Rauter, A. P. (2005). A phytochemical study of the quinolizidine alkaloids from *Genista tenera* by gas chromatography–mass spectrometry. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, 16(4), 264-266.

Medisite. Les différentes formes de phytothérapie.Mise à jour: 28/12/2018. Disponible sur: <https://www.medisite.fr/phytotherapie-les-differentes-formes-de-phytotherapie,5494122.90>.

Miara, M-D., Bendif, H., Ait Hammou, M., Et Teixidor-Toneu, I. (2018). Ethnobotanical survey of medicinal plants used by nomadic peoples in the Algerian steppe. *Journal of Ethnopharmacology*.

- Miguel, M. G. (2010). Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: a short review. *Molecules*, 15(12), 9252-9287.
- Minatel, I. O., Borges, C. V., Ferreira, M. I., Gomez, H. A. G., Oliver, Ch.Y. & Lima, G. P. P. (2017). Phenolic Compounds: Functional Properties, Impact of Processing and Bioavailability. In M. Soto-Hernandez, M. Palma-Tenango, & M. d. R. Garcia-Mateos (Eds.), *Phenolic Compounds – Biological Activity*, *IntechOpen*.
- Mohammedi, Z., & Atik, F. (2011). Impact of solvent extraction type on total polyphenols content and biological activity from *Tamarix aphylla* (L.) Karst.
- Mtaki, K., Kyewalyanga, M. S., & Mtolera, M. S. (2020). Assessment of antioxidant contents and free radical-scavenging capacity of *Chlorella vulgaris* cultivated in low cost media. *Applied Sciences*, 10(23), 8611.
- Muanda Nsemi, F. (2010). Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. P: 239. These de doctorat. Chimie organique. Université Paul Verlaine – Metz. Français.
- Mulgund, A., Doshi, S., & Agarwal, A. (2015). The role of oxidative stress in endometriosis. In *Handbook of fertility* (Pp: 273-281). Academic Press.
- Muséum national d'Histoire naturelle. (2007). *Genista quadriflora* Munby. Disponible sur: <https://science.mnhn.fr/taxon/species/genista/quadriflora>.
- Mut-Salud, N., Álvarez, P. J., Garrido, J. M., Carrasco, E., Aránega, A., & Rodríguez-Serrano, F. (2015). Antioxidant intake and antitumor therapy: toward nutritional recommendations for optimal results, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*.
- Niki, E. (2016). Oxidative stress and antioxidants: distress or eustress?. *Archives of biochemistry and biophysics*, 595, 19-24.
- Nimse, S. B., & Pal, D. (2015). Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC advances*, 5(35), 27986-28006.
- Pardo, C., Cubas, P., & Tahiri, H. (2004). Molecular phylogeny and systematics of *Genista* (Leguminosae) and related genera based on nucleotide sequences of nrDNA (ITS region) and cpDNA (trnL-trnF intergenic spacer). *Plant Systematics and Evolution*, 255, 93-119.
- Petrovska, B. B. (2012). Historical review of medicinal plants' usage. *Pharmacognosy reviews*, 6(11), 1.

- Pirard, M. (2016). Larousse Médical, in: Initiation à la phytothérapie : Guide pratique d'une herboriste. Edilivre A paris ,P: 186.
- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., .. & Bitto, A. (2017). Oxidative stress: harms and benefits for human health, *Oxidative medicine and cellular longevity*.
- Rahal, A., Kumar, A., Singh, V., Yadav, B., Tiwari, R., Chakraborty, S., & Dhama, K. (2014). Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay, *BioMed research international*.
- Raut, J. S., & Karuppayil, S. M. (2014). A status review on the medicinal properties of essential oils. *Industrial crops and products*, 62, 250-264.
- Rhattas, M., Douira, A., Zidan, L. (2016). Étude ethnobotanique des plantes médicinales dans le Parc National de Talassemtane (Rif occidental du Maroc). *Journal of Applied Biosciences*, 97, 9187-9211.
- Saeed, N., Khan, M. R., & Shabbir, M. (2012). Antioxidant activity, total phenolic and total flavonoid contents of whole plant extracts *Torilis leptophylla* L. *BMC complementary and alternative medicine*, 12(1), 1-12.
- Seidel, V. (2006). Initial and bulk extraction : Natural products isolation. *Humana press*, P: 27-46.
- Senem Kamiloglu, P., Tomas, M., Ozdal, T., Yolci-Omeroglu, P., Capanoglu, E. (2021). Innovative Food Analysis in: Chapter 2 – Bioactive component analysis. *Science Direct*, P: 41-65.
- Shah, P., & Modi, H. A. (2015). Comparative study of DPPH, ABTS and FRAP assays for determination of antioxidant activity. *Int J Res Appl Sci Eng Technol*, 3 (6), 636-41.
- Shahidi, F. (2015). Antioxidants: Principles and applications. In Handbook of antioxidants for food preservation. *Woodhead Publishing*, P:1-14.
- Shrivastava, A., Aggarwal, L. M., Mishra, S. P., Khanna, H. D., Shahi, U. P., & Pradhan, S. (2019). Free radicals and antioxidants in normal versus cancerous cells—An overview. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics (IJBB)*, 56(1), 7-19.
- Sies, H. (2019). Oxidative stress: eustress and distress in redox homeostasis. Stress: physiology, biochemistry, and pathology, *Academic Press*.
- Sies, H. (2020). Oxidative eustress and oxidative distress: introductory remarks. Oxidative stress. *Academic Press*.

- Sies, H. (2021). Oxidative eustress: On constant alert for redox homeostasis. *Redox biology*, 41, 101867.
- Sies, H., Berndt, C., & Jones, D. P. (2017). Oxidative stress. *Annual review of biochemistry*, 86, 715-748.
- Singla, R.K., Dubey, A.K., Garg, A., Sharma, R.K., Fiorino, M., Ameen, S.M., Haddad, M.A., Al-Hiary, M. (2019). Natural Polyphenols : Chemical Classification, Definition of Classes, Subcategories, and Structures. *Journal of AOAC international*, 102, 1397-1400.
- Smirnoff, N. (Ed.). (2005). Antioxidants and reactive oxygen species in plants. *Oxford : Blackwell*.
- Sofowora, A., Ogunbodede, E., Onayade, A. (2013). The Role and Place of Medicinal Plants in the Strategies for Disease Prevention, *Complement Altern Med*, 10(5), 210-229.
- Teresa, M. M., Magdalena, W., & Andrzej, K. (2011). A systematic review of the effect of vitamin C infusion and vitamin E-coated membrane on hemodialysis-induced oxidative stress. *IntechOpen*.
- Truong, D-H., Nguyen, D-H., Anh Ta, N-T., Bui, A-V., Ha Do, T., Et Nguyen H-Ch. (2019). Evaluation of the Use of Different Solvents for Phytochemical Constituents, Antioxidants, and In Vitro Anti-Inflammatory Activities of *Severinia buxifolia*. *Journal of Food Quality*. P : 9
- Wichtl, M., Et Anton, R. (2003). *Plantes thérapeutiques – Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique*. 2e edition. Paris. Éditions Lavoisier. P: 692
- Xu, S., Hamsath, A., Neill, D. L., Wang, Y., Yang, C. T., & Xian, M. (2019). Strategies for the design of donors and precursors of reactive sulfur species. *Chemistry–A European Journal*, 25(16),4005-4016.
- Yaici, K., Dahamna, S., Moualek, I., Belhadj, H., & Houali, K. (2019). Évaluation de la teneur des composés phénoliques, des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes de l'espèce *Erica arborea* L. (*Ericaceae*) dans la médecine traditionnelle du Tell sétifien dans l'Est Algérien. *Phytothérapie*.
- Yao, H. W., Li, J., Chen, J. Q., & Xu, S. Y. (2004). Inhibitory effect of leflunomide on hepatic fibrosis induced by CCl<sub>4</sub> in rats. *Acta Pharmacologica Sinica*, 25(7), 915-920.
- Yasmin, A.R., Chia, S. L., Looi, Q. H., Omar, A. R., Noordin, M. M., & Ideris, A. (2020). Herbal extracts as antiviral agents. In *Feed additives*. *Academic Press*, P: 115-132.

Zhang, Q. W., Lin, L. G., & Ye, W. C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. *Chinese medicine*, 13(1), 1-26.

Zillich, O. V., Schweiggert-Weisz, U., Eisner, P et Kersch, M. (2015) .Polyphenols as active ingredients for cosmetic products. *International Journal of Cosmetic Science*, 37(5), 455-464.