

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Jijel

Faculté des Sciences Exactes et Informatique

Département de Chimie



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Chimie

Option : Chimie organique

Thème

***Détermination de la composition chimique des
huiles essentielles et réalisation des tests
d'activité antioxydant d'une plante
médicinale***

Réalisé et soutenu par :

Boudjedjou Saber & Boufatit Ferial

Soutenu le : **15/07/2021**

Devant les membres de jury :

M^{lle}. Ayad Radia

MCA

Université de Jijel

Présidente

Mr. Boudjerda Azzedine

Pr

Université de Jijel

Encadreur

M^{me}. Bouchair Nabila

MCB

Université de Jijel

Examinatrice

Année Universitaire : 2020/2021



Remerciements

Avons tous nous remercions dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé, le courage et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

*Premièrement, nous remercions notre cher professeur, Monsieur **Boudjerda Azzedine** pour avoir accepté de nous encadrer et de nous diriger, pour sa compréhension, ses Encouragements ainsi que pour la confiance qu'il nous a accordé en réalisant ce travail, avec toutes nos sincères gratitudee et respect. Nous tenons particulièrement à remercier **Mr Boudjerda Abdelhamid** et*

***Mlle Samia Abdelaziz** pour leur aide et ses conseil effectifs pour ce travail*

*Nous adressons aussi nos vifs remerciements aux membres du jury, "**Ayad Radia**" et "**Bouchair Nabila**" pour avoir bien accepter d'examiner notre travail.*

Nos remerciements à Tous nos enseignants du département de chimie pour leurs soutiens pendant tout notre parcours universitaire.

A la fin, un grand merci à tous ceux qui ont contribué d'une façon ou d'autres, de près Ou de loin à la réalisation de ce mémoire de fin d'étude,

Sans oublier nos collègues d'études et particulièrement notre promotion (promo de 2021).

Merci à tous

« Dédicace »

*Avec l'aide et la grâce de Dieu j'ai pu réaliser ce modeste travail que je
dédie Particulièrement :*

*A ma très chère MAMAN Symbole de la bonté par excellence, la source
de tendresse, l'umiere de mes yeux.*

*Aucune dédicace ne saurait etre assez eloquente pour exprimer ce que
tu mérites pour tous les sacnfices que tu n'as cessé de me donner depuis
ma naissance, durant mon entance et même a lage adulte que Dieu la
garde pour moi que dieu, te préserve et t'accorde la santé, longue vie et
bonheur*

*A mon très cher PAPA allahyarhmou que j'aime beaucoup et qui a
toujours cru en moi Et a Mes chers frères*

A mes chères sœurs : Warda , Aicha , Somia ,et Bouchra

Que dieu les protègent

A mon binôme : Ferial

A Mes enseignants

A tous mes amis

*A toutes les personnes qui m ont soutenue de près ou de loin pour la
réalisation de ce travail*

Saber

« Dédicace »

Ce projet de fin d'étude est dédié à :

ma famille spécialement, aux personnes les plus chères au monde :

Mon père Ahmed et ma mère Aicha

A mes chers frères

mes chères sœurs : Hanifa, Fatima, Elghalia et Asma

Que dieu les protègent

toute ma famille

mon binôme : Saber

ma très chère amie : Amina

toutes mes amies d'enfance et mes collègues d'études qui m'ont tenu

tous de m'apporter chacun à sa manière

Enfin, à tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin.

Ferial



Table des matières

Liste des figures
 Liste des tableaux
 Liste des abréviations

Table des matières

Introduction générale 01
Références bibliographique 02

Partie I : Recherche bibliographique

Chapitre I : La phytothérapie et les plantes médicinales

I.1- Développement de la phytothérapie 03
 I.1.1- Introduction 03
 I.1.2- Définition 03
 I.1.3- Différents types de la phytothérapie 04
 I.1.4- Les avantages de la phytothérapie 05
I.2. Les plantes médicinales 05
 I.2.1- Introduction 05
 I.2.2- Généralité 06
 I.2.3- Domaines d'application des plantes médicinales 06
Références bibliographiques 07

Chapitre II : Métabolites secondaires

I. Introduction 08
II.2. Les huiles essentielles 08
 II.2.1. Historique 08
 II.2.2. Définition 09
 II.2.3. Localisation des huiles essentielles 09
 II.2.4. Composition chimique des huiles essentielles 09
 II.2.5. Propriétés physico-chimique des huiles essentielles 10
 II.2.6. Domaine d'utilisation des huiles essentielles 10
 II.2.7. Toxicité des huiles essentielles 11
 II.2.8. Activités biologiques des huiles essentielles 11
 II.2.9. Méthodes d'extraction des huiles essentielles 12
 a. Hydrodistillation 12
 b. Hydrodiffusion 12

c. Entraînement à la vapeur d'eau	12
d. Extraction par dioxyde de carbone	13
e. Extraction à froid	13
II.3. Procédé d'extraction des métabolites secondaires	13
III. Structure chimique de quelques métabolites secondaires	14
III.1. Les terpènes	14
III.1.1. Introduction	14
III.1.2. Définition	14
III.1.3. Classification	14
a. Les monoterpènes	14
b. Les Sesquiterpènes	15
c. Les diterpènes	16
d. Les triterpènes	17
e. Les tetraterpènes	18
f. Les polyterpènes	19
III.1.4. Le Rôle bioactif des terpènes.....	19
III.2. Les flavonoïdes	19
III.2.1. Introduction	19
III.2.2. Définition	20
III.2.3. Structures et Classification des flavonoïdes	20
III.2.4. Rôle des flavonoïdes	24
III.3. Les alcaloïdes	24
III.3.1. définition	24
III.3.2. Rôle des alcaloïdes	25
III.4. Les tanins	25
III.4.1. définition	25
III.4.2. Structures et Classification des tanins	25
Références bibliographiques	27
Chapitre III : Aperçus botanique sur l'espèce <i>Cytisus triflorus</i>	
I. Présentation de la famille des <i>Fabaceae</i> (<i>Faaccées</i>)	30
I.1 .Généralité	30
I.2. Quelques espèces de la famille <i>Fabaceae</i>	30
II.1. Genre <i>Cytisus</i>	31

II.2.Aspect botanique	31
II.3.Quelques espèces du genre <i>Cytisus</i>	31
II.4.Composition chimique	32
III. Espèce <i>Cytisus triflorus</i> L'Hérit	32
III .1.Description	32
III.2- Synonymes latins	33
III.3 Systématique de <i>Cytisus triflorus</i>	33
III .4.Travaux antérieurs sur la famille des Fabacées	33
III.5.Travaux antérieurs sur le genre <i>Cytisus</i>	34
Références bibliographiques	36

Chapitre IV : Activités biologiques

I. Activité antioxydant	38
I.1. Introduction	38
I.2. Définition	38
I.3. Le stress oxydant	38
I.4. Radicaux libres	38
I.4.1. Mécanisme de l'oxydation	39
I.5. Les antioxydants	39
I.5.1. Définition	39
I .5.2. Mécanismes d'action des antioxydants	39
I.5.3. Les utilisations des antioxydants	40
I.6. Méthode d'évaluation de l'activité antioxydante	40
I.6.1. Test au DPPH	41
Références bibliographies	42

Partie II : Partie expérimentale

Matériel et méthodes

I. Introduction	45
II. Etude chimique des métabolites secondaires	45
II.1. Matière végétale	45
II.1.1. Récolte de la plante	45
II.1.2. Conservation	45
II.2. Etude chimique	45

II.2.1. Extraction des métabolites secondaires	45
II.2.2. Extraction liquide- liquide	46
II.2.3. Protocole d'extraction	46
III. Méthodes chromatographie de séparation et purification	49
III.1. Chromatographie sur couche mince	49
a. Principe	49
b. Protocole de CCM sur gel de silice	49
c. Les essais de caractérisation par chromatographie sur couche mince..	49
III.2. Chromatographie sur colonne	50
a. Principe	50
b. Séparation sur colonne de gel de silice de la phase acétate d'éthyle ..	50
c. Séparation des constituants de la fraction 4	53
III.3. Dosage des polyphénols totaux	53
III.3.1.principe	53
III.3.2. Mode opératoire	53
III.4.Dosage des flavonoïdes totaux	54
III.4.1.principe	54
III.4.2.Mode opératoire	54
IV. Evaluation de l'activité antioxydant au test du DPPH.....	54
a. Principe	54
b. Mode opératoire	54
V. Etude chimique des huiles essentielles	55
v.1. Procédé d'extraction des huiles essentielles	55
v.2. Calcul du rendement	56
v.3. Analyse chromatographique de la composition chimique des HE	56
a. Principe	56
b. Condition opératoire	57
Références bibliographique.....	58
Résultat et discussions	
1. Extraction liquide-liquide	59
1.1.Le rendement des extraits des trois phases	59
1.2. Résultats de la chromatographie sur couche mince de l'extrait CHCl ₃ et d'AcOEt	60

1.3. Teneur en polyphénols	60
1.4. Teneur en flavonoïdes	62
2. Evaluation de l'activité antioxydant au test du DPPH	63
3. Les huiles essentielles	65
3.1. Rendement des huiles essentielles	65
3.2. Evaluation des composants chimiques des huiles essentielles de l'espèce Cytisus triflorus par CG-MS.....	66
Conclusion générale	77



Liste des figures

Liste des figures

Figure 01 : Structure du B-carotène	19
Figure 02 : Structure de caoutchouc et de Gutta-percha	19
Figure 03 : Structure générale des flavonoïdes	20
Figure 04: Structure de flavane	21
Figure 05: Structure des Flavanones	21
Figure 06: Structure des Flavones	21
Figure 07: Structure des Flavonols	22
Figure 08: Structure d' Isoflavane	22
Figure 09: Structure d' Isoflavanol	22
Figure 10: Structure d' Isoflavanone	22
Figure 11: Structure de Isoflavone	23
Figure 12: Structure d' Anthocyanidine (cations flavilium)	23
Figure 13: Structure de la Chalcones	23
Figure 14: Structure des Aurones	24
Figure 15: structure des alcaloïdes	25
Figure 16: Structure des tanins hydrolysables	26
Figure 17: Structure des tanins condensés	26
Figure 18: Différentes espèces de genre <i>Cytisus</i> (A. <i>Cytisus Scoparius</i> , B. <i>Cytisus</i>	32
Figure 19: Photos de la plante <i>Cytisus triflorus</i> fleurs	33
Figure 20: Quelques exemples des produits obtenus à partir de la famille des Fabacée	34
Figure 21: Quelques exemples des produits obtenus à partir du genre <i>Cytisus</i>	35
Figure 22: Structure chimique du radical libre DPPH	41
Figure 23: Structure chimique du radical DPPH [•] et de sa forme réduite	41
Figure 24: Espèce <i>Cytisus triflorus</i>	45
Figure 25: Evaporation des trois phases	47
Figure 26: Extraction par solvant (décantation)	47
Figure 27: Les trois extraits	47
Figure 28: Protocole d'extraction des métabolites secondaires	48
Figure 29: Les tests chromatographiques des phases récupérées	50
Figure 30: Séparation par chromatographie sur colonne	51

Figure 31: Les différentes fractions issues de la colonne	51
Figure 32: Plaques CCM de différentes fractions issues de la colonne	52
Figure 33: Plaques CCM de la fraction F4 issue de la colonne et le composé pure F4,1	53
Figure 34: Test d'activité antioxydante par la réduction du radical DPPH	55
Figure 35: Montage d'hydrodistillation	56
Figure 36: Graphique représentatif du rendement des trois extraits	59
Figure 37: Résultats de la CCM des deux phases	60
Figure 38: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	61
Figure 39: Teneur en polyphénols des extraits ; CHCl ₃ ; AcOEt et n-BuOH	61
Figure 40: Courbe d'étalonnage de la quercétine	62
Figure 41: Teneur en flavonoïdes des extraits	63
Figure 42: Représentations graphiques des pourcentages d'inhibitions du radical DPPH en fonction des concentrations	64
Figure 43: Chromatogramme de CPG des HE de l'espèce <i>Cytisus triflorus</i>	66
Figure 44: Familles des composés identifiés de l'espèce <i>Cytisus triflorus</i>	76
Figure 45: Représentation graphique des composés les plus majoritaires des HE de l'espèce <i>Cytisus triflorus</i>	76

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Tableau 01:	Classification des terpènes	14
Tableau 02:	Classification des monoterpènes	15
Tableau 03:	Classification des sesquiterpènes	16
Tableau 04:	Classification des diterpènes	17
Tableau 05:	Classification des triterpènes	18
Tableau 06:	Les principales sources des flavonoïdes	20
Tableau 07:	récapitulatif de 3 espèces différents de la famille Fabacée	30
Tableau 08:	Position systématique de l'espèce <i>Cytisus triflorus</i> selon	33
Tableau 09:	Résultats obtenus des extraits	46
Tableau 10:	Résultats du fractionnement par chromatographie sur colonne de l'extrait acétate d'éthyle de l'espèce <i>C. triflorus</i>	52
Tableau 11:	Résultats de la quantification spectrophotométrique des polyphénols totaux	62
Tableau 12:	Résultats de la quantification spectrophotométrique des flavonoïdes totaux	63
Tableau 13:	Activité antioxydante exprimée en IC50 des extraits de l'espèce <i>C. triflorus</i>	64
Tableau 14:	Composition chimique des huiles essentielles	66



Liste des abréviations

Liste des abréviations

OMS : Organisation mondiale de la santé

MPUP : Matières premières à usage pharmaceutique

APG : Angiosperm Phylogeny Group

AcOEt : Acétate d'éthyle

n-BuOH : n-Butanol

CHCl₃ : Chloroforme

CG-MS : Chromatographie en phase gazeuse couplé à la spectrométrie de masse

CPG ou CG : Chromatographie en phase gazeuse

CO₂ : Dioxyde de carbone

°C : Degré celcius

cm : Centimètre

EtOH : Ethanol

g : Gramme

HE : Huile essentielle

Ir : Indice de rétention

m : Mètre

MeOH : Méthanol

ml : Millilitre

µl : Microlitre

R : Rendement

SM : Spectrométrie de masse

UV : Ultra-violet

% : Pourcentage

IC₅₀ : Concentration de l'extrait nécessaire pour l'obtention de 50% de forme réduite du radical

DPPH

EAG : Extrait acide gallique

EQ : Extrait quercitrine

EOA : Espèces Oxygénées activées



Introduction générale

Introduction générale

Depuis la plus haute antiquité l'homme utilise les ressources naturelles, notamment les plantes, comme aliments, abris et matières principales pour le maintien de sa beauté et le soin de sa santé. De nos jours, et malgré les progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie reste un moyen de soin largement utilisé par l'homme [1].

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), environ 80% de la population mondiale dans les pays en développement, pour des raisons socio-économiques et culturelles, dépendent essentiellement des plantes médicinales pour se soigner et traiter des maladies aussi bien bénignes (rhume, maux d'estomac...) que grave (cancer, paludisme, diabète...) [2].

La flore algérienne compte près de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques dont 15% sont endémiques. Ce potentiel floristique, constitué de plantes médicinales toxiques et condimentaires, reste très peu exploré sur le plan phytochimique ainsi que sur le plan pharmacologique [3].

Dans le cadre de cette étude, nous allons essayer de valoriser la composition chimique d'une espèce végétale qui est *Cytisus triflorus*, qui appartient à la famille des Fabacées. Cette dernière est la plus importante des dicotylédones qui a fourni le plus grand nombre d'espèces utiles à l'homme, qu'elles soient alimentaires, industrielles ou médicinales [4].

Dans ce contexte, nous avons réalisé notre travail dans le but d'extraire les huiles essentielles de l'espèce *Cytisus triflorus* ainsi que l'évaluation de la quantité de ces différents métabolites secondaires, et la réalisation des tests d'activité antioxydant sur les trois extraits obtenus (extrait chloroformique, acétate d'éthyle et n-butanolique).

Notre travail est divisé en deux parties :

La première partie regroupe une recherche bibliographique, et quatre chapitres :

- Chapitre I : La phytothérapie et les plantes médicinales
- Chapitre II : Métabolites secondaires
- Chapitre III : Aperçus botanique sur le genre *Cytisus triflorus*
- Chapitre IV : Activité antioxydant

La deuxième partie est réservée à la partie expérimentale, qui décrit la matière végétale, ensuite la séparation des métabolites secondaires, puis l'extraction des huiles essentielles, et enfin la réalisation des tests d'activité antioxydant. Les résultats obtenus sont ensuite amplement discutés, le manuscrit est achevé par une conclusion générale.

Références bibliographie

[1] **Hadj-Seyd, A., Kemassi, A., Kouider, Y. H., & Harma, A. (2016).** Traitement de l'infertilité: plantes spontanées du Sahara septentrional. *Phytothérapie*, 14(4), 241-245.

[2] **Chin, Y. W., Balunas, M. J., Chai, H. B., & Kinghorn, A. D. (2006).** Drug discovery from natural sources. *The AAPS journal*, 8(2), E239-E253

[3] **Boutaghane, N. (2013).** Etude phytochimique et pharmacologique de plantes médicinales Algériennes *Genista ulicina* Spach (Fabaceae) et *Chrysanthemum macrocarpum* (Sch. Bip.) Coss. & Kralik ex Batt (Asteraceae).

[4] **Daghbouche, S., Ammar, I., Rekik, D. M., Djazouli, Z. E., Zebib, B., & Merah, O. (2020).** Effect of phenological stages on essential oil composition of *Cytisus triflorus* L'Her. *Journal of King Saud University-Science*, 32(4), 2383-2387

*Première
partie*

***Recherche
bibliographique***

La phytothérapie et les plantes médicinales

I.1- Développement de la phytothérapie

I.1.1- Introduction

L'efficacité de la phytothérapie est prouvée et ses bienfaits incontestables pour la santé a permis à la médecine naturelle d'entrer dans nos habitudes quotidiennes. De nos jours, le recours à la médecine par les plantes connaît un regain d'intérêt dans les pays occidentaux, particulièrement pour traiter les déséquilibres entraînés par la vie moderne, qu'il s'agisse du stress ou des problèmes de poids [1]. L'Organisation Mondiale de la Santé estime que la médecine traditionnelle couvre les besoins en soins de santé primaires de 80% de la population des pays en voie de développement [2].

En Algérie, la phytothérapie est ancrée dans les moeurs, l'importante richesse de sa flore médicinale, les connaissances ancestrales enrichies au fil des siècles par le brassage des cultures berbère, romaine et arabo musulmane ainsi que l'expérience de la population en médecine traditionnelle constituent un véritable héritage culturel et font que les plantes médicinales continuent aujourd'hui encore à avoir toute leur importance en matière de soins et ce malgré l'avènement de la médecine moderne [3].

I.1.2- Définition

Le mot "phytothérapie" se compose étymologiquement de deux racines grecques : *phuton* et *therapeia* qui signifient respectivement "plante" et "traitement".

La Phytothérapie peut donc se définir comme étant une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états pathologiques au moyen de plantes, de parties de plantes ou de préparations à base de plantes ,qu'elles soient consommées ou utilisées en voie externe.

Depuis 1987, la phytothérapie est reconnue à part entière par l'Académie de médecine [4].

En phytothérapie, Trois approches sont à distinguer :

- *L'approche traditionnelle*

Approche basée sur les connaissances empiriques issues de l'expérience accumulée de plusieurs générations. Selon l'OMS, cette phytothérapie est considérée comme une médecine traditionnelle et est encore massivement employée notamment dans les pays en voie de développement. C'est le plus souvent une médecine non conventionnelle du fait de l'absence d'études cliniques systématiques; considérée donc comme une médecine complémentaire ou alternative.

- ***L'approche scientifique :***

Basée sur les connaissances biochimiques des substances actives et de leurs mécanismes d'action pour traiter précisément un symptôme ou une maladie. Elle s'appuie sur des études cliniques c'est le domaine de la médecine fondée sur les preuves auquel la phytothérapie n'échappe pas. Cette pratique débouche suivant les cas sur la fabrication de médicaments pharmaceutiques ou phytomédicaments.

- ***L'approche prophylactique :***

Existant déjà dans l'antiquité, cette approche n'a pas de but thérapeutique volontaire, néanmoins elle vise à stimuler et renforcer le système immunitaire afin de prévenir l'apparition de maladies. C'est le cas des associations traditionnelles en cuisine, des techniques de conservation et de consommation de certains produits tels que les thés, l'ail ou l'oignon [3].

I.1.3- Différents types de la phytothérapie

On peut distinguer différents types de thérapies par les plantes :

- **Aromathérapie:** est une thérapeutique qui utilise les essences des plantes, ou huiles essentielles, substances aromatiques secrétées par de nombreuses familles de plantes, ces huiles sont des produits complexes à utiliser souvent à travers la peau.
- **Gemmothérapie:** se fonde sur l'utilisation d'extrait alcoolique de tissus jeunes de végétaux tels que les bourgeons et les radicules.
- **Herboristerie:** correspond à la méthode de phytothérapie la plus classique et la plus ancienne. L'herboristerie se sert de la plante fraîche ou séchée; elle utilise soit la plante entière, soit une partie de celle-ci (écorce, fruits, fleurs). La préparation repose sur des méthodes simples, le plus souvent à base d'eau : décoction, infusion, macération. Ces préparations existent aussi sous forme plus moderne de gélule de poudre de plante sèche que le sujet avale.
- **Homéopathie:** a recours aux plantes d'une façon prépondérante, mais non exclusive; les trois quarts des souches sont d'origine végétale, le reste étant d'origine animale et minérale.
- **Phytothérapie pharmaceutique:** utilise des produits d'origines végétales obtenus par extraction et qui sont dilués dans de l'alcool éthylique ou un autre solvant. Ces extraits sont dosés en quantités suffisantes pour avoir une action soutenue et rapide. Ils sont présentés sous forme de sirop, de gouttes, de gélules, de lyophilisats... [5].

I.1.4- Les avantages de la phytothérapie

Malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre de multiples avantages. N'oublions pas que tout temps à l'exception de ces dernières années, les hommes n'ont pas eu que les plantes pour se soigner, qu'il s'agisse de maladies bénignes, rhume ou taux ou plus sérieuses, telles que la tuberculose ou la malaria.

Aujourd'hui, les traitements à base des plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques (considérés comme la solution quasi universelle aux infections graves) décroît, les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leurs résistent de plus en plus.

La phytothérapie qui repose sur des remèdes naturels est bien acceptée par l'organisme, et souvent associée aux traitements classiques. Elle connaît de nos jours un renouveau exceptionnel en occident, spécialement dans le traitement des maladies chroniques comme l'asthme ou l'arthrite [6].

Les maladies les plus graves, le cancer, le sclérose qui sont soignées de façon très difficile, mais grâce à la phytothérapie qui est une alternative importante peut amener un confort dans le traitement classique de ces maladies graves [7].

I.2. Les plantes médicinales**I.2.1- Introduction**

Les relations entre les plantes et les hommes existent depuis l'antiquité Les plantes, éléments vitaux de la diversité biologique servent essentiellement au bien être humain.

L'homme, dans son environnement, a accordé un intérêt croissant pour l'étude des plantes médicinales et leur utilisation traditionnelle dans différentes régions du monde. Cet intérêt a conduit aux enquêtes ethnobotaniques qui se sont avérées être l'une des approches la plus fiable pour la découverte de nouveaux médicaments [8].

En Algérie, pays avec 3000 espèces dont 15 % endémiques où la population a recours à la médecine traditionnelle, on commence à entreprendre des études systématiques portant sur des plantes médicinales de sa flore [9].

I.2.2- Généralité

Une plante médicinale est définie par la pharmacopée française note 1 comme une « drogue végétale au sens de la pharmacopée européenne dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses ». Une « drogue végétale » est une plante ou une partie de plante, utilisées en l'état, soit le plus souvent sous la forme desséchée, soit à l'état frais.

L'expression drogue végétale ou, plus couramment, drogue, désigne donc une matière première naturelle servant à la fabrication des médicaments [10].

I.2.3- Domaines d'application des plantes médicinales

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples dans l'industrie, en alimentation, en cosmétologie et en pharmacie. La pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale, la recherche dans le domaine de la phytochimie a pour actif la découverte de nouvelles molécules biologiquement actives pour les utiliser directement ou se servir de ces dernières comme des matières premières pour la semi-synthèse.

- **Utilisation en médecine**

Selon les estimations de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), plus de 80% de la Population mondiale, surtout dans les pays en voie développement, ont recours aux traitements traditionnels pour satisfaire leurs besoins en matière de santé et de soins primaires.

- **Utilisation en alimentation**

Assaisonnement des boissons, des colorants et des composés aromatiques, les épices et les herbes aromatiques utilisés dans l'alimentation sont considérés comme condimentes et aromates.

- **Utilisation en cosmétique**

Des produits de beauté, parfums et articles de toilette, produits d'hygiène.... [11].

Références bibliographiques

- [1] Dongock, D. N., Bonyo, A. L., Mapongmestem, P. M., & Bayegone, E. (2018). Etude ethnobotanique et phytochimique des plantes médicinales utilisées dans le traitement des maladies cardiovasculaires à Moundou (Tchad). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 12(1), 203-216.
- [2] Bousta, D., & Ennabili, A. (2011). L'Institut national des plantes médicinales et aromatiques au service du développement de la phytothérapie au Maroc. *Phytothérapie*, 9(5), 297-303.
- [3] MKEDDER, N. A., & HAKEM, Y. *Étude de l'utilisation de la phytothérapie chez l'enfant dans la région de Tlemcen (Algérie)* (Doctoral dissertation)..
- [4] Chabrier, J. Y. (2010). *Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie* (Doctoral dissertation, UHP-Université Henri Poincaré).
- [5] Strang , (2006). Larousse médical : Ed Larousse.
- [6] Iserin, P., Masson, M., Restellini, J. P., Ybert, E., De Laage de Meux, A, Moulard, F., ... & Botrel, A. (2001). Larousse des plantes médicinales identification, préparation, soins. *Editions Larousse, Paris*, 15
- [7] Zeghad, N. (2009). Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (Thymus vulgaris, Rosmarinus officinalis) et évaluation de leur activité antibactérienne. *Constantine: université Mentouri*.
- [8] Pouka, M. K., Ngene, J. P., Ngoule, C. C., Ottou, P. M., Ndjib, R. C., Dibong, S. D., & Mpondo, E. M. (2015). Caractérisation des plantes médicinales à flavonoïdes des marchés de Douala (Cameroun). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(3), 1494-1516.
- [9] Benkiki, N. (2006). *Etude phytochimique des plantes médicinales algériennes: Ruta montana, Matricaria pubescens et Hypericum perforatum* (Doctoral dissertation, UB1)
- [10] MOHAMMEDI, Z. (2013). *Etude phytochimique et activités biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie* (Doctoral dissertation).
- [11] Bahorun, T. (1997). Substances naturelles actives: la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. AMAS. Food and agricultural rsearch council. *Reduit. Mauritius*.

Chapitre II

Métabolite secondaires

II.1. Introduction

Les produits naturels sont les composés chimiques ou les substances qui sont isolés d'un organisme vivant. Il peut être sous forme de métabolites primaires ou secondaires [1]. Les métabolites secondaires des plantes sont des composés organiques ou phytochimiques qui ne sont pas directement impliqués dans la croissance, le développement ou la reproduction normale de la plante. Les métabolites secondaires des plantes sont essentiels dans les mécanismes de défense des plantes hostiles aux stress environnementaux et aux attaques offensives par des agents pathogènes. Ils ne sont pas seulement nécessaires au développement des plantes, mais ils sont également largement utilisés comme composés bioactifs naturels ayant des fonctions biologiques importantes [2]. Les métabolites secondaires comprennent les alcaloïdes, les glycosides, les flavonoïdes, les huiles volatiles, les tanins, les résines, etc. Actuellement, la plupart de ces métabolites secondaires sont isolés à partir de plantes sauvages ou cultivées parce que leur synthèse chimique est soit extrêmement difficile, soit économiquement impossible [3].

II.2. Les huiles essentielles

II.2.1. Historique

Les huiles essentielles sont extraites des plantes aromatiques et essentielles et utilisées depuis des millénaires pour plusieurs applications. Elles sont réputées pour leurs propriétés thérapeutiques, en particulier anti-infectieuses, souvent sous forme de produits non médicamenteux [4]. La première distillation des huiles essentielles est apparue en Orient (Inde et Perse) il y a plus de 2000 ans et a été améliorée au IX^e siècle par les Arabes. Néanmoins, le premier récit écrit authentique de la distillation d'huile essentielle est attribué à Villanova (vers 1235–1311), un médecin catalan, et seulement au 13^{ème} siècle, les huiles essentielles (HE) étaient fabriquées par des pharmacies et leurs effets pharmacologiques ont été décrits dans les pharmacopées. En revanche, leur utilisation ne semble avoir été répandue en Europe qu'au XVI^e siècle, le terme « huile essentielle » a été utilisé pour la première fois par Paracelsus von Hohenheim, qui a nommé le composant efficace d'un médicament, « Quinta essential ». Au milieu du XX^e siècle, le rôle des huiles essentielles avait été réduit presque entièrement pour être utilisé dans les parfums, les cosmétiques et les arômes alimentaires: plutôt dans les préparations pharmaceutiques [5].

II.2.2. Définition

Depuis la neuvième édition (1972), la Pharmacopée n'utilise plus que le terme d'"huile essentielle". En octobre 1987, l'AFNOR (Association Française de la Normalisation) propose une autre définition "Produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, Soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, soit par distillation à sec. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques [6].

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes d'une variété de molécules volatiles telles que les terpénoïdes, les composants aromatiques dérivés du phénol et les composants aliphatiques ayant un fort intérêt dans les industries pharmaceutique, sanitaire, cosmétique, agricole et alimentaire [5]. Les huiles essentielles sont une bonne source de plusieurs composés bioactifs, qui possèdent des propriétés antioxydants et antimicrobiennes. De plus, certaines huiles essentielles ont été utilisées comme médicament [7]. Les huiles essentielles se forment dans la cellule végétale et s'accumulent dans les divers organes de la plante : péricarpe des fruits, feuilles, pétales des fleurs d'où elles sont extraites par expression à froid ou par distillation [8].

II.2.3. Localisation des Huiles essentielles

Les huiles essentielles n'existent quasiment, que dans les végétaux, elles peuvent être stockées dans tous les organes des plantes aromatiques

Fleurs : oranger, rose, lavande, le bouton floral (girofle)....

Feuilles : eucalyptus, menthe, thym, laurier, sarriette, sauge....

Fruits : fenouil, anis, épicarpes des Citrus...

Tiges : citronnelles,...

Rhysomes et racines : gingembre, vétiver, iris,...

Graines : noix de muscade, coriandre,....

Bois et écorces : cannelle, santal, bois de rose,.... [9].

II.2.4. Composition chimique des huiles essentielles

Plusieurs plantes contiennent des huiles essentielles, cependant, des parties de plantes, qui constituent la principale source d'huile essentielle peuvent être différentes Ceux-ci incluent les racines, les pelures, les feuilles, les graines, les fruits, les écorces, etc. Les huiles essentielles végétales sont généralement le mélange complexe de composés naturels, à la fois des composés polaires et non polaires.

En général, les constituants des huiles essentielles sont les terpènes (monoterpènes et sesquerpènes), les composés aromatiques (aldéhyde, alcool, phénol, dérivé méthoxy, etc.) et les

terpénoïdes (isoprénoïdes) .Les composés et l'arôme des huiles essentielles peuvent être divisés en 2 grands groupes: les hydrocarbures terpéniques et les composés oxygénés [10].

II.2.5. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles possèdent en commun un certain nombre de propriétés malgré leurs différences de constitution:

Elles sont généralement liquides à température ordinaire.

Elles sont volatiles et entraînables à la vapeur d'eau.

Elles sont solubles dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, les huiles fixes, les émulsifiant et dans la plupart des solvants organiques.

Elles sont peut solubles dans l'eau mais lui communiquent leur odeur.

Leur point d'ébullition varie de 160 à 240 C°.

Leur densité est en général inférieure de l'eau, elle varie de 0,75 à 0,99(les huiles essentielles de girofle ou de cannelle constituent des exceptions).

Elles sont très altérables et sensibles à l'oxydation.

Elles sont généralement incolores ou jaunes pales, il existe, cependant, quelques exceptions, exemple: huiles essentielles à azulène de coloration bleue [11].

II.2.6. Domaine d'utilisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont étroitement liées à l'histoire de l'humanité. En effet depuis les anciennes civilisations, l'homme utilise les substances odorantes à chaque instant de sa vie quotidienne, les principaux domaines d'application étant les suivants

❖ L'alimentation

Les huiles essentielles entrent dans la composition des aliments sous formes d'aromates ou d'épices et parfois comme condiments. C'est le cas des Ocimums (les basilics), du Zingiber officinalis (gingembre), du Petroselinum crispum (persil), des piper (poivre), des extraits de Citrus.

❖ L'industrie cosmétique

C'est l'un des plus grands consommateurs des substances odorantes. En effet, les produits de toilettes (parfums, savons, laits, shampooings, pâtes et poudres, dentifrices), seront appréciés selon leur fragrance. L'homme étant toujours à la recherche de sensations nouvelles, les industries de la parfumerie et la cosmétique utilisent abondamment les substances odorantes volatiles pour l'élaboration des gammes de produits de plus en plus diversifiés.

❖ Domaine médical

L'emploi des huiles essentielles en thérapeutique est lié à leurs propriétés pharmacodynamiques diverses et souvent marquées. Parmi les plantes à huiles essentielles, on trouve les antiseptiques surtout employés dans les maladies des voies respiratoires ou urinaires, certaines sont eupeptiques et carminatives (régularisent la digestion), d'autres agissent comme stimulants du système nerveux central, pouvant provoquer des convulsions à hautes doses. Leurs actions antispasmodiques, cholérétiques, stomachiques et vermifuges ne sont pas non plus, à négliger. A noter aussi les huiles essentielles renfermant la thucyone, le sabinol ou le méthyle- nonyl-cétone qui présentent des effets emménagogues et abortifs à faible dose. C'est le cas des huiles essentielles de *Ruta graveolens*, de l'*Artemisia absinthum* et de *Tanacetum vulgare*. Les huiles essentielles renferment des substances antivirales

Elles ont aussi des propriétés antifongiques dues au menthol, au néomenthol, à la menthone et à l'acétate de menthyle. L'activité antifongique a été mise en évidence sur *Aspergillus flavus*, *Aspergillus sulphurens*, *Aspergillus fumigatus*, *Mucor fragilis* [12].

II.2.7. La toxicité des huiles essentielles

Les huiles essentielles constituent diverses molécules actives qui affectent donc de multiples cibles dans une cellule. Leur principale cible est la membrane cytoplasmique. La perturbation et la perméabilisation de la membrane cellulaire conduit à la perte de fonctions cellulaires importantes telles que l'homéostasie ionique et la chaîne de transport des électrons. Les huiles essentielles peuvent exercer des effets cytotoxiques sur les cellules eucaryotes. La perméabilisation des membranes mitochondriales externes et internes provoque la mort cellulaire par nécrose et apoptose. Généralement l'alcool, les aldéhydes et les constituants phénoliques sont responsables de la cytotoxicité des H.E [13].

II.2.8. Activités biologiques des huiles essentielles

L'activité biologique d'une huile essentielle est liée à sa composition chimique, les groupes fonctionnels des principaux composés (alcools, phénols, composés terpéniques et cétones) et leurs effets synergiques. Plusieurs travaux ont mis en évidence les différentes activités biologiques des aromatiques et plantes médicinales, et en particulier leurs antifongiques, pouvoirs antibactériens, antioxydants et insecticides. Il convient de noter que la première démonstration de l'action des huiles essentielles contre les bactéries et les champignons a été réalisée en 1881 par Delacroix. Depuis, de nombreuses huiles ont été définies comme antibactérien et antifongique [14].

II.2.9. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Il existe plusieurs méthodes d'extraction, qui sont choisies en fonction de la partie de la plante où se trouve l'huile essentielle, ainsi que de la qualité et de la valeur thérapeutique. De chaque procédé résulte des rendements différents. La quantité de matière première requise pour fabriquer une huile essentielle est importante [15].

a.Hydrodistillation

L'hydrodistillation est devenue la méthode standard d'extraction des huiles essentielles à partir de matières végétales telles que le bois ou les fleurs, qui est souvent utilisée pour isoler les produits naturels non solubles dans l'eau à point d'ébullition élevé. Le processus implique l'immersion complète de matières végétales dans l'eau, suivie d'une ébullition. Cette méthode protège les huiles extraites dans une certaine mesure puisque l'eau environnante agit comme une barrière pour l'empêcher de surchauffer. A l'ébullition de l'eau, les gouttelettes de l'huile essentielle sont emportées par la vapeur d'eau qui sera ensuite condensée dans le réfrigérant, puis récupérée dans une petite ampoule à décantation. L'avantage de cette technique est que le matériau requis peut être distillé à une température inférieure à 100 ° C [4].

b.Hydrodiffusion

L'hydrodiffusion est une co-distillation descendante. Dans ce procédé, le végétal est disposé dans un parallélépipède métallique grillagé. On soumet donc le végétal à une pulsion de vapeur d'eau, saturée et humide, mais jamais surchauffée de haut en bas. La forme de l'appareillage permet une meilleure répartition des charges. La vapeur d'eau emporte avec elle toutes les substances volatiles. L'huile essentielle est recueillie grâce à un collecteur qui permet un équilibre avec la pression atmosphérique. On peut aussi préciser qu'il y a un procédé de cohobation qui renvoie dans la chaudière toutes les eaux qui sont séparées des huiles [16].

c.Expression à froid

L'expression à froid est réservée à l'extraction des composés volatils dans les péricarpes des hespéridés. Il s'agit d'un traitement mécanique qui consiste à déchirer les péricarpes riches en cellules sécrétrices. L'essence libérée est recueillie par un courant d'eau et reçoit tout le produit habituel de l'entraînement à la vapeur d'eau, d'où la dénomination d'huile essentielle (AFNOR) [17].

d. Extraction par dioxyde de carbone CO₂

Dans cette technique, un courant de CO₂ à forte pression sur la matière végétale fait éclater les poches à essence et entraîne les huiles que l'on récupère en l'état. L'extraction se fait à la température de liquéfaction du gaz [12].

e. Entraînement à la vapeur d'eau

Dans ce système d'extraction, le matériel végétal est soumis à l'action d'un courant de vapeur sans macération préalable. Les vapeurs saturées en composés volatils sont condensées puis décantées. L'injection de vapeur se fait à la base de l'alambic [17].

II.3. Procédé d'extraction des métabolites secondaires

Dans la littérature, il existe différentes méthodes d'extraction des métabolites secondaires (composés phénoliques et les flavonoïdes) [18]. L'une de ces méthodes est adoptée par notre laboratoire.

Les étapes essentielles sont :

- Dessèchement et broyage des parties aériennes (feuille et fleurs) de la plante.
- Macération répétée du matériel végétal dans une solution hydro alcoolique

(éthanol ou méthanol - eau). c'est une opération qui consiste à laisser la matière végétale en contact prolongé avec un solvant pour en extraire les principes actifs c'est une extraction qui se fait à température ambiante pendant 72h dans un mélange fréquemment utilisé ; méthanol-eau (70/30) (v/v)

- Exaction successive de type liquide-liquide par des solvants de polarités

croissantes.les solvants fréquemment utilisés sont :

- ✓ Le chloroforme CHCl₃, permet l'extraction des substances apolaires
- ✓ L'acétate d'éthyle (ACOEt), extrait les molécules moyennement polaires.
- ✓ En dernier, le n-butanol qui accède à des composés polaires.
- Les extraits obtenus sont ensuite évaporés à sec et pesés pour un éventuel traitement.

III. Structure chimique de quelques métabolites secondaires

III.1. Les terpènes

III.1.1. Introduction

Les terpènes sont des composés naturels présents dans plusieurs organismes appartenant aux règnes animal et végétal. Ils constituent la plus grande classe de produits naturels avec plus de 55 000 composés connus structurellement diversifiés. Plusieurs études ont attribué à cette grande famille de composés une gamme de propriétés pharmacologiques, telles que anticancéreuses, antimicrobiennes, antifongiques, antivirales, antihyperglycémiques, analgésiques, anti-inflammatoires [19].

III.1.2. Définition

Les terpènes sont des hydrocarbures produits à partir de la combinaison de plusieurs unités isoprène (C_5H_8). Les terpènes sont synthétisés dans le cytoplasme des cellules végétales. Les terpènes ont un squelette hydrocarboné qui peut être réarrangé en structures cycliques par des cyclases, formant ainsi des structures monocycliques ou bicycliques. Les principaux terpènes sont : les monoterpènes ($C_{10}H_{16}$), les sesquiterpènes ($C_{15}H_{24}$), mais des chaînes plus longues comme les diterpènes ($C_{20}H_{32}$), les triterpènes ($C_{30}H_{40}$), etc., existent également. Des exemples de terpènes comprennent le p-cymène, le limonène, le terpinène, le sabinène et le pinène [20].

III.1.3. Classification

Le nombre d'unités isopréniques définit les différentes classes de terpènes : monoterpènes (C_{10}), sesquiterpènes (C_{15}), diterpènes (C_{20}), sesterterpènes (C_{25}), triterpènes (C_{30}) et tétraterpènes (C_{40}).

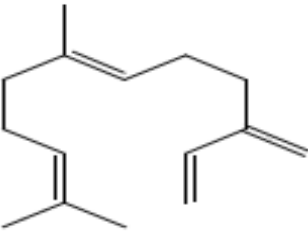
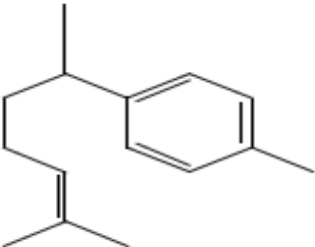
Tableau 1 : Classification des terpènes.

Mono n=2	Sesqui n=3	Di n=4	Ses n=5	Tri n=6	Tétra n=8	Poly n
$C_{10}H_{16}$	$C_{15}H_{24}$	$C_{20}H_{32}$	$C_{25}H_{40}$	$C_{30}H_{48}$	$C_{40}H_{64}$	$(C_5H_8)_n$

a. Les monoterpènes

Les monoterpènes sont les plus simples constituants des terpènes dont la majorité est rencontrée dans les huiles essentielles (90% des huiles essentielles sont des monoterpènes) [21]. Ils comportent dix (10) atomes de carbones et sont issus de la condensation de deux unités isoprène, selon le mode de couplage « tête-queue » [22].

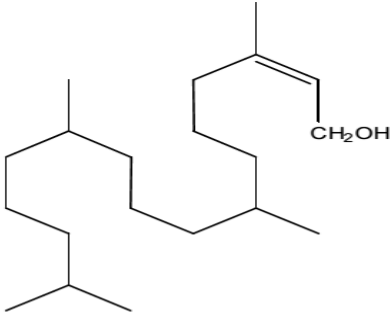
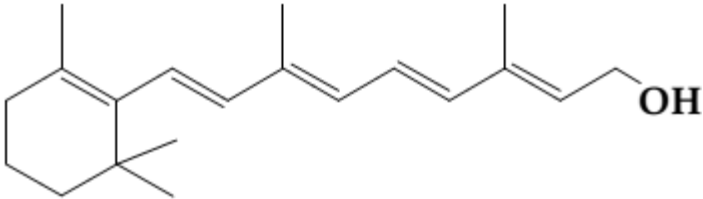
Tableau 3 : Classification des Sesquiterpènes

Sesquiterpènes	
Acyclique	 <p>E-b-Farnesene</p>
Cyclique	 <p>α-Curcumen</p>

c. Les diterpènes

Les diterpènes forment une catégorie bien plus vaste de terpènes en C₂₀, avec environ 2500 structures connues qui se répartissent en 20 groupes majeurs, ils sont biosynthétisés à la suite du couplage de quatre (4) unités isoprène. Il est rare de rencontrer les diterpènes comme constituants des huiles essentielles, à cause de leurs points d'ébullition les plus élevés [24]. Ils peuvent être acycliques ou cycliques.

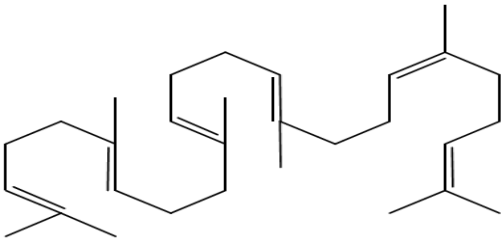
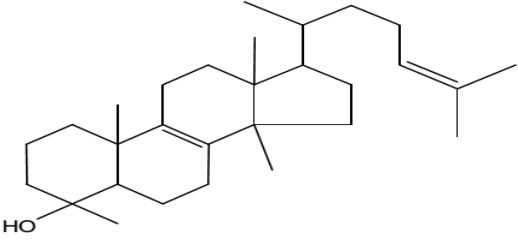
Tableau 4 : Classification des diterpènes

Diterpènes	
Acyclique	 <p style="text-align: center;">Phytol</p>
Cyclique	 <p style="text-align: center;">Vitamine A</p>

d. Les triterpènes

Les triterpènes forment un groupe de produits naturels contenant dans leur squelette une trentaine d'atomes de carbone et dérivant du squalène, par une variété de cyclisations et d'autres modifications [24]. Ils peuvent être classés en trois groupes : acyclique, tétracyclique et pentacyclique.

Tableau 5 : Classification des triterpènes

Les triterpènes	
Acyclique	 <p>Squalène</p>
Cyclique	 <p>Lanosterol</p>

e. Les tetraterpènes

Cette famille de terpènes à 40 carbones, compte en particulier les caroténoïdes qui sont des pigments soit en rouge, orange, jaune,... qui diffèrent d'une plante à une autre, responsables de la couleur de certains nombre d'organes végétaux.

- **Carotène** : c'est un tétaterpène bicyclique, il existe le a- carotène et le B-carotène, c'est le B-carotène qui se rencontre essentiellement dans les carottes

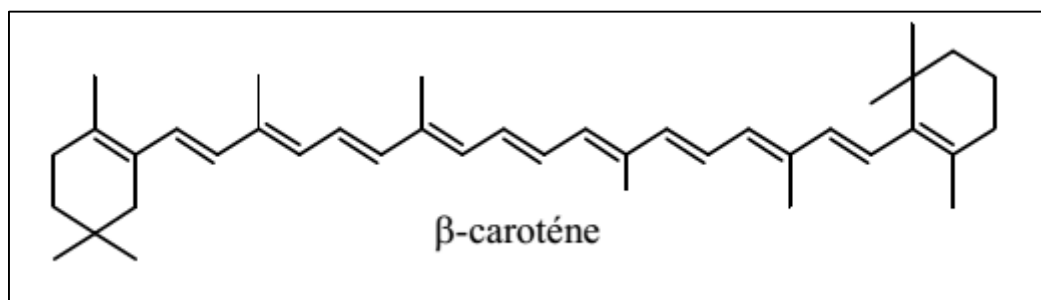


Figure (1) : Exemple de tétraterpènes

f. Les polyterpènes

Quelques composés macromoléculaires importants du point de vue technique se situent au terme de la séquence des réactions de synthèse des isoprénoïdes

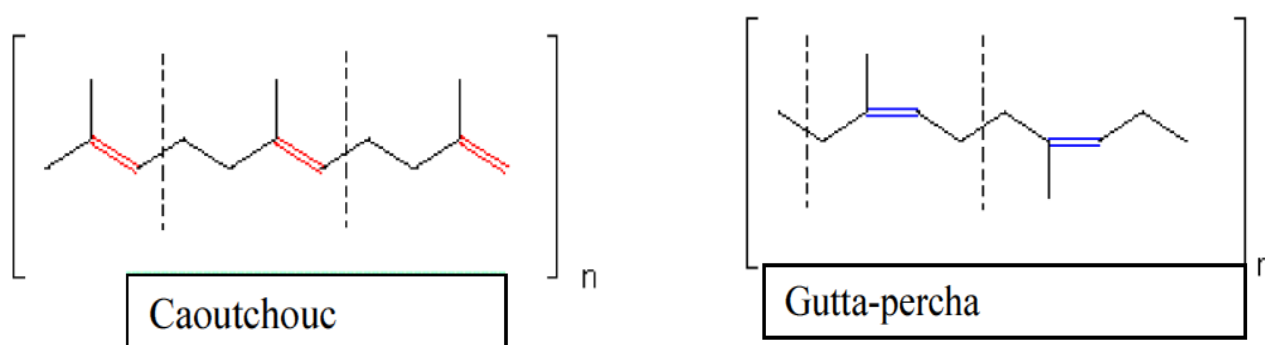


Figure (2) : Structure de caoutchouc et de Gutta-percha

III.1.4. Le Rôle bioactif des terpènes

Les terpènes sont des substances naturelles produites par une grande variété de plantes et d'animaux. Une large gamme de propriétés biologiques des terpénoïdes est décrite, y compris les effets chimiopréventifs du cancer, les activités antimicrobiennes, antifongiques, antivirales, antihyperglycémiques, anti-inflammatoires et antiparasitaires [26].

III.2. Les flavonoïdes

III.2.1. Introduction

Les flavonoïdes (ou bio flavonoïdes) sont un groupe d'environ 4000 composés naturels qui sont omniprésente dans toutes les plantes vasculaires .Ce sont des pigments responsables de l'éclatement automnal des teintes et les nombreuses nuances de jaune, d'orange et de rouge dans les fleurs [27]. Les flavonoïdes sont des produits largement distribués dans le règne végétal et sont couramment consommés quotidiennement sous forme de fruits, légumes et boissons telles que le vin et le thé. Ils sont capables de moduler l'activité de certaines enzymes et de modifier le comportement de plusieurs systèmes cellulaires, suggérant qu'ils pourraient exercer une multitude d'activités biologiques, notamment des propriétés antioxydantes, vasculoprotectrices,

antihépatotoxiques, antiallergiques, anti-inflammatoires, antiulcéreuses et même antitumorales significatives [28]. Cependant, au cours des différentes étapes de transformation des aliments, les flavonoïdes sont perdus en quantités remarquables. La supplémentation en flavonoïdes en tant qu'additif alimentaire aidera à conserver la quantité nécessaire de flavonoïdes bénéfiques pour la santé dans l'alimentation [29].

III.2.2. Définition

Les flavonoïdes sont composés de 15 atomes de carbone comprenant 2 cycles de 6 atomes de carbone liés par une chaîne à 3 carbones. À l'exception des chalcones et des aurones, le pont à 3 carbones forme généralement un cycle benzo- γ -pyrone (cycle C). Tous les flavonoïdes sont classés en fonction des substituants rencontrés sur les différents cycles et du degré de saturation du cycle C. On distingue trois classes de flavonoïdes: les flavonoïdes (ou 2-phénylbenzopyranes), les isoflavonoïdes (ou 3-phénylbenzopyranes) et les néoflavonoïdes (ou les 4-phénylbenzopyranes). Les flavonoïdes sont en outre classés selon la structure de l'hétérocycle C (s'il est présent), dans les groupes suivants: flavones, flavanones, flavanes, flavonols, chalcones et anthocyanidines [30].

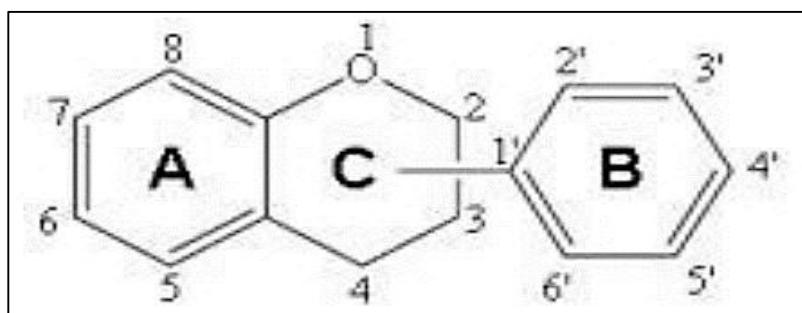


Figure 3 : Structure générale des flavonoïdes

III.2.3. Structures et Classification des flavonoïdes

Les principales sources des flavonoïdes [31].

Tableau (6) : les principales sources des flavonoïdes

Flavonoïdes	Sources alimentaires
Flavonones	Fruits du genre Citrus (sp. aurantium, limon, etc.)
Flavones	Apium graveolens, Passiflora incarnata
Isoflavonoïde	Soya hispida, Stellaria media,
Flavonols	Allium cepa, Crataegus cuneata,
Anthocyanes	Les fruits

Tous les flavonoïdes dérivent de l'enchaînement benzo- γ -pyrone et peuvent être classés selon la nature des différents substituants présents sur les cycles de la molécule et du degré de saturation du squelette benzo- γ -pyrone [31].

- Dans la position 2, les flavonoïdes est appelé flavane.

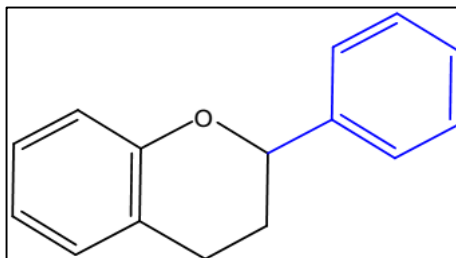


Figure (4) : Structure de flavane

- Si la position 4 de la flavane porte un groupement carbonyle, le flavonoïde est appelé flavanone.

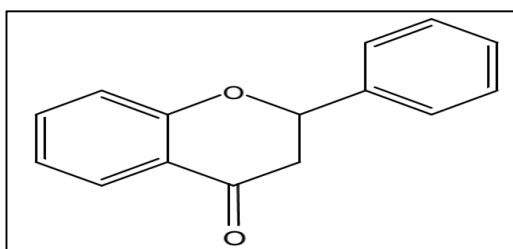


Figure (5) : Structure des Flavanones

- Si la liaison C2-C3 dans le squelette de flavanone est insaturée, le composé est nommé flavone.

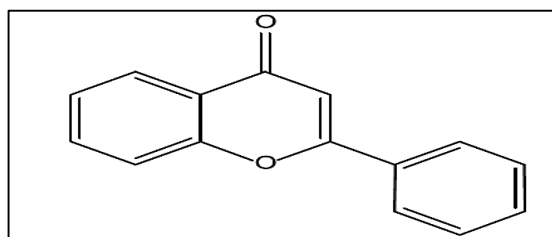


Figure (6) : Structure des Flavones

- Si ce dernier est substitué en position 3 par un groupement hydroxyle, il est désigné par le nom de flavonol

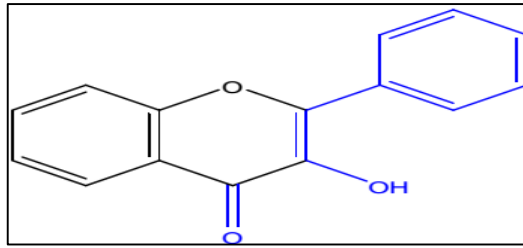


Figure (7) : Structure des Flavonols

- Dans la position 3, le flavonoïde est désigné par le terme isoflavane

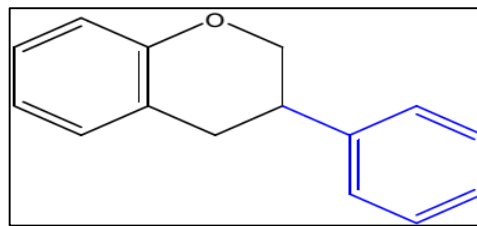


Figure (8) : Structure de l'Isoflavane.

- Si la position 4 de l'isoflavane porte un groupement hydroxyle, le composé est désigné par le nom isoflavanol.

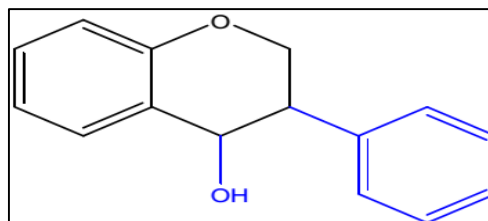


Figure (9) : Structure de l'Isoflavanol.

- Si la position 4 de l'isoflavane porte un groupement carbonyle, le composé est appelé isoflavanone.

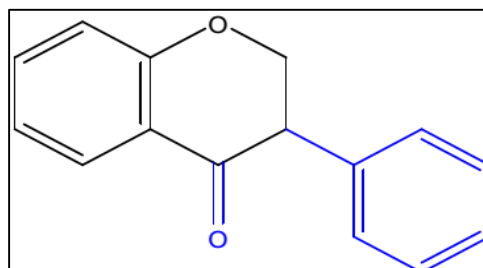


Figure (10) : Structure de l' isoflavanone.

- Si la liaison C2-C3 dans le squelette de l'isoflavanone est insaturée le composé est nommé isoflavone.

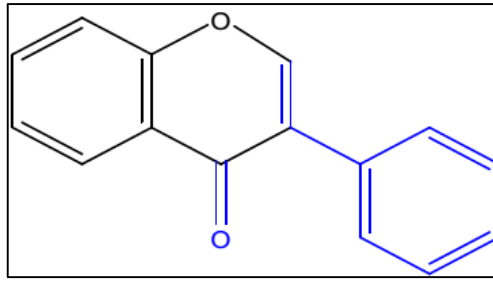


Figure (11) : Structure de l'Isoflavone.

✓ **Les anthocyanidines :**

Le terme d'anthocyanes a été initialement inventé pour désigner la substance responsable de la couleur de la fleur de maïs, s'applique à un groupe de pigments la couleur rouge, rose, mauve, pourpre, bleue ou violette de la plupart des fleurs et des fruits. Pigments se présente sous forme de glycosides (les anthocyanines), et leurs aglycones (les anthocyanidines) sont dérivés de cation phénylbenzopyrylium [32].

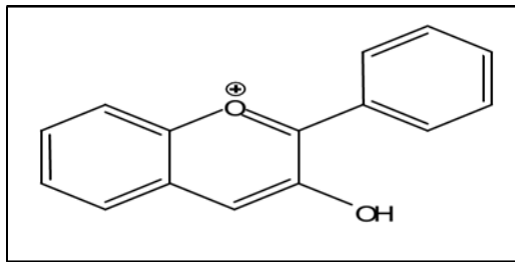


Figure (12) : Structure de Anthocyanidine (cations flavilium).

✓ **Les chalcones**

Les chalcones n'ont pas de noyau hétérocyclique central. Ils sont caractérisés par la présence d'une chaîne de trois carbones avec une fonction cétone et une insaturation α, β , les substitutions sur le cycle A sont le plus souvent identiques à celles des autres flavonoïdes, alors que le cycle B est assez souvent non substitué. L'isoprényl et le pyranochalcone semblent assez courants, surtout chez les Fabaceae. Communs, surtout chez les Fabaceae [32].

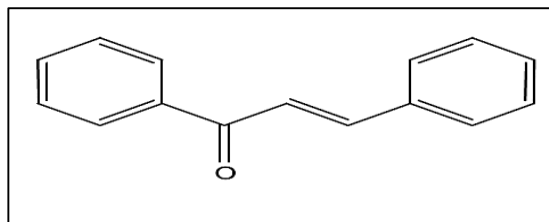


Figure (13) : Structure de la Chalcones

✓ **Les Aurones**

Les aurones sont caractérisées par un cycle 2benzylidenocoumarone.

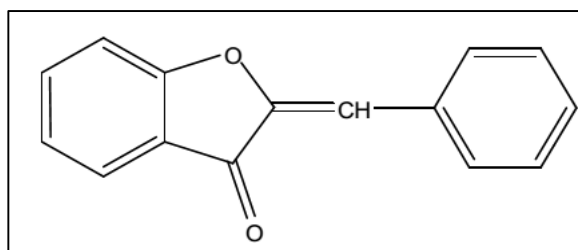


Figure (14) : Structure des Aurones

III.2.4. Rôle des flavonoïdes

- **Chez l'homme**

Des études *in vitro* et animales ont démontré que les flavonoïdes ont des activités antioxydants et antimutagènes. Des études cas-témoins suggèrent que les flavonoïdes peuvent réduire le risque de maladie cardiovasculaire et d'accident vasculaire cérébral [33].

- **Chez les plantes**

Les différents flavonoïdes ont diverses fonctions biologiques, notamment la protection contre les rayons ultraviolets (UV) et les phytopathogènes, la signalisation lors de la nodulation, la fertilité masculine, le transport de l'auxine, ainsi que la coloration des fleurs comme signal visuel qui attire les pollinisateurs. Les flavonoïdes sont également responsables de l'affichage de la couleur d'automne chez de nombreuses plantes, ce qui peut protéger les cellules foliaires des dommages photooxydants, améliorant ainsi l'efficacité de la récupération des nutriments pendant la sénescence. Les flavonols sont probablement les flavonoïdes les plus importants participant aux réponses au stress; ce sont les flavonoïdes les plus anciens et les plus répandus, ayant un large éventail d'activités physiologiques puissantes [34].

III.3. Les alcaloïdes

III.3.1. définition

Les alcaloïdes sont des composés azotés hétérocycliques. Les alcaloïdes ont des structures chimiques complexes en conséquence. Les alcaloïdes ont une histoire de plus de 3000 ans d'histoire dans l'utilisation médicale humaine comme purgatif, antitussifs et sédatifs dans les morsures de serpent, la fièvre et la folie. Les alcaloïdes sont un groupe de composés chimiques naturels. Ils sont largement répandus, et environ 5500 alcaloïdes sont connus [35].

III.3.2. Rôle des alcaloïdes

Comprenant la plus grande classe de métabolites secondaires des plantes. Ils sont connus pour avoir des effets pharmacologiques et sont utilisés dans les médicaments, comme drogues récréatives, et dans les rituels enthéogènes [35].

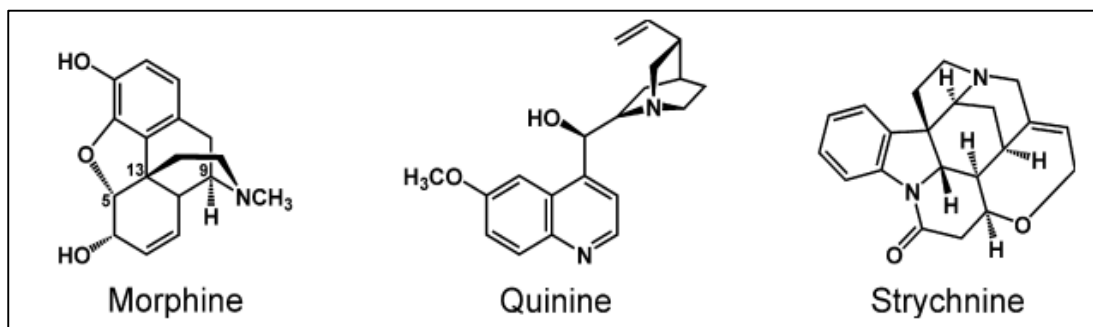


Figure (15) : structure des alcaloïdes

III.4. Les tanins

III.4.1. définition

Les tanins sont des métabolites secondaires importants dans le règne végétal. Ils s'intègrent dans la défense des végétaux contre les herbivores, en particulier pour les plantes se développant dans les zones difficiles. La structure chimique de ces polyphénols leur confère une capacité très développée à se fixer sur toutes sortes de molécules, essentiellement les protéines [36].

III.4.2. Structures et Classification des tanins

Il est classique de distinguer deux grands groupes de tannins différant à la fois par leur réactivité chimique et par leur composition ; les tannins hydrolysables et les tannins condensés [37].

➤ Les tannins hydrolysables

Ils sont abondants chez les Dicotylédones et certains arbres en sont des sources industrielles: tannins de chêne, de châtaignier, extraits respectivement d'un arbuste du genre Rhus ou de Quercus tinctoria. Ils sont d'abord caractérisés par le fait qu'ils peuvent être dégradés par hydrolyse chimique (alcaline ou acide) ou enzymatique. Ils libèrent alors une partie non phénolique (souvent du glucose ou de l'acide quinique) et une partie phénolique qui peut être soit de l'acide gallique soit un dimère de ce même acide, l'acide ellagique (cas des tannins ellagiques ou ella-gitannins comme ceux du châtaignier). Une forme simple de tannins hydrolysables est le penta-galloylglucose [37].

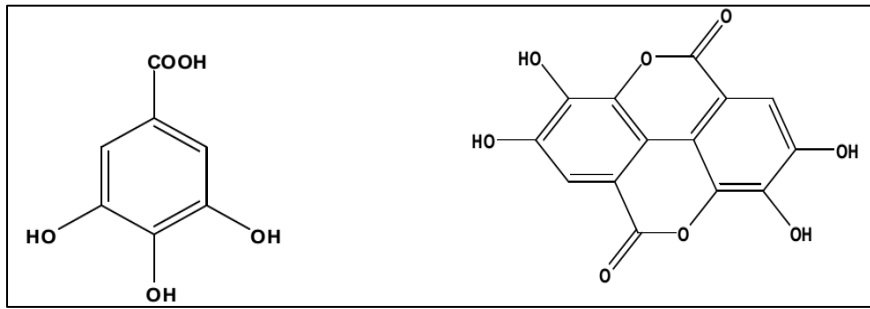


Figure (16) : Structure des tanins hydrolysables

➤ **Les tannins condensés**

Les tannins condensés sont des oligomères ou des polymères de flavane-3-ols (éventuellement de flavane-3,4-diols) dérivés de la (+)-catéchine ou de ses nombreux isomères. Contrairement aux tannins hydrolysables, ils sont résistants à l'hydrolyse et seules des attaques chimiques fortes permettent de les dégrader. Ainsi, par traitement acide à chaud, ils se transforment en pigments rouges et, pour cette raison, les formes dimères et oligomères sont dénommées «proanthocyanidines». Les tannins condensés sont très abondants dans certains organes végétaux consommés ou utilisés par l'homme, par exemple de nombreux fruits (pomme, prune, fraise ...)

[37].

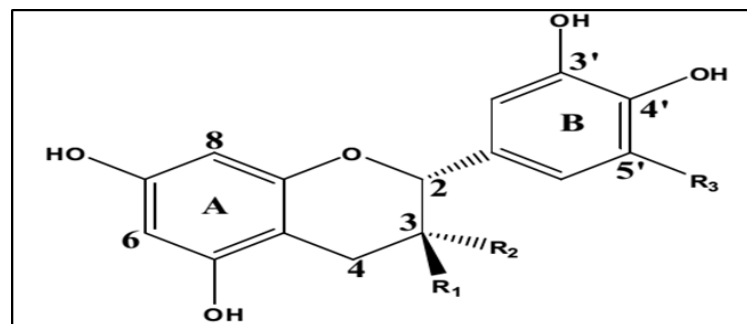


Figure (17) : Structure des tanins condensés.

Références bibliographiques

- [1] **Anulika, NP, Ignatius, EO, Raymond, ES, Osasere, OI et Abiola, AH (2016)**. La chimie du produit naturel: les métabolites secondaires des plantes. *Int. J. Technol. Enhanc. Emerg. Eng. Res* , 4 (8), 1-9.
- [2] **Satish, L., Shamili, S., Yolcu, S., Lavanya, G., Alavilli, H., & Swamy, M. K. (2020)**. Biosynthesis of Secondary Metabolites in Plants as Influenced by Different Factors. In *Plant-derived Bioactives* (pp. 61-100). Springer, Singapore
- [3] **Namdeo, A. G. (2007)**. Plant cell elicitation for production of secondary metabolites: a review. *Pharmacogn Rev*, 1(1), 69-79.
- [4] **Soualeh, N., & Soulimani, R. (2016)**. Huiles essentielles et composés organiques volatils, rôles et intérêts. *Phytothérapie*, 14(1), 44-57
- [5] **Bilia, A. R., Guccione, C., Isacchi, B., Righeschi, C., Firenzuoli, F., & Bergonzi, M. C. (2014)**. Essential oils loaded in nanosystems: a developing strategy for a successful therapeutic approach. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2014.
- [6] **Véronique, L. C. (1971)**. Toxicité des huiles essentielles (Doctoral dissertation, Université Paul-Sabatier).
- [7] **Raut, JS et Karuppayil, SM (2014)**. Un état des lieux des propriétés médicinales des huiles essentielles. *Cultures et produits industriels* , 62 , 250-264.
- [8] **Huet, R. (1991)**. Les huiles essentielles d'agrumes. *Fruits*, 46(4), 501-513.
- [9] **FEKIH, N. (2015)**. Propriétés chimiques et biologiques des huiles essentielles de trois espèces du genre pinus poussant en algérie (Doctoral dissertation).
- [10] **Tongnuanchan, P., & Benjakul, S. (2014)**. Essential oils: extraction, bioactivities, and their uses for food preservation. *Journal of food science*, 79(7), R1231-R1249.
- [11] **Djermane, N., & Gherraf, N. (2013)**. Extraction des métabolites secondaires des plantes médicinales.
- [12] **Koudou, P. J. (2009)**. Etude phytochimique, activités antimicrobiennes et antioxydantes de quelques plantes aromatiques et médicinales africaines (Doctoral dissertation, Ph. D Dissertation, Université de Ouagadougou Ouagadougou, Burkina Faso).
- [13] **Dhifi, W., Belili, S., Jazi, S., Bahloul, N., et Mnif, W. (2016)**. Caractérisation chimique des huiles essentielles et investigation de certaines activités biologiques: un examen critique. *Médicaments*, 3 ,(4)25.
- [14] **Khayreddine, B. (2018)**. Essential oils, an alternative to synthetic food additives and thermal treatments. *MedCrave Group LLC*, pp.10-11

- [15] **Anne Huete**, Huiles essentielles pour tous les jours, 2012, pp.34
- [16] **Bousbia, N. (2011)**. Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires (Doctoral dissertation, Université d'Avignon).
- [17] **Lagunez Rivera, L. (2006)**. Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffé par induction thermomagnétique directe (Doctoral dissertation).
- [18] **Ribereau-Gayou, J.B.(1968)**. "The phenolic compounds of vegetals", Edition Dundo' Paris'
- [19] **Guimarães, AG, Serafini, MR, et Quintans-Júnior, LJ (2014)**. Terpènes et dérivés comme nouvelle perspective pour le traitement de la douleur: une revue de brevet. Avis d'expert sur les brevets thérapeutiques , 24 (3), 243-265.
- [20] **Hyldgaard, M., Mygind, T., et Meyer, RL (2012)**. Huiles essentielles dans la conservation des aliments: mode d'action, synergies et interactions avec les composants de la matrice alimentaire. *Frontiers in microbiology* ,3 , 12.
- [21] **Bakkali, F.,(2007)**. Biological effects of essential oils – A review, *Food Chem. Toxicol*
- [22] **Padua de, L.S., Bunyapraphatsara, N., Lemmens, R.H.M.J.,(1999)**. *Plant Resources*
- [23] **Benalia, Y. (2018)**. Valorisation des ressources végétales steppiques par l'étude des huiles essentielles. Cas: *Marrubium deserti* De Noé (Doctoral dissertation).
- [24] **Langenheim, J.H. ,(1990)**. *Am.Scientist* .78,16-24
- [25] **Ourisson G.et Grabbé, P.,(1961)**. « Les triterpènes tétracycliques » , Paris, Hermann Ed.194.
- [26] **Paduch, R., Kandefers-Szerszeń, M., Trytek, M. et Fiedurek, J. (2007)**. Terpènes: substances utiles en santé humaine. *Archivum immunologiae et therapeuticae experimentalis* , 55 (5), 315-327.
- [27] **Di Carlo, G., Mascolo, N., Izzo, A. A., & Capasso, F. (1999)**. Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life sciences*, 65(4), 337-353
- [28] **Ghedira, K. (2005)**. Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 3(4), 162-169.
- [29] **Routray, W., & Orsat, V. (2012)**. Microwave-assisted extraction of flavonoids: a review. *Food and Bioprocess Technology*, 5(2), 409-424
- [30] **Chabot, G. G., Touil, Y. S., Pham, M. H., & Dauzonne, D. (2010)**. Flavonoids in cancer prevention and therapy: chemistry, pharmacology, mechanisms of action, and perspectives for cancer drug discovery. In *Alternative and complementary therapies for cancer* (pp. 583-612). Springer, Boston, MA.

- [31] **Ghedira, K. (2005)**. Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 3(4), 162-169
- [32] **Chaudhary, K., Singh, R., Kumar, V., & Kumar, S.** JOURNAL OF SCIENTIFIC & INNOVATIVE RESEARCH.
- [33] **Peterson, J., & Dwyer, J. (1998)**. Flavonoids: dietary occurrence and biochemical activity. *Nutrition Research*, 18(12), 1995-2018.
- [34] **Falcone Ferreyra, M. L., Rius, S., & Casati, P. (2012)**. Flavonoids: biosynthesis, biological functions, and biotechnological applications. *Frontiers in plant science*, 3, 222.
- [35] **Jain, C., Khatana, S., & Vijayvergia, R. (2019)**. Bioactivity of secondary metabolites of various plants: a review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 10(2), 494-498
- [36] **Zimmer, N., & Cordesse, R. (1996)**. Influence des tanins sur la valeur nutritive des aliments des ruminants. *Productions animales*, 9(3), 167-179.
- [37] **Macheix, J. J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C.(2005)**. Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. *PPUR presses polytechniques*, pp .11-13

Chapitre III

Aperçu botanique sur l'espèce *cytissus triflorus*

I. Présentation de la famille des *Fabaceae* (*Faaccées*)




I.1. Généralité

La grande famille des Fabacées (de *Faba* = la fève), s'appelle aussi famille des Légumineuses puisque leurs fruits se nomme gousses ou légumes. Elles constituent une des plus grandes familles des plantes à fleurs, avec plus de 730 genres et 19400 espèces, réparties aussi bien en milieu tempéré que tropical. [1] Elle doit son unité à son fruit, appelé gousse ou légume, d'où l'autre dénomination sous laquelle elle est plus connue: les légumineuses. Les formes arborescentes de cette famille prédominent dans les pays chauds et les formes herbacées dans les régions tempérées. [2]

Néanmoins, la prédilection des plantes de cette famille pour les habitats arides ou semi-arides est reliée à leur métabolisme dépendant de l'azote, qui est considéré comme une adaptation aux variations climatiques et imprévisibles de l'habitat. En effet, la fixation de l'azote *via* la symbiose légumineuses-*rhizobium* permet aux plantes de cette famille d'obtenir des taux élevés en azote ammoniacal au niveau de leurs racines en fonction de la demande de leur métabolisme [1].

I.2. Quelques espèces de la famille *Fabaceae*

Tableau(7) : ci-après récapitulatif de 3 espèces différents de la famille Fabacée : *Acacia farnesiana* (L.) Willd , *Abrus precatorius* L, *Bauhinia galpinii* N.E. Br.[3].

Photo	Famille	Sous-famille	Nom scientifique	Nom commun
	<i>Fabaceae</i>	<i>Mimosoideae</i>	<i>Acacia farnesiana</i> (L.) Willd	Cassier, cassie
	<i>Fabaceae</i>	<i>Faboideae</i>	<i>Abrus precatorius</i> L,	Pois rouge, Cascavelle.
	<i>Fabaceae</i>	<i>Caesalpinioideae</i>	<i>Bauhinia galpinii</i> N.E. Br	<i>Bauhinia rouge</i>

II.1. Genre *Cytisus*

Cytisus est un genre important et diversifié de plantes dicotylédones comprenant environ 50 espèces de plantes à fleurs de la famille des Fabacées, particulièrement abondantes autour de la mer Méditerranée, mais également se trouve dans des régions géographiques distinctes comme le nord et le sud de l'Afrique, l'Europe occidentale et centrale, la mer Noire et la Turquie [4]. Ses espèces sont généralement appelées « genêts » ou « cytises » [5].

II.2. Aspect botanique

Cytisus est l'un des nombreux genres de la tribu Genisteae, communément appelés balais. Les balais sont des arbustes dressés de 4 à 5 pieds de hauteur avec des feuilles alternes. Les fleurs sont disposées en têtes et sont généralement jaunes ou blanches [6].

II.3. Quelques espèces du genre *Cytisus*

La liste suivante représente quelques exemples des espèces du genre *Cytisus* et pourrait inclure des synonymes :

- ✓ *Cytisus acutangulus*
- ✓ *Cytisus aeolicus*
- ✓ *Cytisus agnipilus*
- ✓ *Cytisus albidus*
- ✓ *Cytisus albus*
- ✓ *Cytisus arboreus*
- ✓ *Cytisus ardoinii*
- ✓ *Cytisus austriacus*
- ✓ *Cytisus baeticus*
- ✓ *Cytisus balansae*
- ✓ *Cytisus beanii*
- ✓ *Cytisus benehoavensis*[7].



Figure (18) : Différentes espèces de genre *Cytisus* (**A.** *Cytisus Scoparius*, **B.** *Cytisus multiflorus*, **C.** *Cytisus purpureus Scop*, **D.** *Cytisus striatus*).

II.4. Composition chimique

Le genre *Cytisus* contient des alcaloïdes de quinolizidine, des flavonoïdes, des phényléthylamines, des lectines et des monoterpènes. Les principaux composés isolés de ce genre comprennent les alcaloïdes spartéine, lupanine, isosparteine, ammoderine et dérivés apparentés, la tyramine, l'épinine, la salsolidine et la phényléthylamine apparentée, la génistéine, la quercétine et leurs glycosides ainsi que les acides phénoliques: acide p-coumarique et l'acide caféique [6].

III. L'espèce *Cytisus triflorus* L'Hérit

III .1. Description

Cytisus triflorus L, connue en Algérie sous le nom d'Igoulli. Cette espèce est répartie dans la région méditerranéenne, elle est très répandue dans les frontières montagneuses entre Bejaia et Tizi Ouzou [6].

Cytisus triflorus est un arbuste non épineux, rameux, atteignant plus de 2 m de haut. Feuilles pétiolées, très soyeuses, composées de 3 folioles, de forme ovale-elliptique, la médiane, plus grande, pouvant mesurer jusqu'à 3 cm. La floraison a lieu en mars-mai. Fleurs, dépassant 1,5 cm de long, pédicellées, généralement groupées par 3 à l'aisselle des feuilles supérieures. Petit calice à dents très courtes, souvent bordé de noir. Corolle jaune, à 5 pétales - dont l'étendard, dressé. Les fruits sont gousses étroites, velues, devenant noirâtres [8].



Figure (19) : Photos de la plante *Cytisus triflorus* : les fleurs , les feuilles.

III.2- Synonymes latins

- *Cytisus vilosuspourr*
- *Cytisus hirsutus*
- *Cytisus mollis*
- *Cytisus barcinonensis* [9].

III.3 Systématique de *Cytisus triflorus*

Tableau (8) : Position systématique de l'espèce *Cytisus triflorus* selon [10].

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Fabales
Famille	Fabaceae
Subfamille	Faboideae
Tribu	Genisteae
Genre	<i>Cytisus</i>
Espèce	<i>Cytisus triflorus</i>

III .4. Travaux antérieurs sur la famille des Fabacées

Les feuilles de cette plante grimpante de la famille des Fabacées, sont reconnues dans divers pays pour ses nombreuses vertus thérapeutiques en médecine traditionnelle. En Inde, ces feuilles sont utilisées pour guérir la fièvre, les troubles d'estomac, l'asthme et la bronchite. Les feuilles à goût sucré sont très prisées en Madagascar et au Sénégal dans le traitement de la toux, surtout la toux infantile [11].

L'espèce de la famille de fabacées possède plusieurs composés chimiques, mais les composés chimiques les plus présentés sont les : flavonoïdes, alcaloïdes, tannins, l'huile essentielle, les saponines, les terpénoïdes, coumarines et les quinones. Les parties aériennes sont les organes les plus utilisés [12].

La famille des Fabaceae est extrêmement riche en flavonoïdes, et celle des papilionacées est caractérisée par la présence d'isoflavones, de rétinolides d'anthocyanines et de flavonol glycosylés [13].

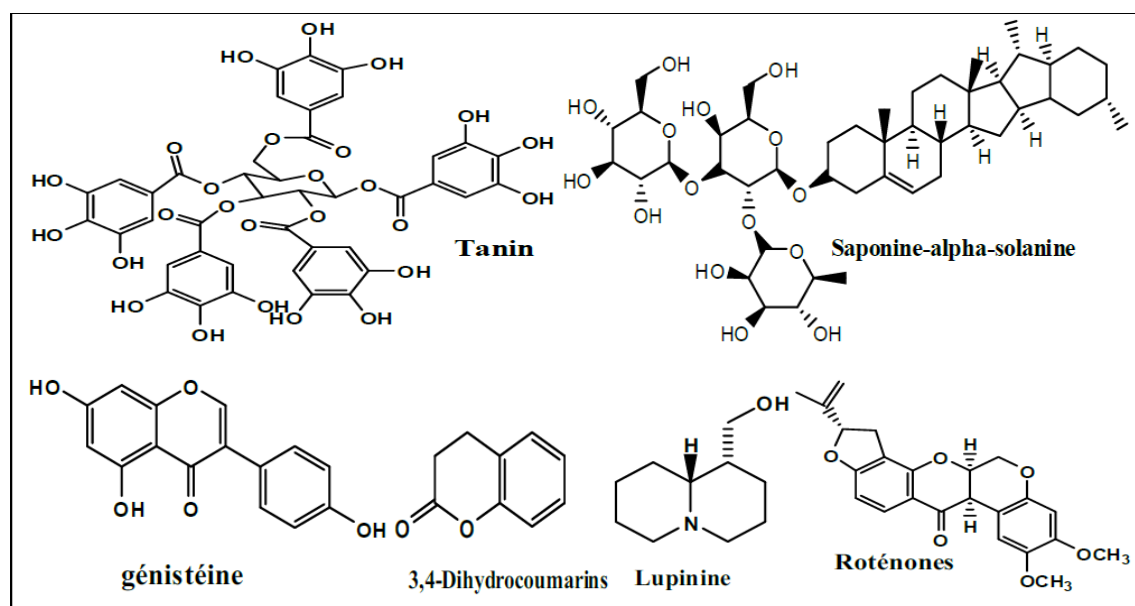


Figure (20) : Quelques exemples des produits obtenus à partir de la famille des fabacées

III.5.Travaux antérieurs sur le genre *Cytisus*

La plante *Cytisus triflorus* est largement utilisée dans la médecine traditionnelle en raison de ses activités bénéfiques mais malheureusement, un nombre très restreint des études pharmacologiques ont confirmé scientifiquement une partie d'ethno médical informations.

En raison de ses propriétés astringentes, antiseptiques et cicatrisation des plaies *Cytisus triflorus* est utilisé comme un cataplasme contre l'eczéma et les infections fongiques ou en combinaison avec de l'huile d'olive pour guérir les brûlures [14].

Elle est très connue également dans le Nord de l'Algérie pour ses propriétés médicinales dont elle est utilisée pour traiter les douleurs abdominales, comme cicatrisante de plaies, hémostatique et antifongique, de plus, ses feuilles agissent contre le maux des intestins, elles sont employées aussi comme « le henné » pour traiter et teindre les cheveux [15].

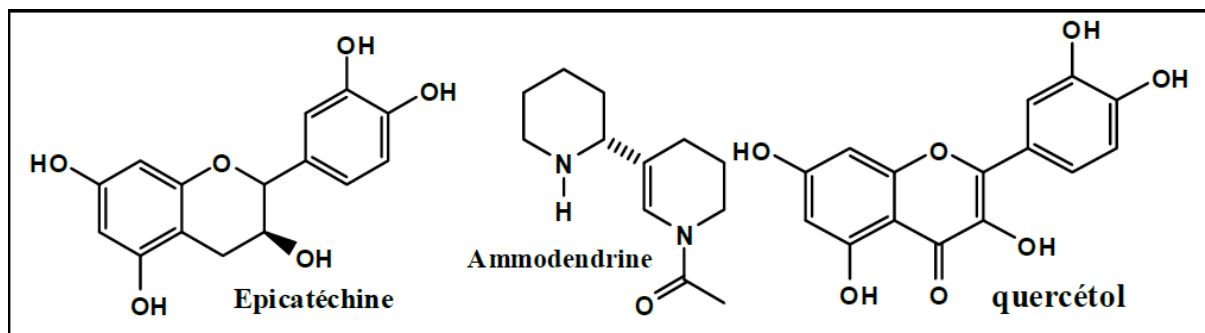


Figure (21) : Quelques exemples des produits obtenus à partir du genre *Cytisus*

Références bibliographiques

- [1] Wojciechowski, M. F., Lavin, M., & Sanderson, M. J. (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.
- [2] Dupont, F. & Guignard, J.L. (2007). *Abrégé de Botanique. 14ème édition*, Editions Masson Paris, p.285.
- [3] <http://www.mi-aime-a-ou.com/Fabaceae.php>
- [4] Andriamparany, J. N., Brinkmann, K., Jeannoda, V., & Buerkert, A. (2014). Effects of socio-economic household characteristics on traditional knowledge and usage of wild yams and medicinal plants in the Mahafaly region of south-western Madagascar. *Journal of ethnobiology and ethnomedicine*, 10(1), 1-21.
- [5] Couplan, F. (2012). *Les plantes et leurs noms: Histoires insolites*. Quae.
- [6] Madoui, S. (2018). *Activités biologiques des extraits de Cytisus Triflorus* (Doctoral dissertation).
- [7] <https://www.quelleestcetteplante.fr/genres.php?genre=Cytisus>
- [8] Aourahoun, K. A. K., Fazouane, F., Benayad, T., Bettache, Z., & Denni, N. (2014). The synthetic antioxidant butylated hydroxytoluene, a naturally occurring constituent of the broom *Cytisus triflorus* L'Hérit. *J Nat Prod*, 7, 58-64.
- [9] <https://quelle-est-cette-fleur.com/Fiches-botaniques/cytise-velu.php>
- [10] Auvray, G., & Malécot, V. (2013). A revision of *Cytisus* sections *alburnoides*, *spartopsis* and *verzinum* (Genisteae, Fabaceae). *Edinburgh Journal of Botany*, 70(1), 61.
- [11] Lebri, M., Bahi, C., Fofie, N. B. Y., Gnahoue, G., Lagou, S. M., Achibat, H., ... & Khouili, M. (2015). Analyse phytochimique et évaluation de la toxicité aiguë par voie orale chez des rats de l'extrait total aqueux des feuilles de *Abrus precatorius* Linn (Fabaceae). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(3), 1470-1476.
- [12] Chebli, B., Hassani, L. M. I., & Hmamouchi, M. (2001). Acides gras et polyphénols des graines d'*Ononis natrix* L.(Fabaceae) de la région d'Agadir, Maroc. *Acta botanica gallica*, 148(4), 333-340.
- [13] Mokhtari, M. (2012). Etude phytochimique de la plante *calycotomespinosa*.link, Magister en chimie organique, Université El- Hadj Lakhder Batna, Faculté des sciences. 2012

- [14] Hamdi Pacha, Y., Belkhiri, A., Benazzouz, M., Benhamza, L., & Bensegueni, L. (2002). Evaluation de l'activité cicatrisante suite à des brûlures expérimentales de quelques plantes algériennes. *Revue Méd. Pharm. Afri*, 16, 1-7.
- [15] Aourahoum, K. A. K., Fazouane, F., & Benayache, S. (2015). Pharmacological potential of *Cytisus triflorus* l'Hérit. Extracts as antioxidant and anti-inflammatory agent. *Pharma Lett*, 7, 104-10.

Chapitre IV

Activité biologique

I. Activité antioxydant

I.1. Introduction

La flore algérienne regorge de plusieurs espèces de plantes encore peu ou pas étudiées, mais dotées de réelles propriétés pharmacologiques [1, 2, 3]. Leur rôle d'antioxydants naturels suscite un très grand intérêt, notamment pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires et cardiovasculaires [4].

I.2. Définition

Toute substance présente à faible concentration par rapport au substrat oxydable, qui est capable de retarder, prévenir, neutraliser ou de réduire les dommages de l'oxydation causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques d'ERO [5].

I.3. Le stress oxydant

Le stress oxydant correspond à un déséquilibre entre la génération d'espèces oxygénées activées (EOA) et les défenses antioxydants de l'organisme, en faveur des premières. Notre mode de vie (tabagisme, alcoolisme, obésité, exercice physique intense), mais aussi nos mauvaises habitudes alimentaires, augmentent de façon anormale la production des EOA dans notre organisme. A long terme, ceci peut contribuer à l'apparition de diverses pathologies liées au vieillissement comme les cancers ou les maladies cardio-vasculaire [6].

I.4. Radicaux libres

Les radicaux libres sont des composés caractérisés par une structure électronique déséquilibrée qui leur confère une grande réactivité [7].

La principale voie de production des radicaux libres est la rupture symétrique d'une liaison covalente en deux entités possédant chacune un électron, les autres étant l'élimination ou l'addition d'un électron [8]. En biologie, les radicaux libres sont des dérivés réactives de l'oxygène. En effet, les principaux radicaux libres entrant dans les processus physiopathologiques humains sont les radicaux super oxydes (O_2^-) et hydroxyles ($OH\cdot$), et d'autre dérivés de l'oxygène [9].

Les radicaux libres peuvent être d'origine endogènes c'est-à-dire, ils sont produits naturellement par notre organisme, en majorité, au niveau des chaînes respiratoires mitochondriales des cellules des organismes aérobies, lors de la transformation des nutriments en énergie. Cependant, ils peuvent aussi provenir de sources extérieures (origine exogène) comme le tabac, l'exposition aux UV, la pollution, pesticides, [8].

Dans les systèmes vivants, la production des radicaux libres oxygénés se fait de manière continue et leur présence a des conséquences potentiellement graves pour la cellule, mais l'organisme possède des systèmes de défense très efficaces, les antioxydants [9,10].

I.4.1. Mécanisme de l'oxydation

L'oxydation est générée par des radicaux libres, espèces chimiques neutres ou chargées instables qui ne cherchent qu'à récupérer un électron dans leur environnement pour retrouver un état plus stable. Ces deux propriétés font que les réactions d'oxydation sont très rapides et se propagent en cascade [11].

I.5. Les antioxydants

I.5.1. Définition

Un antioxydant est une substance qui inhibe ou retarde significativement l'oxydation d'un substrat, alors qu'elle présente une concentration très faible dans le milieu où elle intervient [12]. Ces antioxydants peuvent être de deux natures différentes: des systèmes enzymatiques et des systèmes non enzymatiques [13].

Donc, pour se protéger des effets délétères des espèces oxygénées activées (EOA), l'organisme dispose d'un ensemble complexe de défenses antioxydantes. On distingue deux sources d'antioxydants: l'une est apportée par l'alimentation sous forme de fruits et légumes riches en vitamines C, E, caroténoïdes, ubiquinone, flavonoïdes, glutathion ou acide lipoïque; l'autre est endogène et se compose d'enzymes (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, catalase), de protéines (ferritine, transferrine, céruléoplasmine, albumine) et de systèmes de réparation des dommages oxydatifs comme les endonucléases. A cela s'ajoutent quelques oligoéléments comme le sélénium, le cuivre et le zinc qui sont des cofacteurs d'enzymes antioxydantes [14]. Ces divers antioxydants ont des mécanismes de défense antioxydante différents, pour préserver le bon fonctionnement de la cellule, parce que lorsque les défenses antioxydantes sont affaiblies ou dépassées, le stress oxydatif peut provoquer l'inactivation enzymatique et la peroxydation lipidique [12,15,16,17].

I.5.2. Mécanismes d'action des antioxydants

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulier, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes ainsi que la chélation des métaux de transition [18]. D'une manière générale, un antioxydant peut empêcher l'oxydation d'un autre substrat en s'oxydant lui-même plus rapidement que celui-ci. Un tel effet résulte d'une structure de donneurs d'atome d'hydrogène ou d'électrons souvent aromatiques, cas de dérivés du phénol [19].

En plus, leurs radicaux intermédiaires sont relativement stables du fait de la délocalisation par résonance et par manque de positions appropriées pour être attaqué par l'oxygène moléculaire [20].

I.5.3. Les utilisations des antioxydants

- L'industrie des matières plastiques : des additifs sont utilisées pour protéger les polymères de l'oxygène de l'air.
- L'activité éventuelle de molécules médicamenteuses déjà connues, qui présentent les avantages d'une biodisponibilité et de paramètres pharmacocinétiques et toxicologiques déjà bien connus.
- Sont concernées par l'utilisation dans l'industrie alimentaire.
- L'industrie de lubrifiants : elle produit notamment les huiles pour moteurs et transmissions automobiles.
- L'industrie cosmétique : les molécules utilisées sont plus ou moins les mêmes que dans l'industrie alimentaire [21].

I.6. Méthode d'évaluation de l'activité antioxydante

Plusieurs méthodes sont utilisées pour la détermination de l'activité antioxydant, nommées d'après le nom de la substance utilisée comme source de radicaux libres. Par exemple :

- ✓ FRAP (Ferric reducing antioxidant power),
- ✓ ORAC (oxygen radical absorbance capacity),
- ✓ TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity),
- ✓ ABTS (2,2-azinobis 3 -ethyl-benzothiazoline 6-sulphonate)
- ✓ DPPH⁺ (2,2- diphényl-1-picrylhydrazyl) ...etc.

Il est à indiquer que différentes méthodes donnent des résultats assez différents et devaient être appliquées préférentiellement pour la comparaison de produits similaires [22].

I.6.1. Test au DPPH

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle fut l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité antioxydant des composés phénoliques [23,24].

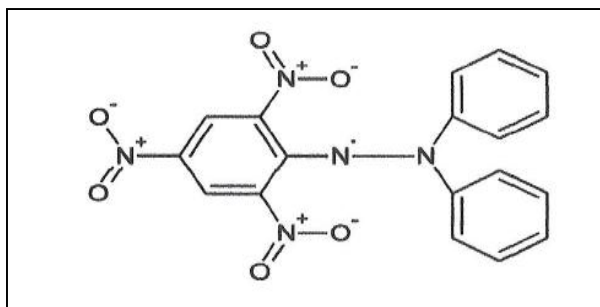


Figure (22) : Structure chimique du radical libre DPPH [25].

➤ Principe

La molécule de 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH[·]) est un radical libre stable, dont la solution possède une coloration violette et une absorption caractéristique à 517 nm. Quand une solution de DPPH[·] est mélangée avec une substance donneuse d'atomes d'hydrogène, antioxydante, il y a formation de la forme réduite (Figure). Ceci provoque la perte de la coloration violette et l'apparition d'une coloration jaune caractérisée par une bande d'absorption dans le visible à 517 nm [23].

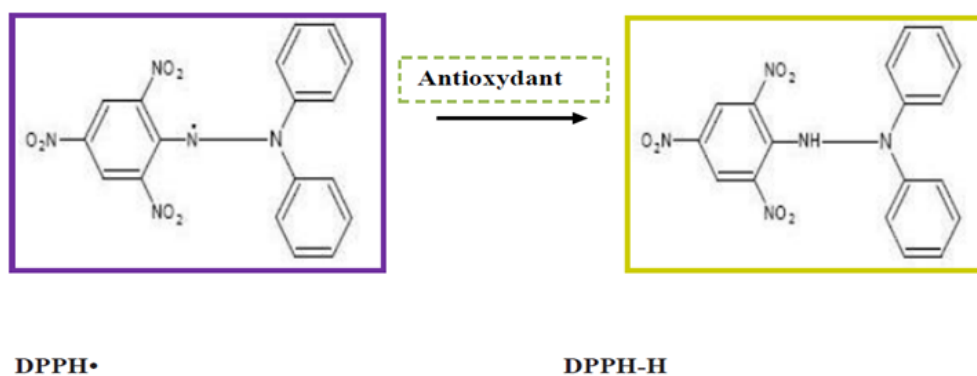


Figure (23) : Structure chimique du radical DPPH[·] et de sa forme réduite [26].

Références bibliographies

- [1] **Bnouham M, Mekhfi H, Legssyer A, Ziyat A (2002)**. Medicinal plants used in the treatment of diabetes in Morocco. *Int J Diabetes Metab* 10: 33–50
- [2] **Gonzalez-Tejero MR, Casares-Porcel M, Sanchez-Rojas CP, et al. (2008)**. Medicinal plants in the Mediterranean area: synthesis of the results of the project Rubia. *J Ethnopharmacol* 116: 341–57
- [3] **Graham JG, Quinn ML, Fabricant DS, Farnsworth NR (2000)**. Plants used against cancer extension of the work of Jonathan Hartwell. *J Ethnopharmacol* 73: 347–77
- Abdelwahed, A., Bouhleb, I., Skandrani, I., Valenti, K., Kadri, M., Guiraud, P., ... & Chekir-Ghedira, L. (2007). Study of antimutagenic and antioxidant activities of Gallic acid and 1, 2, 3, 4, 6-pentagalloylglucose from *Pistacia lentiscus*: Confirmation by microarray expression profiling. *Chemico-biological interactions*, 165(1), 1-13.
- [4] **Touaibia, M., & Chaouch, F. Z. (2014)**. Evaluation de l'activité anti-oxydante des extraits aqueux, méthanolique et éthanolique de l'espèce saharo-endémique *Myrtus nivellei* Batt et Trab.(Myrtaceae)[Evaluation of the antioxidant activity of aqueous, methanolic and ethanolic extracts of the Sahara-endemic species *Myrtus nivellei* Batt and Trab.(Myrtaceae)]. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 6(3), 407.
- [5] **Vansant, G. (2004)**. Radicaux libres et antioxydants: principes de base. In *Symposium «Antioxydants et alimentation»*. Institut Danone.
- [6] **Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007)**. Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10), 628-38.
- [7] **Aurousseau, B. (2002)**. Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage: conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits.
- [8] **Tessier, F., & Marconnet, P. (1995)**. Radicaux libres, systèmes antioxydants et exercice. *Science & sports*, 10(1), 1-13.
- [9] **Goudable, J., & Favier, A. (1997)**. Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition clinique et métabolisme*, 11(2), 115-120.
- [10] **Costa, V., & Moradas-Ferreira, P. (2001)**. Oxidative stress and signal transduction in *Saccharomyces cerevisiae*: insights into ageing, apoptosis and diseases. *Molecular aspects of medicine*, 22(4-5), 217-246.
- [11] **Rolland, Y. (2004)**. Antioxydants naturels végétaux. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, 11(6), 419-424

- [12] Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. (1990). The antioxidants of human extracellular fluids. *Archives of biochemistry and biophysics*, 280(1), 1-8.
- [13] Lerverve, X. (2009). Stress oxydant et antioxydants. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 44(5), 219-224.
- [14] Haleng J., Pincemail J., Defraigne J. O., Charlier C. & Chapelle J. P. (2007). Le stress oxydant. *Rev Med Liege*62, 628-638
- [15] Farombi, E. O., Adelowo, O. A., & Ajimoko, Y. R. (2007). Biomarkers of oxidative stress and heavy metal levels as indicators of environmental pollution in African cat fish (*Clarias gariepinus*) from Nigeria Ogun River. *International journal of Environmental research and Public health*, 4(2), 158-165.
- [16] Mélila, M., Poutouli, W., Amouzou, K. S., Gado, T., Tchao, M., & Doh, A. (2012). Évaluation de l'impact du rejet des déchets phosphates dans la mer sur la biodiversité marine dans trois localités côtières au Togo à partir des biomarqueurs du stress oxydatif chez *Sphyraena barracuda* (HECKEL, 1843). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 6(2), 820-831.
- [17] Yildirim, N. C., Benzer, F., & Danabas, D. (2011). Evaluation of environmental pollution at Munzur River of Tunceli applying oxidative stress biomarkers in *Capoeta trutta* (Heckel, 1843). *J. Anm. Plant Sci*, 21(1), 66-71.
- [18] Berkelhamer, S. K., Kim, G. A., Radder, J. E., Wedgwood, S., Czech, L., Steinhorn, R. H., & Schumacker, P. T. (2013). Developmental differences in hyperoxia-induced oxidative stress and cellular responses in the murine lung. *Free Radical Biology and Medicine*, 61, 51-60.
- [19] Zhang, D. X., & Gutterman, D. D. (2007). Mitochondrial reactive oxygen species-mediated signaling in endothelial cells. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 292(5), H2023-H2031.
- [20] Pisoschi, A. M., & Pop, A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European journal of medicinal chemistry*, 97, 55-74.
- [21] Hennebelle, T. (2006). *Investigation chimique, chimiotaxonomique et pharmacologique de Lamiales productrices d'antioxydants: Marrubium peregrinum, Ballota larendana, Ballota pseudodictamnus (Lamiacées) et Lippia alba (Verbenacées)* (Doctoral dissertation, Lille 1).
- [22] Georgieva, S., Boyadzhiev, L., & Angelov, G. (2010). Caractérisation des vins bulgares par leur capacité antioxydante.
- [23] Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.

[24] Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199-1200

[25] Popovici C., SAYKOVA I., TYLKOWSKI B., (2009). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie Industriel*. (4) :8p.

[26] Endo, T., Fukunaga, T., Yoshimura, T., & Esumi, K. (2006). Scavenging DPPH radicals catalyzed by binary noble metal–dendrimer nanocomposites. *Journal of colloid and interfacescience*, 302(2),516-521.

**Deuxième
partie**

**Partie
expérimentale**

Matériels et méthodes

Introduction

La partie expérimentale a été réalisée dans le laboratoire de chimie organique du département de chimie à l'université de Jijel, notre travail repose sur l'étude de la composition chimique des métabolites secondaires et des huiles essentielles extraits à partir de l'espèce *Cytisus triflorus* qui est une plante médicinale appartenant à la famille des fabacées.

1. Etude chimique des métabolites secondaires

1.1. Matière végétale

1.1.1. Récolte de la plante

L'espèce *Cytisus triflorus* a été récoltée de la région d'oudjana daïra de Taher, Wilaya de Jijel.

1.1.2. Conservation

Les feuilles de la plante (la partie aérienne) sont bien nettoyées et séchées à l'air libre et à l'abri de la lumière.



Figure(24) : Espèce *Cytisus triflorus*

1.2- Etude chimique

1.2.1- Extraction des métabolites secondaires

Cette étape consiste à extraire le maximum de métabolites secondaires contenus dans les feuilles de la plante séchée, en utilisant des solvants organiques volatils adéquats, qui augmentent le rendement d'extraction.

1.2.2- Extraction liquide- liquide

Cette étape repose sur la spécificité, la différence de polarité et la densité, entre les solvants organiques utilisés et les métabolites secondaires extraits, ce qui permet la séparation des métabolites secondaires en trois types de familles de composés : composés apolaires, moyennement polaires et polaires.

1.2.3- Protocole d'extraction

Après séchage, les feuilles de l'espèce *Cytisus triflorus* (100 g) ; ont été soumises à une macération à la température ambiante dans un milieu hydro-alcoolique (mélange Ethanol/Eau ; 70/30) pendant 24 heures cette opération est répétée 3 fois, par la suite on procède à une filtration. Le filtrat obtenu est porté au rotavapor pour une éventuelle concentration.

Après la filtration et concentration de la solution, on ajoute 250 ml de l'eau distillée et on procède à des extractions successives (épuisement par des solvants), dans une ampoule à décanter de 500 ml, en utilisant des solvants de polarité croissante : le chloroforme, l'acétate d'éthyle et ensuite le n-butanol, en utilisant a chaque fois 250 ml de chaque solvant, l'opération est répétée deux fois.

- ✓ épuisement par le chloroforme (CHCl₃) : obtention de la phase chloroformique.
- ✓ épuisement par l'acétate d'éthyle (AcOEt) : obtention de la phase acétate.
- ✓ épuisement par le n-butanol: obtention de la phase n-butanolique.

Les 03 extraits sont évaporés à sec et pesés, donnant les résultats cités dans le tableau(9) :

Tableau (9): Résultats obtenus des extraits

Matière végétale	Extrait	Masse	Rendement
100 g	Chloroforme	3,10 g	3,10%
	Acétate d'éthyle	1,20 g	1,20 %
	n-butanol	14,09 g	14,09%



Figure (25) : Evaporation des trois phases



Figure (26) : Extraction par solvant (décantation)



Figure (27) : Les trois extraits

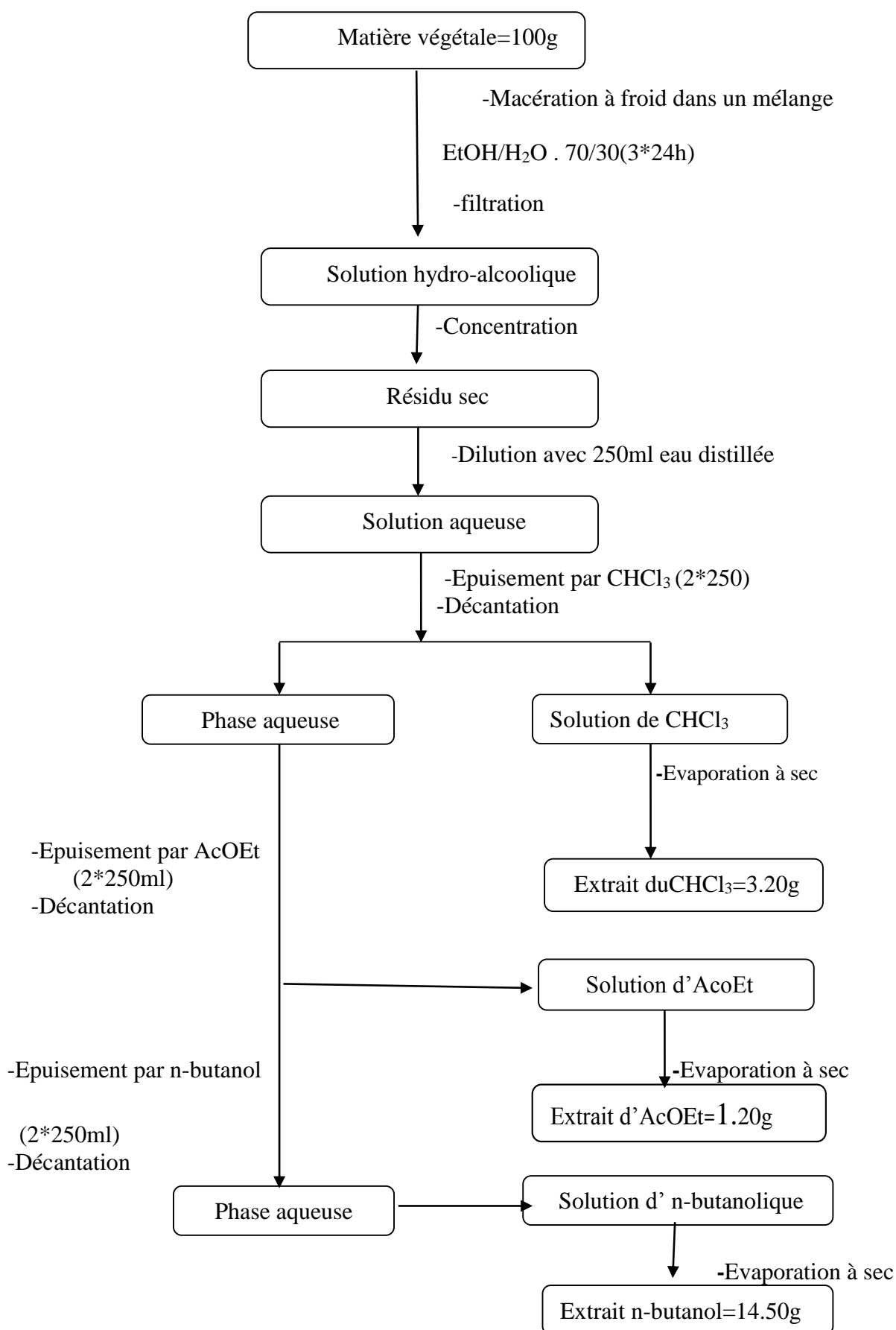


Figure (28) : Protocole d'extraction des métabolites secondaires.

III. Méthodes chromatographique de séparation et purification

La chromatographie englobe une série de techniques qui ont en commun la séparation des composants d'un mélange. L'échantillon à séparer est entraîné par un courant de phase mobile (gaz ou liquide) le long d'une phase stationnaire (papier ou silice...). La chromatographie analytique est utilisée pour identifier ou doser les composés chimiques d'un mélange. La chromatographie préparative est utilisée pour séparer ou purifier les composantes d'un mélange [1].

III.1. Chromatographie sur couche mince

a. Principe

Il repose sur la séparation des substances chimiques par migration et adsorption sur un support ou phase stationnaire polaire, dans une phase mobile ou éluant, en fonction de leur nature, du pouvoir éluant de la phase mobile, du pouvoir adsorbant du support [2].

b. Protocole de CCM sur gel de silice

Phase stationnaire : plaque en aluminium recouverte de gel de silice.

Phases mobiles : cyclohexane/ AcO Et à différents pourcentages.

Chloroforme/Méthanol à différents pourcentages

Le but de cette opération est la recherche d'un bon système de séparation.

Pour cela on a pris des petites plaques CCM sur lesquelles on 'a déposé de petites quantités des phases extraites préalablement dissoutes dans une petite quantité de solvant. les plaques sont ensuite introduites dans une cuve contenant le système d'élution.

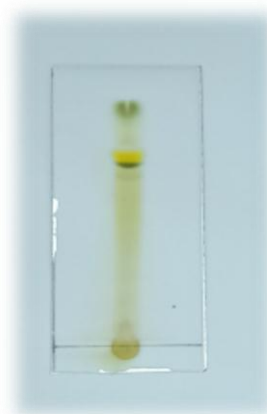
La visualisation des plaques est effectuée sous une lampe UV, en utilisant deux longueurs d'onde : 365nm et 254nm.

c. Les essais de caractérisation par chromatographie sur couche mince (CCM)

Les 3 phases obtenues à savoir la phase chloroformique, la phase acétate d'éthyle et la phase n-butanolique ont été soumis à l'analyse phytochimique par chromatographie sur couche mince (CCM). Cette analyse nous a permis d'avoir une idée sur la richesse de chaque phase en métabolites secondaires.



Phase acétate d'éthyle
Système : (cyclohexane/AcOEt : 2 /7)



Phase chloroformique
Système : (CHCl₃/MeOH : 14/1)

Figure (29) : Les tests chromatographiques des phases récupérées.

III.2. Chromatographie sur colonne

a. Principe

Le but est toutefois différent ; la chromatographie sur colonne sert à séparer des produits, ou à purifier un produit de réaction. C'est la méthode standard de purification dans un laboratoire de chimie organique. C'est une méthode préparative, elle permet de purifier 50mg à environ 20g en laboratoire, et jusqu'à 1 kg en industrie [3]. La chromatographie sur colonne est une méthode de séparation des constituants d'un mélange par migration dans un dispositif constitué de deux phases :

La phase stationnaire: C'est le support solide, qui est la colonne contenant une quantité calculée de gel silice préparée sous forme de bouillie dans un solvant adéquat.

La phase mobile: Représente le solvant d'élution utilisé qui est en général un mélange de deux solvants, l'un polaire et l'autre apolaire.

b. Séparation sur colonne de gel de silice de la phase acétate d'éthyle

Après une série d'essai réalisés par la CCM dans le but d'obtenir le bon système de séparation des différents composants des métabolites secondaires de l'espèce *Cytisus triflorus* ; on a constaté que le mélange (cyclohexane/acétate d'éthyle) (2:7) était le meilleur système d'élution pour la phase acétate d'éthyle.

La dissolution de 0,62g de l' extrait acétate d'éthyle dans le cyclohexane s'est avérée non totale, alors on 'a procédé à une adsorption sur gel de silice et ceci par l'ajout d' une quantité de gel de silice suivi par l'élimination du solvant d'où l'obtention d'une poudre contenant l'extrait adsorbé.

Ce dernier est introduit dans la colonne de gel de silice préparée préalablement dans le cyclohexane.

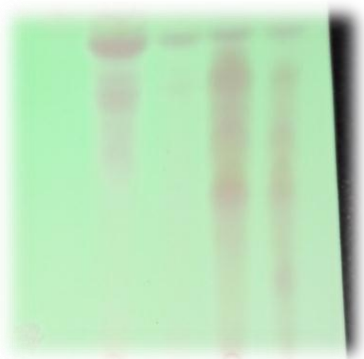


Figure (30) : Séparation par chromatographie sur colonne.

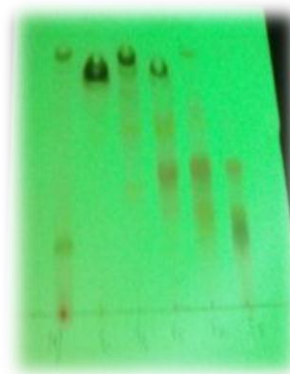
Cet extrait est fractionné avec le gradient (cyclohexane/acétate d'éthyle). A chaque fois des fractions de 25 ml sont recueillies, puis concentrées par évaporation à sec. Le suivi de ces fractions a été réalisé par chromatographie sur couche mince (CCM), les plaques sont visualisées sous la lumière UV (254 nm et 365nm).



Figure (31) : Les différentes fractions issues de la colonne



Système : (cyclohexane/AcOEt : 2 /7)



Système : (cyclohexane/AcOEt : 2 /7)

Figure(32) : Plaques CCM de différentes fractions issues de la colonne

Les 12 fractions récupérées de la colonne sont rassemblées dans le tableau (10):

Tableau (10) : Résultats du fractionnement par chromatographie sur colonne de gel de silice de l'extrait acétate d'éthyle de l'espèce *C .triflorus*

Erlens (25ml)	Fractions	Système d'élution		observation
		cyclohexane	Acétate d'éthyle	
1-10	F ₁	100%	0%	Rien
11-16	F ₂	95%	5%	Mélange séparable
17-22	F ₃	90%	10%	Mélange séparable
23-28	F ₄	80%	20%	Mélange séparable avec un produit majoritaire
29-30	F ₅	70%	30%	Mélange complexe
31-33	F ₆	60%	40%	Mélange complexe
34-35	F ₇	50%	50%	Mélange séparable (plusieurs taches)
36	F ₈	40%	60%	Mélange complexe
37-38	F ₉	30%	70%	Mélange séparable
39-41	F ₁₀	20%	80%	Mélange complexe
42-48	F ₁₁	90%	10%	Mélange séparable
49-54	F ₁₂	100%	0%	Mélange séparable (plusieurs taches)

c. Séparation des constituants de la fraction 4

On a observé que la fraction F₄ est un mélange contenant quatre taches bien séparées, donc on a procédé à une éventuelle séparation sur plaques préparatives de gel de silice L'opération a été réalisée avec le même système d'élution précédent, qui est le mélange (cyclohexane/ Acétate d'éthyle) aux proportions (2 :7) ; Après séparation et purification on a obtenu un composé pur F_{4,1}.

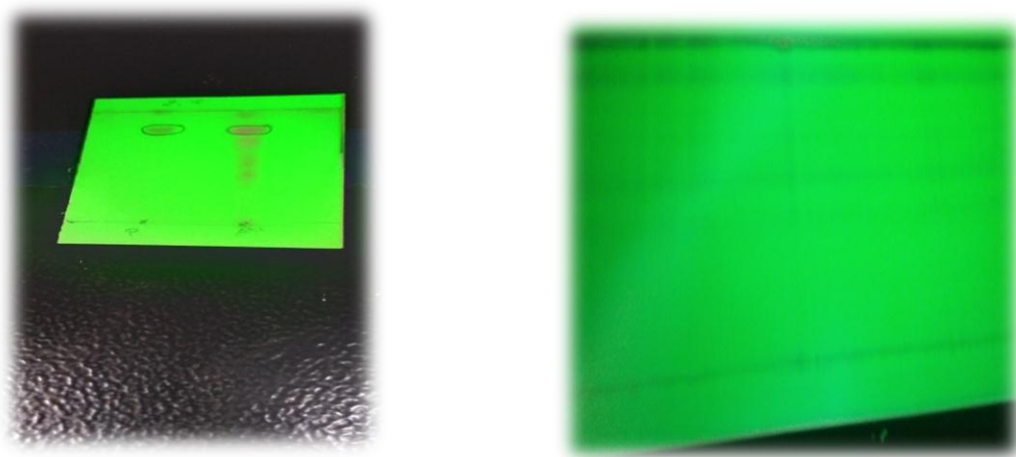


Figure (33) : Plaques CCM de la fraction F₄ issue de la colonne et le composé pure F_{4,1}.

III.3. Dosage des polyphénols totaux

III.3.1. Principe

Le réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration produite, dont l'absorption maximale est comprise 760 nm est proportionnelle à la quantité de poly phénols présents dans les extraits végétaux [4].

III.3.2. Mode opératoire

Dans un tube à essai, 0,5 ml de l'extrait (1mg/ml) a été introduite , 2,5 ml de Folin - Ciocalteu (10%) a été ajouté, ainsi que 2,5 ml de bicarbonates de sodium (Na₂CO₃) (7,5%). Laisse Incuber pendant 30 minutes à 4° C. Lire l'absorption au spectrophotomètre UV ($\lambda = 760$ nm).

III.3.3. Expression des résultats

La concentration des polyphénols totaux a été déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue à différentes concentrations en acide gallique (mg/g) suivant le même protocole de dosage des polyphénols exprimé en mg équivalent d'acide gallique par gramme de l'extrait sec (mg EAG/g Extrait sec).

III.4. Dosage des flavonoïdes totaux

III.4.1. Principe

L'estimation de la teneur en flavonoïdes totaux contenus dans les extraits de la plante, est réalisée par la méthode chlorométrique. Dont le principe, repose sur la capacité des flavonoïdes à former des complexes de couleur jaune avec le trichlorure d'aluminium (AlCl_3), l'absorbance est mesurée par un spectrophotomètre UV à 510 nm [5].

III.4.2. Mode opératoire

0,5 ml de l'extrait (1 mg/ml) ajouté été dans un tube à essai, avec 2 ml d'eau distillée, 150 μl de nitrite de sodium a été ajouté, laisser reposer 6 minutes, 150 μl de (AlCl_3) (10%) a été ajouté, puis laisser reposer 6 minutes, rajoute 2 ml de NaOH avec 200 μl d'eau distillée. Laisse le mélange au repos pendant 15 minutes.

Lire l'absorption au spectrophotomètre UV ($\lambda = 510 \text{ nm}$).

III.4.3. Expression des résultats

La teneur en flavonoïdes est déterminée par référence à une courbe d'étalonnage linéaire obtenue avec différentes concentrations (mg/g) de la quercétine utilisée comme standard. La teneur en flavonoïde est exprimée en milligramme d'équivalent de Quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g Extrait sec).

IV. Evaluation de l'activité antioxydant au test de piégeage du radicale DPPH

a. Principe

La molécule de 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) est généralement le substrat le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicale libre et la simplicité de l'analyse. La réduction des radicaux DPPH en 2,2 diphényl-1-picryl hydrazine (DPPH, H) par un agent antioxydant entraîne une décoloration de la solution. Cette décoloration met en évidence le pouvoir antioxydant d'un échantillon par sa capacité de piéger le radical libre et se traduit par une diminution de l'absorbance à 515 nm [6].

b. Mode opératoire

Préparation d'une solution du DPPH à 60 $\mu\text{mol/l}$ à l'avance (1 heure) car la solubilisation est difficile. On dissout 2,32mg du DPPH dans 100ml de EtOH, puis on fait l'agitation pendant 1h à 4°C à l'obscurité.

50 μl de chaque solution éthanolique des différents extraits à différentes concentrations sont ajoutés à 1950 μl d'une solution éthanolique de DPPH, un blanc a été préparer on parallèle, en mélangeant 50 μl de l'éthanol avec 1950 μl d'une solution éthanolique de DPPH à la même concentration utilisée, en ce qui concerne le contrôle négatif.

Après incubation à l'obscurité pendant 30 minutes dans le bain à ultrasons, l'activité anti-radicalaire des extraits *vis-à-vis* du radical DPPH• a été évaluée par spectrophotométrie UV-Visible en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à 515nm. En calculant pour chaque concentration le pourcentage d'inhibition correspondant (PI%), qui est donné selon la formule suivante :

$$PI\% = [(A_{\text{control}} - A_{\text{extrait}} / A_{\text{control}}) \times 100].$$

A_{control} : Correspond à l'absorbance de la solution (DPPH) sans antioxydant après le temps de réaction.

A_{extrait} : Correspond à l'absorbance de la solution d'échantillon avec DPPH après le temps de réaction.

Puis on peut tracer la courbe, qui représente la variation du pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations de l'extrait. Cela permet de déterminer l'IC₅₀, la concentration de l'extrait nécessaire pour l'obtention de 50% de forme réduite du radical DPPH. Il faut rappeler que plus la valeur d'IC₅₀ est petite, plus l'activité antioxydant des extraits est grande.

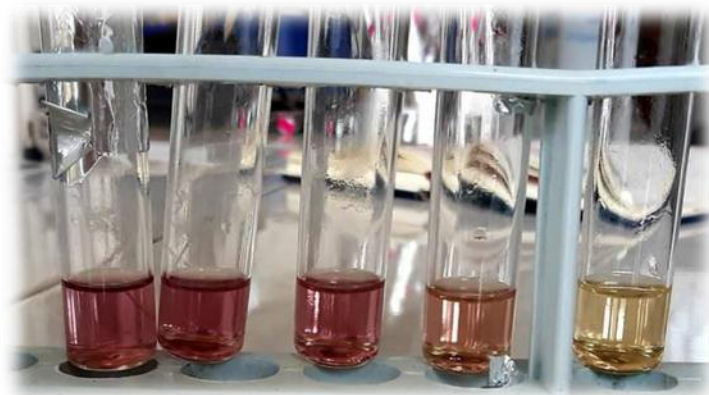


Figure (34) : Test d'activité antioxydant par la réduction du radical DPPH.

V. Étude chimique des huiles essentielles

V.1. Procédé d'extraction des huiles essentielles

Le procédé d'extraction des huiles essentielles que nous avons adopté dans ce travail de mémoire de fin d'études est l'hydrodistillation vu que c'est une méthode très simple, très pratique et très rapide.

Pour cela 100g de matière végétale mélangée avec 500ml d'eau distillé sont introduites dans un ballon rond de 1000ml, le mélange est chauffé jusqu'à ébullition pendant 3h. Les vapeurs chargées d'huiles se condensent en traversant un réfrigérant, et le condensat obtenu est récupérée dans une

ampoule à décanter, sachant que l'eau et l'huile se séparent par différence de densité. Les huiles essentielles sont conservées dans un flacon en verre opaque à 4°C à l'abri de la lumière.



Figure (35) : Montage d'hydrodistillation

V.2. Calcul du rendement

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre la masse de l'huile essentielle extraite et la masse de la plante sèche traitée. Le rendement en pourcentage (R %) est calculé par la formule

$$\text{suivante : } R\% = \frac{m_{HE}}{m_p} \times 100$$

Ou R: rendement d'huile essentielle en %

m_{HE} : C'est la masse de l'huile essentielle extrait en g.

m_p : C'est la masse de la plante traitée en g.

V.3. Analyse chromatographique de la composition chimique des HE

L'analyse de la composition chimique des huiles essentielles, extraites des plantes, a été effectuée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-MS). Le couplage de la chromatographie en phase gazeuse à la spectrométrie de masse est une technique d'analyse qui possède plusieurs atouts : le chromatogramme en phase gazeuse permet de séparer les constituants d'un mélange. Le spectromètre de masse associé permet d'obtenir le spectre de masse de chacun des constituants et bien souvent de les identifier [7].

a. Principe

Les constituants de l'échantillon à analyser sont d'abord séparés sur colonne de la CPG, puis introduits séparément dans le spectre de masse où se passe la fragmentation des molécules. Cette fragmentation se produit lors d'un bombardement sous vide par des électrons d'énergie contrôlée. La séparation des ions ainsi formés, faite selon leur rapport masse/charge dans un tube analyseur, constitue le principe de base de la spectrométrie de masse

b. Condition opératoire :

Les conditions opération de l'analyse CG-MS de la composition de H.E, sont :

- ✓ CG-MS Shimadzu QP2010 de type EI70ev quadripôle
- ✓ Colonne OV1701 (25m)
- ✓ Gaz vecteur : Hélium
- ✓ Volume injecté : 1 μ l
- ✓ Température de la colonne : 70°C
- ✓ Température d'injection : split

Références bibliographiques

- [1] **Koné, K. P. F. O. (2018).** *Applications des techniques de chromatographie et de spectroscopie dans l'identification des métabolites secondaires de trois plantes antidiabétiques et antihypertensives de la pharmacopée ivoirienne* (Doctoral dissertation, Institut National Polytechnique Felix Houphoët Boigny-Yamoussoukro).
- [2] **Jazy, M. A., Haïdara, M., & Sanogo, R. (2018).** Chromatographie sur couche mince et activité antiradicalaire d'extraits de *Pupalia Lappacea* (L.) Juss. Amaranthaceae. *European Scientific Journal, ESJ*, 14(3), 140.
- [3] **www.zysmancolman.com/courses/chm302/Chromatographie%20sur%20colonne.pdf**
- [4] **Boizot, N., & 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*, 79-82.
- [5] **Figueroa, L. A., Navarro, L. B., Vera, M. P., & Petricevich, V. L. (2014).** Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid contents, and cytotoxicity evaluation of *Bougainvillea xbuttiana*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(5), 497-502.
- [6] **Bougandoura, N., & Bendimerad, N. (2013).** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. *Nature & Technology*, (9), 14.
- [7] **Aissaoui, A. B., El Amrani, A., Zantar, S., & Toukour, L. (2018).** Activité Acaricide des huiles essentielles du *Mentha Pulegium*, *Origanum Compactum* et *Thymus Capitatus* sur l'acarien phytophage *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *European Scientific Journal*, 14(3), 118

Résultats et discussion

1. Extraction liquide-liquide

Cette étape repose sur la spécificité et la polarité des solvants organiques utilisés :

- Épuisement par le chloroforme : qui est un solvant organique apolaire, entraîne souvent les composés apolaires.
- Épuisement par l'acétate d'éthyle : qui est un solvant moyennement polaire, extrait généralement les molécules moyennement polaires.
- Épuisement par le n-butanol : qui est un solvant polaire, entraîne essentiellement les composés polaires

1.1. Le rendement des extraits des trois phases

Les trois extraits récupérés après évaporation à sec, ont été pesés pour déterminer la masse sèche obtenue, les résultats sont donnés dans la figure (36) :

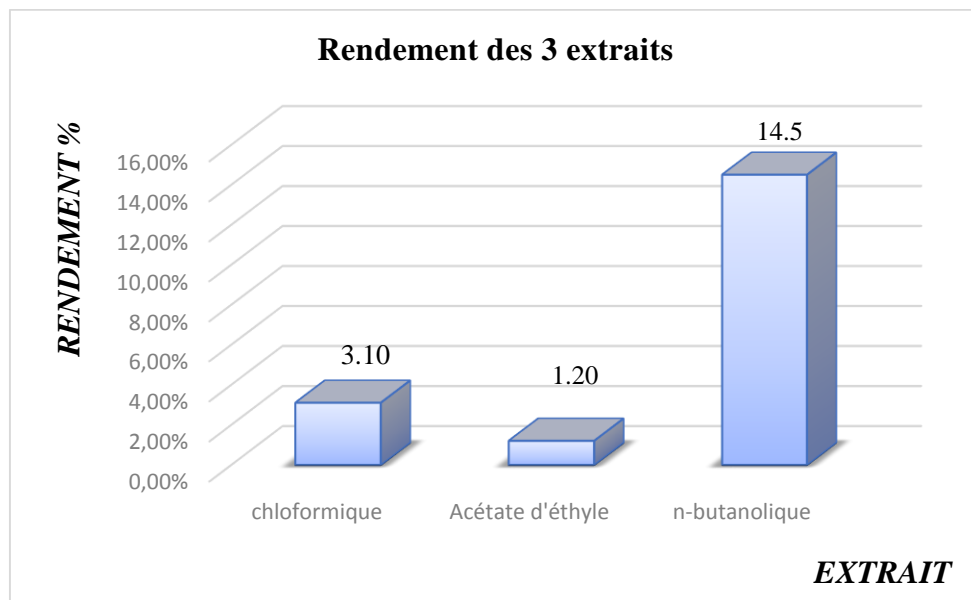


Figure (36) : Graphique représentatif du rendement des trois extraits

Il est difficile de comparer les résultats de chaque phase, car le rendement dépend de la richesse de la plante et aussi le moment de la récolte, ainsi que les conditions opératoires de l'extraction effectuée.

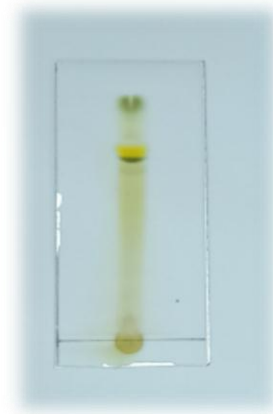
D'après les résultats obtenus, on constate que l'extrait n-butanolique présente le rendement le plus élevé, donc il est le plus riche en métabolites secondaires, puis l'extrait chloroformique et enfin l'extrait d'acétate qui est le moins riche.

1.2. Résultats de la chromatographie sur couche mince de l'extrait CHCl_3 et d'AcOEt

Après plusieurs essais des systèmes d'élution, on a trouvé la phase mobile adéquate pour la séparation des différents composants des extraits. Les plaques CCM révèlent une série de taches indiquant la richesse de chaque extrait en produits.



Phase acétate d'éthyle
Système : (cyclohexane/AcOEt : 2 /7)



Phase chloroformique
Système : (CHCl_3 /MeOH : 14/1)

Figure (37) : Résultats de la CCM des deux phases

1.3. Teneur en polyphénols

La teneur en polyphénols totaux estimée par la méthode de Folin-Ciocalteu pour chaque extrait à partir d'une gamme étalon établie avec différentes concentrations d'acide gallique qui est utilisé comme un référence (l'équation standard de courbe : $Y = 0,0054x - 0,1738$; $R^2 = 0,994$) (figure 38).

Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par un gramme de l'extrait sec (mg EAG/1g EXS). En plus de sa sensibilité, cette méthode de dosage représente une reproductibilité puisque l'absorbance est étroitement liée à la concentration d'acide gallique utilisé dans la gamme étalon.

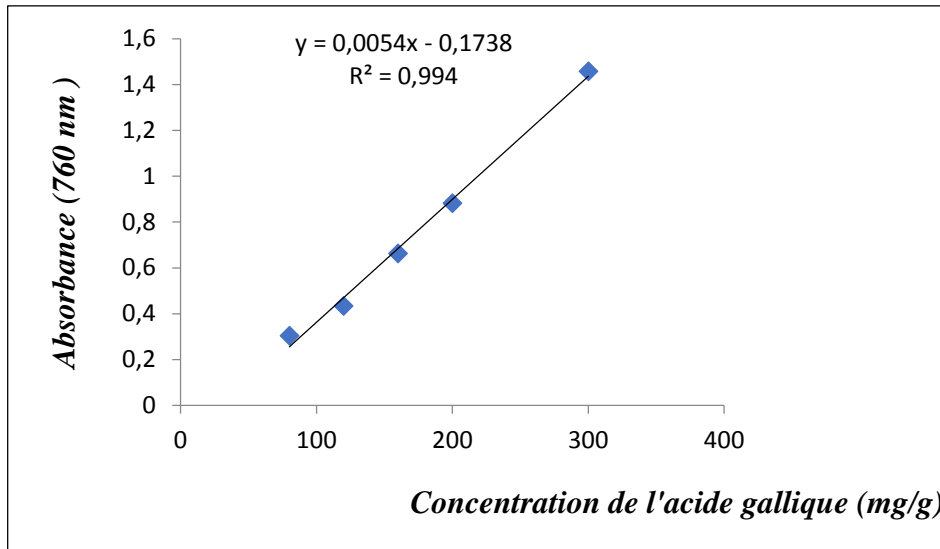


Figure (38) : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Les résultats de l'analyse quantitative obtenus par spectrophotométrie UV-visible des trois extraits : chloroformique, acétate d'éthyle et n-butanolique, des parties aériennes de la plante sont représentés dans la figure (40).

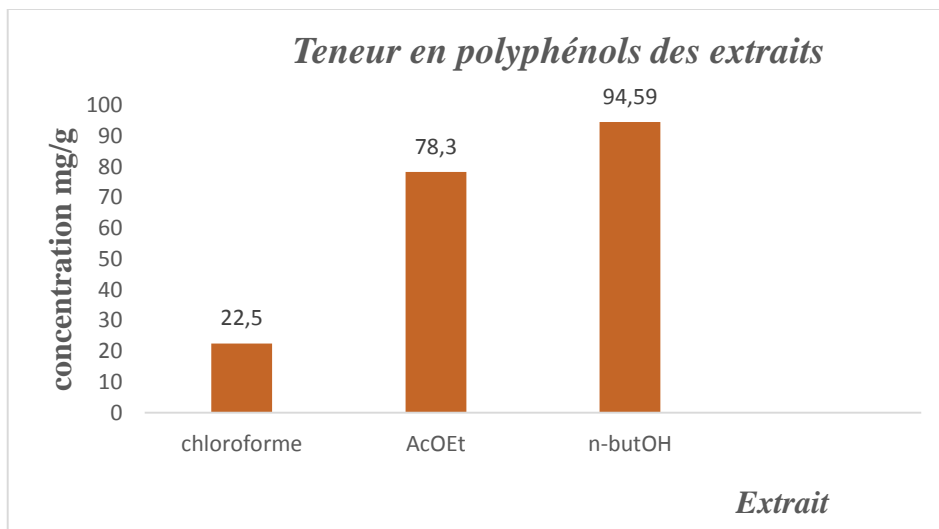


Figure (39) : Teneur en polyphénols des extraits ; CHCl₃ ; AcOEt et n-BuOH.

Tableau (11) : Résultats de la quantification spectrophotométrique des polyphénols totaux

Phase	Chloroforme	Acétate d'éthyle	n-butanol
Teneur en mg EAG/g Ext	22.5±0.018	78.3±0,053	94.59±0.04

D'après les résultats, on constate que tous les extraits de la plante sont riches en polyphénols mais avec des quantités différentes. Le tableau (11) montre que le.n-butOH représente la teneur la plus élevée (94.59 mg EQ /g d'extrait) en polyphénols suivi par Acétate d'éthyle (78.3 mg EAG /g d'extrait) et l'extait.Chloroformique (22.5 mg EAG/g d'extrait).

1.4. Teneur en flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes dans les extraits ont été estimées par la méthode utilisant AlCl₃. Une couleur jaune est observée après l'ajout du trichlorure d'aluminium à la solution éthanolique de la quercétine, qui est un flavonoïde très connu de la famille des flavonols, ce dernier est utilisé comme une référence pour la réalisation de la courbe d'étalonnage dans la gamme de concentration (80à 320 mg/g) .Les résultats sont représentés sur l'histogramme de (figure 41). La teneur en flavonoïdes est exprimée en mg équivalent de quercétine par gramme d'extrait (mg EAG /g d'extrait).

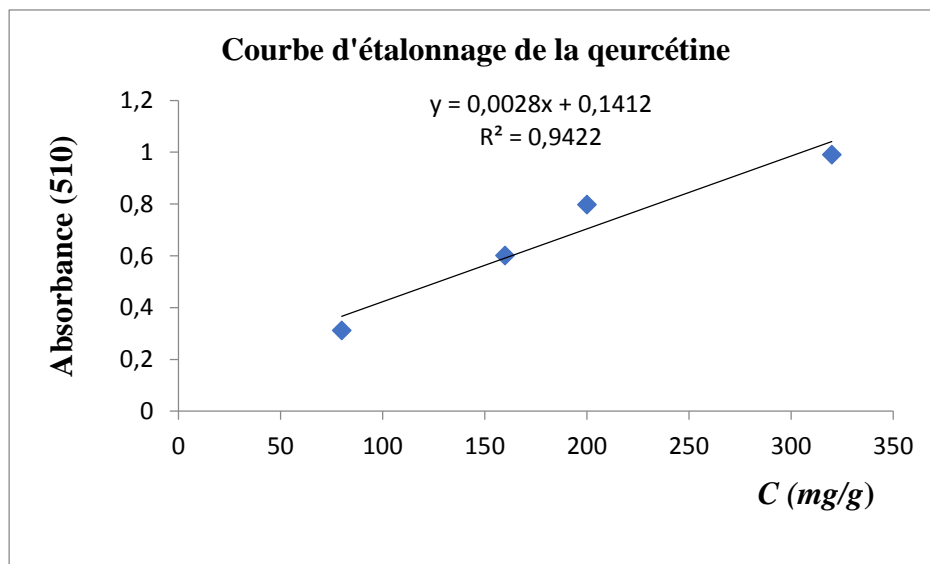


Figure (40) : Courbe d'étalonnage de la quercétine

Les teneurs en flavonoïdes de la partie aérienne de *C.triflorus* sont présentées dans la figure suivante :

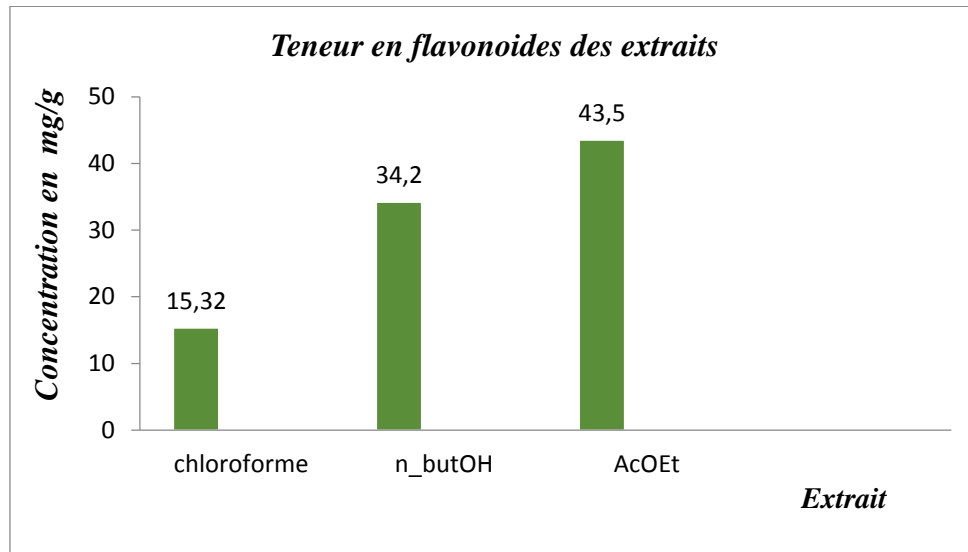


Figure (41) : Teneur en flavonoïdes des extraits

Tabletu (12) : Résultats de la quantification spectrophotométrique des flavonoïdes totaux

Phase	Chloroforme	Acétate d'éthyle	n-butanol
Teneur en mg EAG/g Ext	15.32±0.096	43.5±0.03	34.2±0.035

La détermination quantitative des flavonoïdes par la méthode du trichlorure d'aluminium révèle que l'extrait acétate est le plus riche en flavonoïdes avec une teneur de 43.5 mg EQ /g d'extrait suivi par l'extrait.n-butOH et en dernière position on retrouve l'extrait chloroformique (34.2mg et 15.32 mg EQ /g d'extrait)

2. Evaluation de l'activité antioxydant au test de piégeage du DPPH

L'activité anti radicalaire des extraits vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée par spectrophotométrie en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de a couleur violette à la couleur jaune mesurable à 515 nm. En calculant pour chaque concentration le pourcentage d'inhibition correspondant, on a tracé la courbe, qui représente la variation du pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations de l'extrait Cela permet de déterminer l'IC₅₀, la concentration de l'extrait nécessaire pour inhiber 50% du radical DPPH.

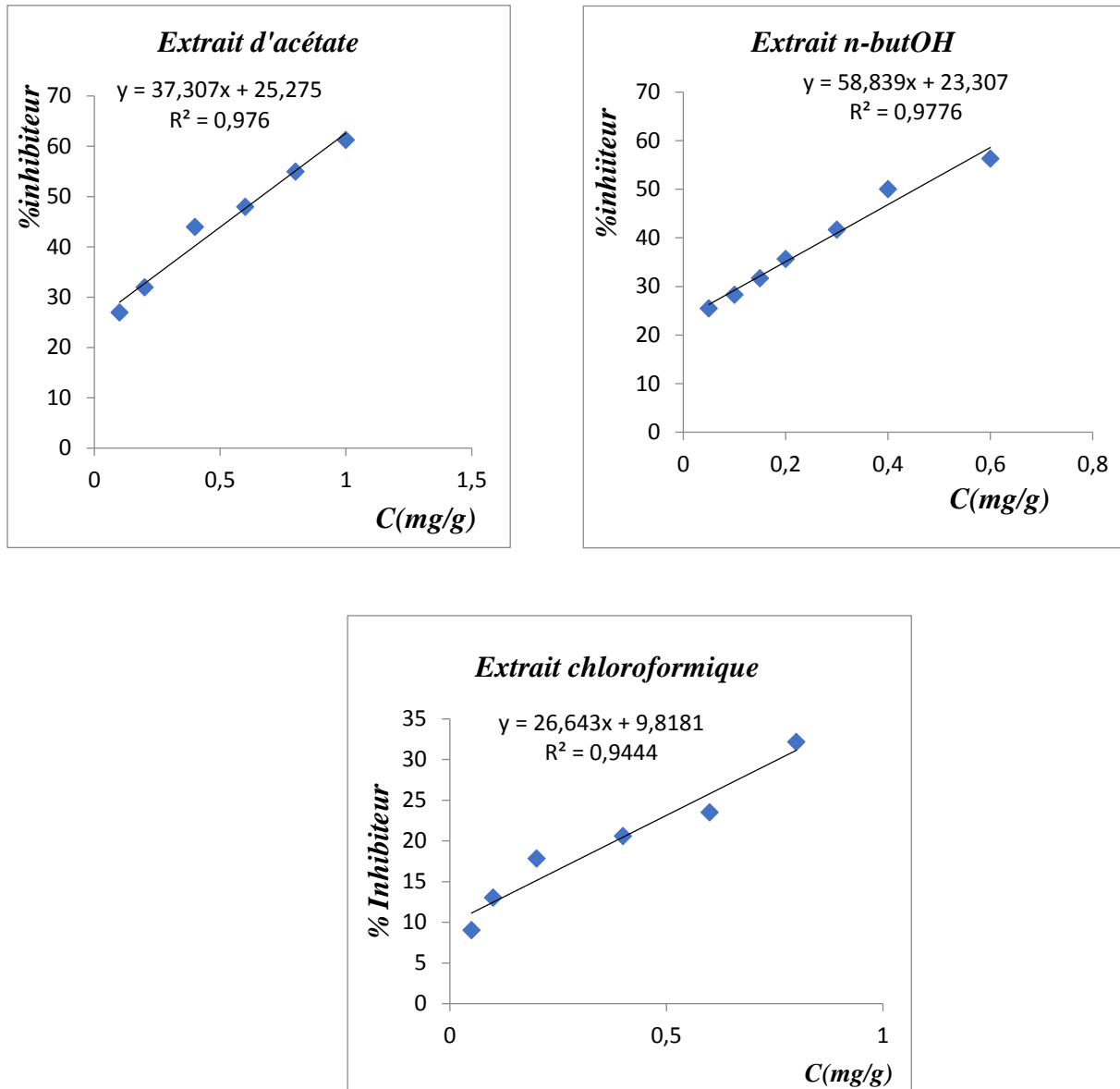


Figure (42) : Représentations graphiques des pourcentages d'inhibitions du radical DPPH en fonction des concentrations.

Tableau (13) : Activité antioxydante exprimée en IC50 des extraits de l'espèce *C.triflorus*

Extrait	IC50(mg/ml)±Ecart type
Chloroformique	1.50
Acétate d'éthyle	0.66
n-butanolique	0.45

Les résultats obtenus étudiés montrent que l'ensemble des extraits étudiés de *C. triflorus* révèlent des propriétés antiradicalaires intéressantes ce qui se manifeste par des faibles valeurs d'IC50 notamment les extraits n-butanolique et acétate d'éthyle. L'extrait n-butanolique montre la meilleure activité antiradicalaire avec une valeur IC50 égale à 0,45mg/ml. Cependant, l'extrait chloroformique montre une activité antioxydante relativement faible avec IC50 égale à 1,50mg/ml. Il ressort donc que l'extrait n-butanolique constitue un bon piègeur des radicaux libres.

De plus, il est clair que l'activité antioxydante des extraits varie proportionnellement avec la polarité des solvants utilisés (c'est-à-dire quand la polarité du solvant d'extraction augmente l'activité antioxydante aussi augmente). En effet, les extraits ayant la plus grande capacité de piégeage des radicaux sont les extraits obtenus par des solvants polaires et moyennement polaires ; n-butanol et acétate d'éthyle. Ces résultats peuvent être exprimés par la richesse de cette plante par des composés antioxydants polaires et moyennement polaires solubles dans le n-butanol et l'acétate d'éthyle, tel que les polyphénols.

3. Les huiles essentielles

On s'est intéressé dans cette partie à l'étude phytochimique de l'espèce *Cytisus triflorus*, ainsi que l'extraction des huiles essentielles et la détermination de la composition chimique de ces derniers, en utilisant la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse CG/MS

3.1. Rendement des huiles essentielles

La masse de l'huile essentielle récupérée de l'espèce *Cytisus triflorus* est de 1.61g, et la masse de la plante sèche est de 100g ; et comme le rendement étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle récupérée sur la masse utilisée de la plante que multiplie par cent, alors rendement soit de (R = 1.61%). Ce qui confirme la richesse de notre huile essentielle de la plante *Cytisus triflorus* en métabolites secondaires.

3.2. Evaluation des composants chimiques des huiles essentielles de l'espèce *Cytisus triflorus* par CG-MS

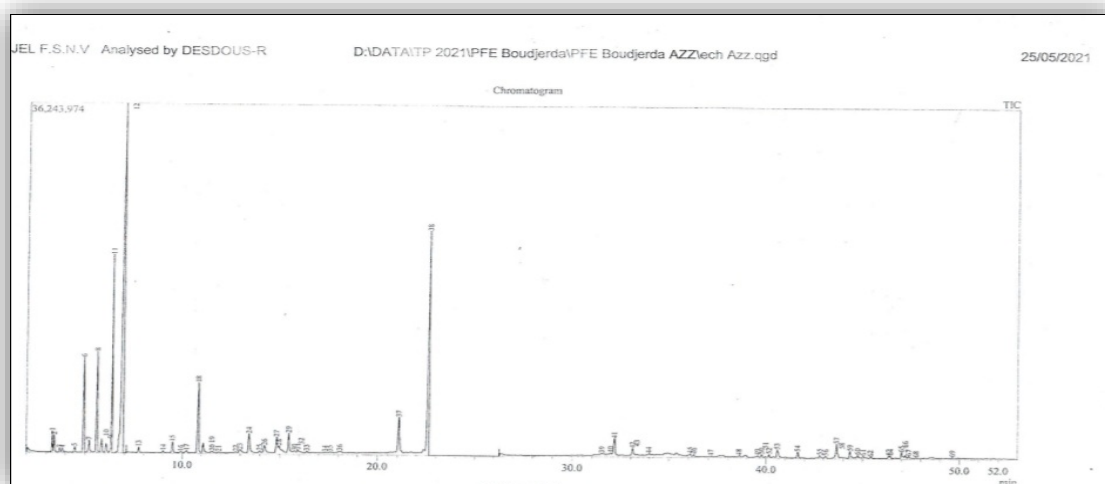
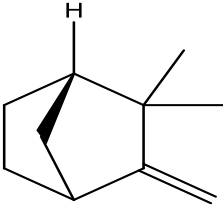
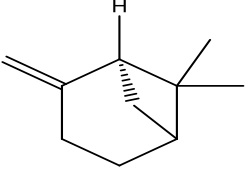
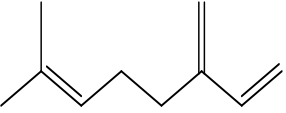
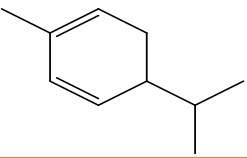
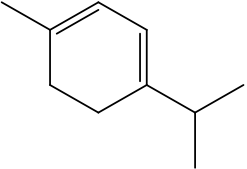
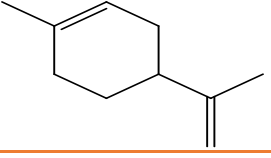
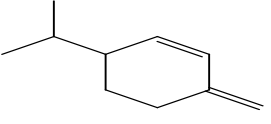
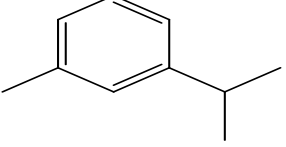


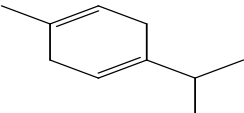
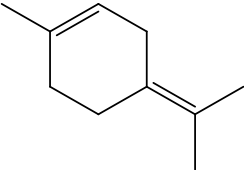
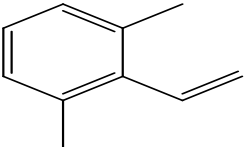
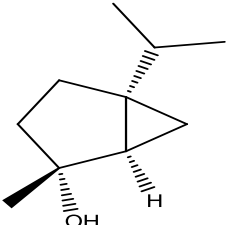
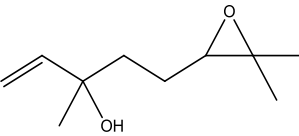

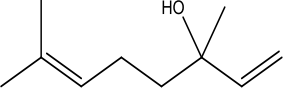
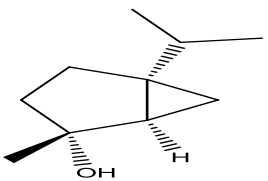
Figure (43) : Chromatogramme de CPG des HE de l'espèce *Cytisus triflorus*

Tableau(14) : Composition chimique des huiles essentielles

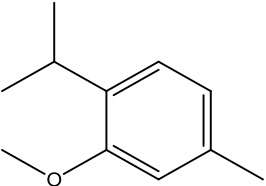
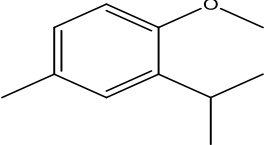
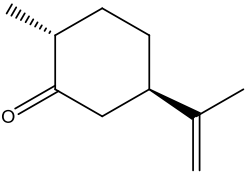
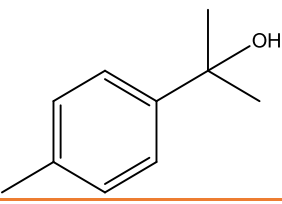

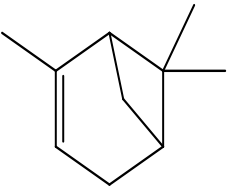
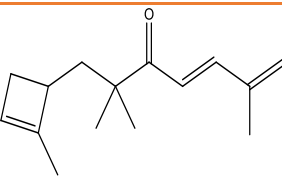
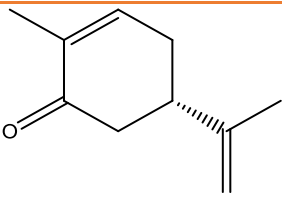
N°	composé	structure	Aire%	Tr	Nom systématique
1	Bicyclo[3.1.0]hex-2-ene, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-		0.95	3.325	2-méthyl-5-prop-1-en-2-ylbicyclo[3.1.0]hex-2-ène
2	1R-.α.-Pinene		0.84	3.429	triméthyl-2,6,6-bicyclo[3.1.1]hept-2-ène
3	2-Hexenal, (E)-		0.25	3.706	(E)-hex-2-énal

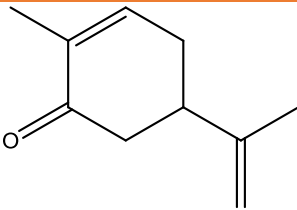
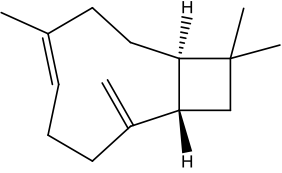
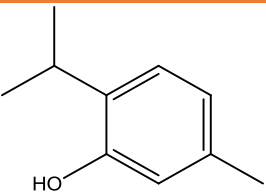
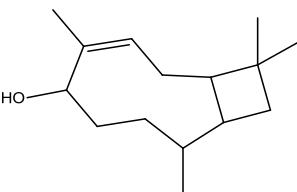
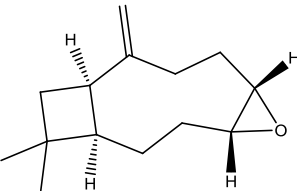
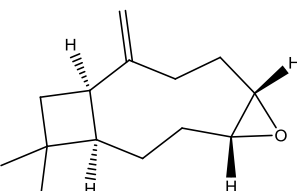
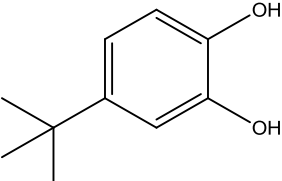
Résultats et discussion

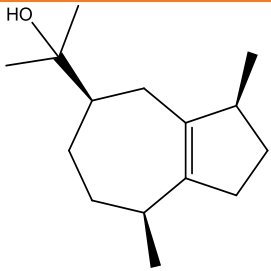
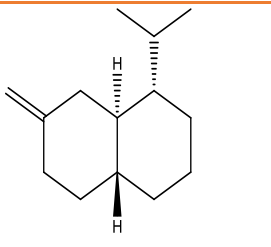
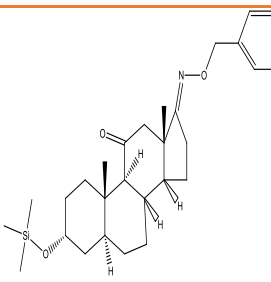
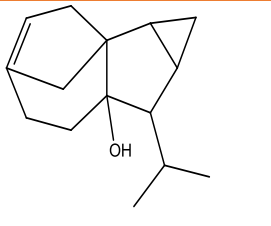
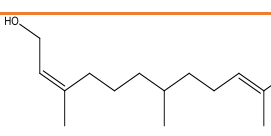


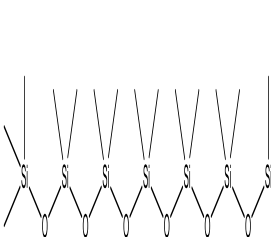
4	Bicyclo[2.2.1]heptane, 2,2-dimethyl-3-methylene-, (1S)-		0.30	3.835	(1S)-2,2-dimethyl-3-methylenebicyclo[2.2.1]heptane
5	Bicyclo[3.1.1]heptane, 6,6-dimethyl-2-methylene-, (1S)-		0.33	4.473	(1S)-6,6-dimethyl-2-methylenebicyclo[3.1.1]heptane
6	.β.-Myrcene		5.53	4.929	7-methyl-3-methylideneocta-1,6-diene
7	.α.-Phellandrene		0.99	5.208	p-mentha-1,5-diene
8	1,3-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-		6.47	5.605	1-isopropyl-4-methylcyclohexa-1,3-diene
9	D-Limonene		1.01	5.843	p-mentha-1,8-Diene
10	.β.-Phellandrene		0.74	6.082	3-méthylidène-6-(propan-2-yl)cyclohex-1-ène p-mentha-1(7),2-diène
11	O-Cymol		7.60	6.380	1-isopropyl-3-methylbenzene

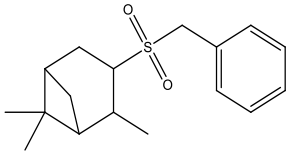
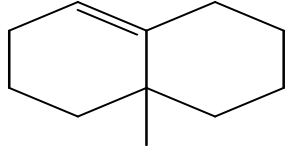
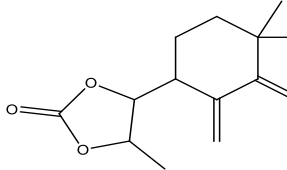
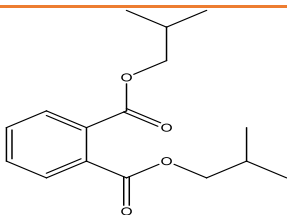



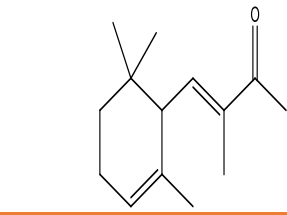

12	&.- Terpinen		32.74	6.938	4-isopropyl-1-methyl-1,4-cyclohexadiene
13	Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethylidene)-		0.31	7.744	1-methyl-4-(propan-2-ylidene)cyclohex-1-ene
14	Benzene, 2-ethenyl-1,3-dimethyl-		0.12	9.016	1,3-dimethyl-2-vinylbenzene
15	Bicyclo[3.1.0]hexan-2-ol, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-, (1.alpha.,2.beta.,5.alpha.)-		0.80	9.496	(1R,2R,5S)-5-Isopropyl-2-methylbicyclo[3.1.0]hexan-2-ol
16	Cis-Linalool Oxide		0.10	9.931	Cis-Linalool Oxide
17	1-Nonen-3-ol		0.20	10.234	non-1-en-3-ol
18	1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-		5.09	10.836	3,7-dimethylocta-1,6-dien-3-ol
19	Bicyclo[3.1.0]hexan-2-ol, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-, (1.alpha.,2.beta.,5.alpha.)-		0.85	11.089	(1R,2R,5S)-5-isopropyl-2-methylbicyclo[3.1.0]hexan-2-ol

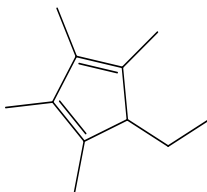
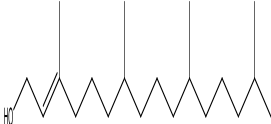
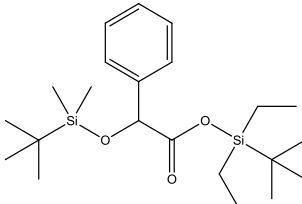

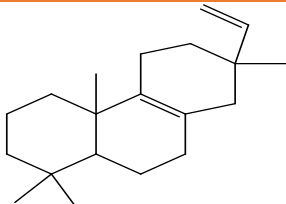



20	2-Cyclohexen-1-ol, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-, trans-		0.25	11.564	(1R,4S)-4-isopropyl-1-methylcyclohex-2-enol
21	3-Cyclohexene-1-carboxaldehyde		0.06	11.889	Cyclohex-3-enecarbaldehyde
22	Ethanone, 1-(1,4-dimethyl-3-cyclohexen-1-yl)-		0.04	12.770	1-(1,4-dimethylcyclohex-3-en-1-yl)ethanone
23	7-Oxabicyclo[4.1.0]heptane, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-		0.38	12.993	1-methyl-4-(prop-1-en-2-yl)-7-oxabicyclo[4.1.0]heptane
24	3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-, (R)		1.79	13.445	(R)-1-isopropyl-4-methylcyclohex-3-enol
25	2-Cyclohexen-1-ol, 2-methyl-5-(1-methylethenyl)-, cis		0.12	13.984	(1R,5R)-2-methyl-5-(prop-1-en-2-yl)cyclohex-2-enol
26	Borneol		0.66	14.242	endo-1,7,7-triméthylbicyclo[2.2.1]heptan-2-ol
27	3-Cyclohexene-1-methanol, . α ., α .4-trimethyl-		1.36	14.852	2-(4-methylcyclohex-3-en-1-yl)propan-2-ol

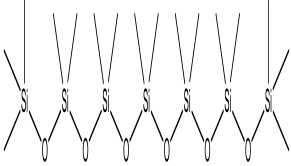

28	Benzene, 2-methoxy-4-methyl-1-(1-methylethyl)-		0.67	14.975	1-isopropyl-2-methoxy-4-methylbenzene
29	Benzene, 1-methoxy-4-methyl-2-(1-methylethyl)-		1.67	15.466	2-isopropyl-1-methoxy-4-methylbenzene
30	Cyclohexanone, 2-methyl-5-(1-methylethenyl)-, trans-		0.29	15.786	(2R,5R)-2-methyl-5-(prop-1-en-2-yl)cyclohexanone
31	Benzenemethanol, . α .,. α .,4-trimethyl-		0.31	15.934	2-(4-Methylphenyl)propan-2-ol
32	E,E-6,11-Tridecadien-1-ol acetate		0.10	16.117	(6E,11E)-trideca-6,11-dien-1-yl acetate
33	Bicyclo[3.1.1]hept-2-en-6-ol, 2,7,7-trimethyl-, acetate, [1S-(1. α .,.5. α .,6. β .)]		0.12	16.396	2,6,6-trimethylbicyclo[3.1.1]hept-2-ene
34	2,2,6-Trimethyl-1-(2-methyl-cyclobut-2-enyl)-hepta-4,6-dien-3-one		0.02	17.323	2,2,6-Trimethyl-1-(2-methyl-cyclobut-2-enyl)-hepta-4,6-dien-3-one
35	2-Cyclohexen-1-one, 2-methyl-5-(1-methylethenyl)-, (S)-		0.04	17.589	2-Cyclohexen-1-one, 2-methyl-5-(1-methylethenyl)-, (S)-

36	2-Cyclohexen-1-one, 2-methyl-5-(1-methylethenyl)-		0.17	18.088	2-Cyclohexen-1-one, 2-methyl-5-(1-methylethenyl)-
37	Caryophyllene		3.26	21.095	(1 <i>R</i> ,4 <i>E</i> ,9 <i>S</i>)-4,11,11-trimethyl-8-methylidenebicyclo[7.2.0]undec-4-ene
38	p-Cymen-3-ol		15.01	22.630	2-isopropyl-5-methylphenol
39	Caryophyllenyl alcohol		0.09	31.534	(3 <i>Z</i>)-4,8,11,11-tetramethylbicyclo[7.2.0]undec-3-en-5-ol
40	Caryophyllene oxide		0.11	31.982	(1 <i>R</i> ,4 <i>R</i> ,6 <i>S</i> ,10 <i>R</i>)-12,12-dimethyl-9-methylidene-5-oxatricyclo[8.2.0.0{4,6}]dodecane
41	Caryophyllene oxide		1.53	32.179	(1 <i>R</i> ,4 <i>R</i> ,6 <i>S</i> ,10 <i>R</i>)-12,12-dimethyl-9-methylidene-5-oxatricyclo[8.2.0.0{4,6}]dodecane
42	1,2-Benzenediol, 4-(1,1-dimethylethyl)-		0.61	33.121	1,2-Benzenediol, 4-(1,1-dimethylethyl)-

43	Guaiol		0.09	33.355	2-[(3S,5R,8S)-3,8-dimethyl-1,2,3,4,5,6,7,8-octahydroazulen-5-yl]propan-2-ol
44	Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-7-methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl)-, (1. α ., 4a. α ., 8a. α .)-		0.09	33.969	(1S,4aR,8aR)-7-methylidene-1-(propan-2-yl)-1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydronaphthalene
45	Androstan-17-one, 3,11-bis[(trimethylsilyl)]-, O-(phenylmethyl)oxime, (3. α ., 5. β ., 11. β .)-		0.27	36.079	Androstan-17-one, 3,11-bis[(trimethylsilyl)]-, O-(phenylmethyl)oxime, (3.alpha.,5.beta.,11.beta.)-
46	Carotol		0.13	36.261	6,8a-dimethyl-3-(propan-2-yl)-1,2,3,3a,4,5,8,8a-octahydroazulen-3a-ol
47	2,10-Dodecadien-1-ol, 3,7,11-trimethyl-, (Z)-		0.02	37.135	(Z)-3,7,11-trimethyldodeca-2,10-dien-1-ol
48	Hexadecanal		0.15	38.584	palmitaldehyde
49	Tetradecanoic acid		0.15	39.552	tetradecanoic acide
50	Heptasiloxane, hexadecamethyl-		0.15	39.772	1,1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11,13,13,13-hexadecamethyl heptasiloxane

51	3-Benzylsulfonyl-2,6,6-trimethylbicyclo(3,1,1)heptane		0.08	39.971	3-(benzylsulfonyl)-2,6,6-trimethylbicyclo[3.1.1]heptane
52	Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,7-octahydro-4a-methyl-		0.21	40.157	4a-methyl-1,2,3,4,4a,5,6,7-octahydronaphthalene
53	1,3-Dioxolan-2-one, 5-methyl-4-(4,4-dimethyl-2,3-dimethylenecyclohexyl)		0.81	40.578	4-(4,4-dimethyl-2,3-dimethylenecyclohexyl)-5-methyl-1,3-dioxolan-2-one
54	1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-methylpropyl) ester		0.44	41.653	Diisobutyl phthalate
55	Z-(13,14-Epoxy)tetradec-11-en-1-ol acetate		0.23	42.811	(Z)-12-(oxiran-2-yl)dodec-11-en-1-yl acetate
56	Hexadecanal		0.17	43.113	palmitaldehyde
57	n-Hexadecanoic acid		0.89	43.668	Palmitic acid
58	. α . Isomethyl ionone		0.08	43.949	(E)-3-methyl-4-(2,6,6-trimethylcyclohexen-2-en-1-yl)but-3-en-2-one
59	8-Octadecenoic acid, methyl ester		0.53	44.356	(E)-methyl octadec-8-enoate

60	Ethyltetramethylcycl opentadiene		00.21	44.758	5-ethyl-1,2,3,4- tetramethylcycl openta-1,3- diene
61	3,7,11,15- Tetramethyl-2- hexadecen-1-ol		0.12	45.041	(E)-3,7,11,15- tetramethylhexa dec-2-en-1-ol
62	Mandelic acide di(tert- butyldimethylsilyl)-		0.07	45.415	Tert- butyldiethylsilyl- 2[(tert- butyldimethylsil yl)oxy]-2- phenylacetate
63	Octadecane, 1- chloro-		0.17	46.348	1- chlorooctadecan e
64	Phenanthrene, 7- ethenyl- 1,2,3,4,4a,4b,5,6,7,9, 10,10a-dodecahydro- 1,1,4a,7-tetramethyl- ,[4aS-(4a. α .,4b.β.,7.]		0.15	46.434	1,1,4a,7- tertramethyl-7- vinyl- 1,2,3,4,4a,5,6,7, 8,9,10,10a- dodecahydrophe nanathrene
65	9-Octadecenoic acid, (E)-		0.40	47.007	(E)-Octadec-9- enoic acide
66	Octadecanoic acid		0.22	47.207	Stearic acide
67	9,12,15,Octadecatrie noic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)-		0.12	47.379	(9Z,12Z,15Z)- methyloctadeca- 9,12,15- trienoate

68	Heptasiloxane, hexadecametyl-		0.03	47.750	1,1,1,3,3,5,5,7,7, 9,9,11,11,13,13 ,13- hexadecamethyl heptasiloxane
69	Nonacosane		0.05	49.649	Nonacosane

L'analyse par CG-MS des huiles essentielles de l'espèce *Cytisus triflorus* obtenues par hydrodistillation de la matière végétale sèche, a permis d'identifier 69 constituants représentant (30%) des monoterpènes oxygénés, (50%) des monoterpènes, (1%) des sésquiterpènes oxygénés, (3%) des sésquiterpènes, (16%) d'autres composés. Dont les composés les plus majoritaires sont : α -Terpinen(32.74), p-Cymen-3-ol (15.01), o-Cymol(7.60), 1,3-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-(6.47), β -Myrcene(5.53), 1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-(5.09).

D'après les résultats obtenus, on conclut que le principe actif des huiles essentielles de l'espèce *Cytisus triflorus* soit le α -Terpinen (32.74) à un pic très intense (aire = 32.74%).

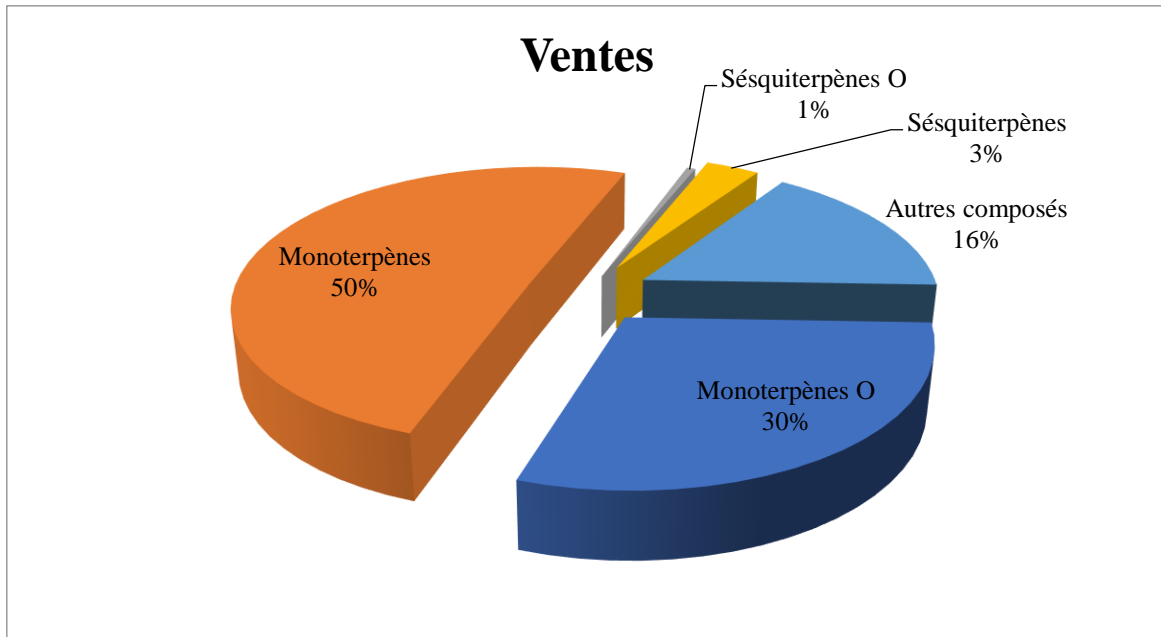


Figure (44) : Familles des composés identifiés de l'espèce *Cytisus triflorus*

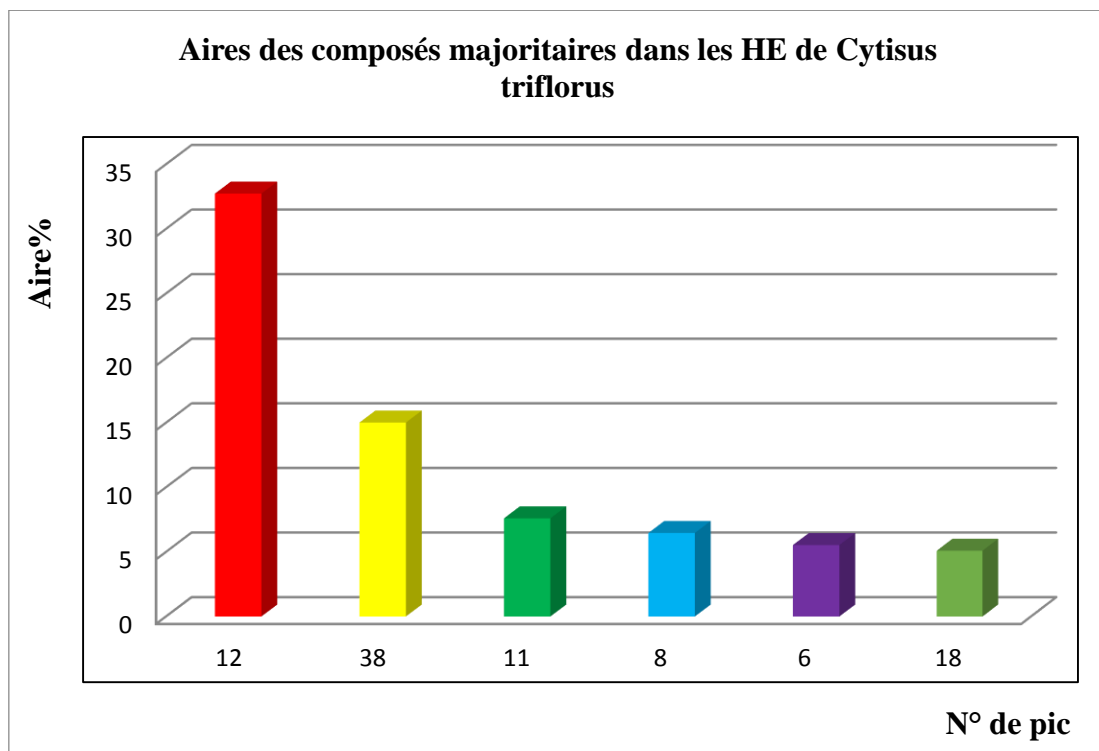


Figure (45) : Représentation graphique des composés les plus majoritaires des HE de l'espèce *C. triflorus*

Concussion générale

Conclusion générale

Ce travail a été pour nous une très bonne expérience, ainsi qu'une bonne initiation à la recherche scientifique et ceci grâce au travail de laboratoire et la recherche bibliographique réalisé sur l'espèce *Cytisus triflorus*.

Notre travail expérimental a été repartit en deux grandes étapes :

➤ La première étape consiste à l'extraction du matériel végétale, suivi d'épuisement par les solvants organiques de polarité croissante, ce qui a conduit à l'obtention de trois phases, à savoir la phase chloroformique, la phase acétate d'éthyle et la phase n-butanolique.

Les tests réalisés sur ces différentes phases nous ont orientés vers la phase acétate d'éthyle. Cette dernière a subi une séparation sur colonne chromatographique du gel de silice, permettant ainsi l'obtention de 12 fractions.

L'analyse quantitatif des métabolites secondaires ont été réalisés sur les extraits des différentes phases obtenues à partir de l'espèce *Cytisus triflorus*, et ont montré de bons résultats.

➤ En deuxième étape, on s'est intéressé particulièrement à l'extraction de l'huile essentielle de la plante *Cytisus triflorus* grâce à une méthode très simple et très pratique, qui est l'hydrodistillation.

Le recours à un appareil de chromatographie en phase gazeuse couplé à la spectrométrie de masse a été plus que nécessaire pour la détermination de la composition chimique de l'huile essentielle de *Cytisus triflorus* ainsi que le principe actif de la plante.

Des tests d'activités antioxydants ont été réalisés sur les trois extraits obtenues, et ont montrés des propriétés antiradicalaires intéressantes, et la meilleur activité antiradicalaire a été enregistré avec l'extrait n-butanolique avec une valeur d'IC₅₀=0.45 mg/ml.

Résumé

Notre étude dans le but de l'obtention et l'identification des métabolites secondaires, ainsi que l'extraction des huiles essentielles à partir de l'espèce : «*Cytisus triflorus*» appartenant à la famille des Fabacées.

L'utilisation de différentes méthodes de séparation (couche mince, colonne) a permis de récupérer à partir de la phase AcOEt 12 fractions dont certaines sont des mélanges séparables.

L'étude phytochimique a permis de déterminer la présence des polyphénols et flavonoïdes.

Ainsi que leurs potentiel anti radicalaire qui a été déterminé par la méthode de DPPH, la phase n-BuOH a révélé une bonne activité antioxydant avec IC50 égale à **0.45mg/ ml**. Grâce à sa richesse en polyphénols.

L'analyse par GC-MS de l'huile essentielle de cette espèce a permis d'identifier 69 composés ce qui montrent une composition riche en produits, appartenant majoritairement à la classe des monoterpènes, dont le gamma.- Terpinen (32.74%) est le constituant principal suivi par le p-Cymen-3-ol (15.01%).

Mots clés : *Cytisus triflorus*, Métabolites secondaires, Huiles essentielles, Activité antioxydante, GC-MS,

Abstract

This study devoted and identified secondary metabolites and the extraction of essential oils of the specie «*Cytisus triflorus*» belonging to the Fabaceae family.

The use of different chromatographic separation methods (thin layer, coloumn) recovered from the Ethyle phase, 12 fractions, some of which are separable mixture.

The phytochemical study allowed to determine the presence of polyphenols and flavonoids.

The antiradical potential of them was determined by the DPPH method, when the n-BuOH phase represent the best antioxydant property in order of IC50 **0.45mg/ ml**, because of polyphenols.

The analysis by GC-MS of the essential oil of this species led to the identification of 69 compounds belonging essentially to the class of the monoterpenes. From which the most important is the gamma.- Terpinen (32.74%) and p-Cymen-3-ol (15.01%).

Key words: *Cytisus triflorus*, Secondary metabolites, essential oils, Antioxidant activity, GC-MS,

تلخيص

تم إجراء هذه الدراسة للحصول على الأيضات الثانوية الأساسية وتحديد مركباتها لنبات *C.triflorus* المنتمية لعائلة Fabeacée وذلك باستخدام مختلف طرق الفصل (الطبقة الرقيقة والعمود) مما سمح بالحصول على 12 عينة من مستخلص أسيتات إيثيل، بعضها خليط قابل للفصل.

الدراسة الفيتوكيميائية للمستخلصات الثلاثة كشفت عن وجود الفلافونويدات والبولي فينولات، بالإضافة إلى تحديد إمكاناتها المضادة للأكسدة من خلال طريقة DPPH، يمثل مستخلص n-BuOH أفضل خاصيته مضادة للأكسدة مع IC50 تساوي 0.45 ملغ/مل. راجع إلى غناها بالبولىفينولات.

سمح تحليل GC-MS للزيوت الأساسية لهذا النوع بتحديد 69 مركبا حيث يظهر تركيبة غنية بالمنتجات، والتي تنتمي أساسا إلى فئة التربينات الأحادية، حيث يمثل (gamma.Terpinen) (32.7%) المكون الأساسي للزيت يليه p-Cymen-3-ol (15.01%)

الكلمات المفتاحية : *C.triflorus*، الأيضات الثانوية، الزيوت الأساسية، نشاط مضاد الأكسدة، الدراسة الفيتوكيميائية، GC-MS

