

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2022

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée
Présenté par :

M^{elle} ADILLIA Selma & M^{elle} DARDANE Numedia

Thème

**Etude de quelques propriétés antioxydantes des
extraits des feuilles et des fleurs de
*Calicotome Spinosa L.***

Soutenu le : 06/07/2022

Devant le jury composé de :

<i>Nom et prénom</i>	<i>Grade</i>		
M.REMINI Hocine	MCB	Univ. De Bouira	Président
M.KADRI Nabil	Professeur	Univ. De Bouira	Promoteur
Mlle TEBBI Sara Oumenoune	Doctorante	Univ. De Bejaia	Co- Promotrice
M.TIGHILET Karim	MAA	Univ. De Bouira	Examineur

Année Universitaire 2021/2022

Remerciements

Au terme de ce travail

*Tout d'abord, nous remercions **ALLAH** pour la volonté, la force, la santé et patience qu'il nous a donné pour réaliser ce travail.*

*Nous adressons nos sincères remerciements à notre promoteur: **M. Nabil KADRI** pour avoir accepté de nous encadrer, pour ses instructions, son soutien moral et sa disponibilité.*

*Nos vifs remerciements sont destinés aussi à notre co-promotrice **TEBBI Sara Oumenoune** qui nous a vraiment aidés dans des moments où toutes les portes sont fermées en nous donnant la clé pour nos défis, nous sommes très reconnaissantes pour votre encouragement. Sans oublier notre ancienne co-promotrice **Imene Ben Zitoune** qui a vraiment aidés à son tour que dieu la bénisse*

Nous tenons également à remercier l'ensemble de jurys qui ont accepté l'évaluation de ce modeste travail

Nous remercions nos enseignants et tous les membres du département de biologie

Nous adressons nos remerciements aussi à nos collègues de la promotion du master 2022

Merci du fond du cœur.

Numidia et Selma

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

À mon cher père, que Dieu accueille son âme dans son vaste paradis.

À ma chère mère.

À mes frères.

À mes sœurs.

A mon fiancé Moukhtare.

À mes amis.

...Selma...

Dédicaces

C'est avec un cœur plein d'amour et de reconnaissance que je dédie ce modeste travail que j'ai réalisé après beaucoup de sacrifices à mon cher père que dieu le garde pour moi et pour notre famille vu qu'il m'a élevé après des nuits et des nuits de souffrance, vu qu'il a fait de son mieux pour m'instruire, pour m'éduquer et pour faire de moi la personne que je suis.

A ma chère mère qui n'a jamais baissé les bras pour faire de moi une femme différente et modeste, qui a sacrifié toute sa vie pour m'apprendre de compter sur mes capacités, pour me favoriser les conditions pour que je puisse continuer mes études à l'aise, pour ses puissants amours et tendresse et pour son sourire qui m'a ouvert beaucoup de portes.

A mes chères Sœurs: Céline, Tafrara, Lamisse et Dalia qui m'ont aidé à franchir tous les obstacles de ma vie.

A mon cher petit ange Adam qui m'a donné toujours l'espoir grâce à son innocence.

A mon plus cher ami dans le monde: Nabil qui m'a vraiment soutenu et qui m'as allumé une bougie pendant les moments obscures de ma vie.

A mes chères amies: Chahrazed, Farida, Dihia, Olizia Meryem, Madjida, Yasmine qui m'ont tenu fortement la main.

A tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin

A ma chère binôme Selma avec laquelle j'ai fait le combat pour terminer ce projet de fin d'études

....Numidia ...

Sommaire :

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction 1

Partie 1 : synthèse bibliographique :

chapitre I : Généralité..... 2

I.1 Famille des fabacées 2

I.2 Classification des fabaceae..... 2

I. 3 Utilisations thérapeutiques 3

I.4. La sous-famille des Papilionoideae 3

chapitre II : Description de *Calicotome spinosa* L..... 4

II.1.1 Le genre *Calicotome* 4

II.1.2 Caractéristiques généraux de *Calicotome spinosa* L. 4

II.1.3 Distribution géographique 5

II.1.4 Taxonomie, Nom vernaculaire et Description botanique 5

II.1.5 Utilisation thérapeutiques de la plante 7

chapitre III : Radicaux libres, stress oxydant et antioxydants..... 8

III.1.1 Radicaux libres..... 8

III.1.2 Sources endogènes 8

III.1.3 Sources exogènes 8

III.2.1 Stress oxydatif..... 9

III.2.2 Conséquences moléculaires du stress oxydatif 9

III.2.3 Conséquences pathologiques du stress oxydant..... 10

III.3.1 Antioxydants et système de défense 11

III.3.2 Mode d'action des antioxydants.....	11
III.3.3 Classification des antioxydants	11
Partie 2 : partie expérimentale	
Chapitre I : Matériel et méthodes	14
I. 1. Matériel	14
I. 1.1 Appareillage	14
I. 1.2 Produits chimiques.....	14
I. 1.3 Matériel végétal	14
II. 2. Méthodes	15
II 2.1 Préparation des échantillons	15
II. 2.2 Préparation des extraits	15
II. 2.3 Evaluation du rendement d'extraction	16
II. 2.4 Dosage des polyphénols totaux	16
II. 2.5 Dosage des flavonoïdes.....	17
II. 2.6 Mesure des activités anti-oxydantes.....	18
II. 2.6.1 Piégeage des radicaux libres DPPH	18
II. 2.6.2 Le pouvoir réducteur du fer (FRAP)	20
II. 2.6.3 Piégeage du radical-cation libre ABTS.....	21
Chapitre II : Résultats et discussion	22
II.1 Rendement d'extraction.....	22
II 2.Dosage des polyphénols totaux:	23
II.3 Dosage des flavonoïdes totaux	24
II.4 Détermination de l'activité antioxydante	25
II.4.1 Piégeage du radical libre DPPH	25
II.4.2 Piégeage du radical libre ABTS	28
II.4.3 Pouvoir réducteur du fer (FRAP)	30
Conclusion et perspective	34

Annexe

Références bibliographiques

Résumé

Liste des tableaux

Tableau I: Description botanique de <i>Calicotome spinosa</i> L.....	6
Tableau II: Rendement des extraits éthanoliques des feuilles et des fleurs de <i>Calycotomes spinosa</i> L.....	22

Liste des figures

Figure 1: <i>Calicotome spinosa</i> L.....	4
Figure 2 : L'aspect morphologique des feuilles et des fleurs de <i>Calicotome spinosa</i> L.....	6
Figure 3 : Les ciblées des radicaux libres	11
Figure 4: Différentes parties séchées et broyées de <i>C. spinosa</i> Link.....	15
Figure 5 : Protocole du dosage des polyphénols totaux	17
Figure 6: Protocole du dosage des flavonoïdes	18
Figure 7: Protocole du piégeage du radical DPPH.....	19
Figure 8: Teneurs en polyphénols totaux dans les extraits éthanoliques des feuilles et des fleurs de <i>Calycotome spinosa</i> L.....	23
Figure 9: Teneur totale en flavonoïdes des extraits éthanoliques des feuilles et des fleurs de <i>Calycotome spinosa</i> L.....	24
Figure 10: Pourcentages d'inhibition des extraits hydro-éthanoliques des feuilles et des fleurs de <i>Calycotome spinosa</i> L. et du contrôle (vitamine c).....	26
Figure 11: Les CI ₅₀ de la vitamine C et des extraits hydro-éthanoliques des feuilles et des fleurs de <i>Calycotome spinosa</i> L.....	27
Figure 12: Pourcentages d'inhibition des extraits hydro-éthanoliques des feuilles et des fleurs de <i>Calycotome spinosa</i> L. et du contrôle (vitamine c).....	28
Figure 13: Les CI ₅₀ de la vitamine C et des extraits hydro-éthanoliques des feuilles et des fleurs de <i>Calycotome spinosa</i> L. par le test ABTS.....	29
Figure 14: Pouvoir réducteur de la vitamine C, des extraits hydro-éthanoliques des feuilles et des fleurs de <i>Calycotome spinosa</i> L.....	31
Figure 15: Les EC ₅₀ de la vitamine C des extraits hydro-éthanoliques des feuilles et des fleurs de <i>Calycotome spinosa</i> L. par le test FRAP.....	32

Liste des abréviations

Abs : Absorbance

AA : Acide ascorbique

AlCl₃: Chlorure d'aluminium

APG: Angiosperm Phylogeny Group

BHT: Butylated hydroxytoluene

BuOH: Butanol

C. spinosa: *Calycotome spinosa*

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle

DO : Densité optique

EAG : Équivalent Acide Gallique

CE₅₀ : Concentration efficace 50

EQ: Équivalent quercitine

FRAP: Ferric Reducing Antioxidant Power

CI₅₀ : Concentration inhibitrice à 50%

R% : Rendement

R² : Coefficient de corrélation

UV : Ultraviolet

Introduction

Introduction

Les plantes sont connues depuis les temps les plus anciens et à travers toutes les civilisations: par leurs divers utilisations dans plusieurs domaines, tels que le domaine alimentaire, industriel et surtout dans le domaine médical où elles sont désignées sous le nom de "plantes médicinales" et où elles sont utilisées pour la thérapie et le traitement de l'appareil circulatoire, respiratoire et digestif au fait qu'elles contiennent des métabolites secondaires qui ont des propriétés biologiques variables, d'ailleurs en Afrique et plus précisément en Algérie et tous les pays du Maghreb, presque toute la population emploie ces plantes pour des usages thérapeutiques. La majeure partie des médicaments actuels sont naturels, ils peuvent être fabriqués par hémi-synthèse, c'est-à-dire à partir des extraits des plantes contenant les principes actifs ou par modification d'un produit naturel, comme les vaccins. Mais malheureusement la plupart de ces plantes sont moins exploitées, comme le cas du genre "*Calycotome*" qui appartient à la famille des 'fabacées"', la sous-famille des "Papillioideae" et qui est originaire de la Méditerranée (Algérie et l'Espagne) et qui contient 5 espèces, telles que: *Calycotome villosa*, *Calycotome spinosa* Link. Cette dernière est très utilisée comme un agent anti-tumoral en médecine traditionnelle et pour le traitement de diverses pathologies et malgré ça, elle n'est pas bien illustrée dans la littérature, en plus l'extraction des polyphénols avec des activités antioxydantes à partir de cette plante selon les recherches effectuées se limite par l'utilisation des méthodes conventionnelles, comme "La décoction, l'infusion et la macération", Donc pour cela on a choisi de faire l'extraction de ces composés bioactifs par la technique d'ultrasons qui est un peu nouvelle.

L'objectif de notre étude consiste donc à la valorisation de la plante endémique *C. spinosa* pour des fins pharmacologique, le travail a été subdivisé en deux grandes parties :

Partie théorique : englobe les données théoriques sur *Calicotome spinosa* L., les radicaux libres, stress oxydant ainsi que les antioxydants:

Partie pratique : illustre les axes suivants :

- 1- Extraction des polyphénols de la plante par ultrason (fleurs et feuilles) ;
- 2-Quantification des composés phénoliques : polyphénols totaux, flavonoïdes ;
- 3- Evaluation, *in vitro*, des activités anti-oxydantes des extraits obtenus.

Synthèse bibliographique

I. Généralité

I.1 Famille des fabacées

La famille des fabacées (faba, fève) autrement appelée "les légumineuses" en raison de son fruit qui est nommé "gousse" ou "légume" est l'une des familles les plus intéressantes d'angiospermes, qui est composée de 730 genres et 19400 espèces (Wojciechowski et al., 2004 ; Morel., 2011). L'usage de cette famille est multiple, donc les espèces de cette famille peuvent-être utilisées comme: Plantes horticoles, pour extraire leurs huiles, leurs fibres ou bien comme remèdes (Wojciechowski et al., 2004., Morel, 2011., Mechergui et al., 2021). Elle est localisée soit au niveau des zones tempérées (équilibrées), soit au niveau des zones tropicales. Elle contient principalement 2 formes: La forme arborescente et la forme herbacées qui sont situées au niveau des régions chaudes et tempérées respectivement. Sa répartition géographique dépend de la quantité d'azote nécessaire pour l'adaptation de la plante aux conditions environnementales et cet azote est fixé essentiellement par des bactéries fixatrices d'azote du type rhizobium qui se trouvent au niveau des racines de cette famille de plantes (Wojciechowski et al., 2004 ; Lattanzi.,2008 ; Morel.,2011 ;Mokhtari., 2012). Cette famille possède une variété multiple de caractéristiques, ses espèces se trouvent sous divers formes: des herbacées, des arbustes, des arbres ou des plantes grimpantes, elles possèdent des vertus thérapeutiques et sont employées en médecine traditionnelle (Mechergui et al., 2021). Ses espèces sont réparties entre les zones froides et les zones tropicales (Peirs., 2005). Possèdent des propriétés morphologiques presque identiques, avec une variation énorme de leurs feuilles et de leurs fleurs et cette variation est liée directement à leur degré d'évolution (Morel., 2011).

I.2 Classification des fabaceae

L'étude phylogénétique de cette famille se base sur le gène chloroplastique *rbcL4*, qui supporte la théorie monophylétique (ils viennent du même ancêtre commun) des fabaceae qui sont divisées en 4 sous-familles:

- la sous-famille de Bauhinoïdes, avec les arbres à Orchidées (*Bauhinia*) et les arbres de Judée (*Cercis*)
- la sous-famille des Mimosoideae
- la sous-famille des Caesalpinoideae

- la sous-famille des Papilionoideae ou Faboïdeae comprenant le genre *Derris* (Lattanzi., 2008 ; Morel, 2011; Mokhtari., 2012).

I. 3 Utilisations thérapeutiques

Les fabaceae ont plusieurs usages thérapeutiques, comme: Les graines de fenugrec, riches en mucilages et en tannins et qui sont très utilisées pour prendre du poids, les 2 plantes: *Cassia acutifolia* et *Cassia angustifolia* ont des propriétés laxatives grâce à leurs dérivés anthracéniques (dérivés des quinones avec propriétés laxatives utilisées dans le cas de la constipation), Le baume du Pérou est un bon cicatrisant et antiseptique, la racine de, *Glycyrrhiza glabra*, est composée de saponosides et de flavonoïdes et présente des activités anti- inflammatoires, et antispasmodiques(Morel., 2011). Cette famille se distingue par la propriété phyto-oestrogénique de ses espèces, grâce aux isoflavones qu'elles contiennent, comme l'exemple le plus connu du "soja", ces isoflavones leur confèrent la particularité de jouer le rôle des hormones dans le cas des cancers hormono-dépendants (Morel., 2011).

I.4. La sous-famille des Papilionoideae

Se distingue des autres par ses propriétés morphologiques qui sont variables, Ses feuilles peuvent-être alternes, stipulées ou pennées, ses fleurs sont à corolles sous forme d'un papillon, ses fruits appelés gousses (Wojciechowski et al., 2004 ; Lattanzi., 2008; Mokhtari., 2012). En plus de ces propriétés, elle est connue traditionnellement par un ensemble de critères qui sont actuellement des synapomorphies de cette famille, comme: la présence de bois avec un parenchyme prédominant axial paratrachéal, des vaisseaux avec des trous alternés et de simples perforations. Sa préfloraison est descendante et ses fleurs sont cyclisées, hermaphrodites et fortement zygomorphes par la corolle. La corolle, à symétrie bilatérale, possède une forme dite « papilionacée » c'est à dire qu'elle est composée de cinq pétales organisés en forme de papillon. Le pétale dorsal (appelé aussi vexillum ou plus couramment étendard), recouvre les deux pétales latéraux ou ailes. Ces derniers recouvrent à leur tour, les deux pétales inférieurs, libres ou unis par leur bord interne sur une certaine longueur (Wojciechowski et al., 2004 ;Lattanzi ., 2008 ;Mokhtari., 2012).

II. Description de *Calicotome spinosa* L.

II.1.1 Le genre *Calicotome*

Calicotome (ou Calycotome), du grec Calice (calice) et Temno (coupé) vient du fait que le calice (cup) après la floraison se coupe d'une manière circulaire (Cherfia et al., 2017). Le genre *Calicotome* a été créé par Link, Le mot "*Calicotome*" s'écrivait avec "y" dans l'ancienne flore, le "u" grec traduit le "y" en français), mais dans la nouvelle flore, il faut un "i". Le genre Calycotome est un groupe de la famille des Fabacées. Il forme la troisième famille la plus importante du règne végétal (presque 16 000 espèces) après les Astéracées et Orchidacées, Ce groupe est connu par ses épines et par son origine qui est méditerranéenne (Cherfia., 2020). De plus, 5 espèces peuvent-être mentionnées dans ce genre au niveau de cette même région, comme: *Calicotome spinosa* L., *Calicotome infesta* (*Calicotome Presl*) Guss., *Calicotome villosa* (Poir.) Lien, *Calicotome rigida* (Viv.) Rothm. et *Calicotome fontanesii* Rothm (Lattanzi., 2008) .

II.1.2 Caractéristiques généraux de *Calicotome spinosa* L.

Calicotome spinosa L., autrement nommé "Genet épineux" ou "Balai épineux" (Salmi et al., 2018). Très utilisé dans le domaine de la médecine traditionnelle dans le monde et plus particulièrement en Algérie (Cherfia et al., 2017). Cet arbuste appartient à la famille des fabacées (Larit et al., 2012 ; Cherfia et al., 2017), et se caractérise par le fait qu'il possède des fleurs trifoliées et jaunes au printemps, et qu'il se trouve au niveau du bassin méditerranéen (Larit et al., 2012 ; Cherfia et al., 2017).



Figure 1 : *Calicotome spinosa* L. (Cherfia., 2020)

Elle est caractérisée principalement par ses fleurs jaunes (Damerdji., 2012; Cherfia et al., 2017), ses racines nodulantes contenant des bactéries fixatrices d'azote et par le fait qu'il est combustible, il a aussi la particularité de supporter des températures jusqu'à -10°C, cette plante aime les sols siliceux (Damerdji., 2012; Cherfia et al., 2017) Et elle contient un pourcentage très important en protéines c'est pourquoi il est un complément alimentaire hautement efficace. De plus, elle est cultivée comme plante ornementale (Cherfia et al., 2017).

II.1.3 Distribution géographique

Calicotome spinosa L. est une plante thermophile (Cherfia et al., 2017), de la méditerranée occidentale qui se trouve au niveau des endroits ensoleillés où il y a des sols rocheux, dans les bois, les prairies, sur les sols dégradés de nature calcaire ou acide et aux limites des routes. c'est une espèce indigène de l'Algérie, de Libye, d'Italie, de France et d'Espagne, elle a été cultivée en Nouvelle Zélande et en Australie comme plante ornementale et de haie pour la protection des jardins. (Salmi et al., 2018)

II.1.4 Taxonomie, nom vernaculaire et description botanique :

Son nom vernaculaire est El Guendoul et sa position taxonomique est la suivante: (Damerdji., 2012; Cherfia et al., 2017)

Règne : Plantae.

Sous-règne : Tracheobionta.

Superdivision : Spermatophyta.

Division : Angiospermes.

Classe : Eudicotylédones.

Sous-classe : True Rosidae.

Ordre : Fabales.

Famille : Fabaceae.

Sous-famille : Faboideae Rudd.

Genre : *Calicotome* Link.

Espèce : *Calicotme spinosa* L.

Calicotome spinosa L. est un arbuste épineux (Damerdji., 2012), trifolié de la famille des fabacées, dont la longueur peut arriver jusqu'à 3m, il est connu par ses fleurs jaunes au printemps, il possède plusieurs branches épineuses sur lesquelles se trouvent des épines

Synthèse bibliographique

d'environ 7,5 cm de long, des feuilles de couleur verte foncée ou grisâtre noircissant à la dessiccation, des fleurs séparées ou bien regroupées 2 à 4 des gousses glabres qui ont une taille comprise entre 2,5 et 4cm avec une couleur noire, grise ou bien brun rougeâtre, à l'intérieur desquelles se trouvent des graines d'un nombre de 3-15 qui sont lisses, brillantes et brun jaunes ,d'environ 3,5 mm de long et 2 mm de large (Cherfia et al., 2017).



Figure 2 : L'aspect morphologique des feuilles et des fleurs de *Calicotome spinosa L.*
(Mokhtari., 2012)

Tableau I : Description botanique de *Calicotome spinosa L.* (Cherfia., 2020)

Partie de la plante	Description
Origine du nom	Le nom "Spinosa" vient du fait que la plante possède des épines au niveau de ses branches.
Tiges et branches	Les tiges sont minces et espacées sous forme de buissons sur les quelles se trouvent des branches qui sont épineuses et divariquées (l'angle entre les tiges et les branches est presque droit).
Feuilles	Les feuilles sont trifoliées, petites pliés avec différents degrés.
Fleurs	La floraison s'effectue à la fin de l'hiver .Les fleurs sont jaunes, Solitaires ou groupées 2-4, leur calice porte des poils soyeux et se coupe circulairement au milieu au moment de la floraison.
Fruits	Les fruits sont appelés gousses, , de trois à quatre cm de long, , glabres

Synthèse bibliographique

	et noires à maturité, à l'intérieur des quelles se trouvent des graines de couleur brun jaunâtre.
Racines	Les racines sont pivotantes, elles contiennent à leur surface des nodules contenant des bactéries qui participent à la fixation de l'azote.
Autres noms	Calicotome épineux (spinosus) - Argelus (nom courant) en français - Thorny Broom ou Spiny Broom en anglais - Spartium spinosum L, en espagnol - Guendoul en arabe.

II.1.5 Utilisation thérapeutiques de la plante

Calicotome spinosa L. est très utilisée en médecine traditionnelle du fait de ses activités anti-oxydantes variées et puissantes (Cherfia et al., 2017). Est utilisée surtout en thérapie pour le traitement d'une vaste gamme de maladies, comme: Les atteintes dermiques, tels que: les gonflements et les œdèmes. (Larit et al., 2012), les tumeurs en tant qu'agent anti tumoral, (Cherfia et al., 2017) et en tant que cette plante est riche en composés flavonoidiques , donc elle est aussi considérée comme un agent antioxydant, anti-inflammatoire et antiallergique, qui entre dans le traitement des maladies cardiovasculaires, des ulcères gastriques et duodénaux, des allergies, de la fragilité vasculaire et des infections virales et bactériennes (Larit et al., 2012).

III. Radicaux libres, stress oxydant et antioxydants

III.1.1 Radicaux libres

Un radical libre est un élément chimique (atome ou molécule) instable, qui possède un électron célibataire au niveau de son orbitale externe et qui donc cherche à se stabiliser en se liant à une autre molécule qui est stable, pour la transformer en un nouveau radical libre par oxydation(perdre) ou par réduction (acquérir un électron) et la rendre instable et cette réaction peut-être considérée comme le point de départ pour la génération en chaîne de plusieurs nouveaux radicaux libres qui sont néfastes pour la cellule (Garait., 2006; MOUFFOUK., 2019)

III.1.2 Sources endogènes

La plupart des réactions enzymatiques conduisent à la production d'oxygène, comme: La xanthine oxydase (enzyme qui se trouve au niveau du foie) qui oxyde la xanthine pour donner de l'acide urique et de l'oxygène, lors de diminution de la distribution du sang dans l'organisme. La NADPH oxydase qui est une enzyme qui se trouve au niveau de la membrane plasmique des phagocytes et qui conduit à la formation d'oxygène lors de la phagocytose. Mais, il y a également la production d'autres types de radicaux libres, dont les sources sont différentes, comme: Les peroxysomes, qui génèrent principalement l'H₂O₂, La mitochondrie qui produit 90% de tous les types de ROS (espèces réactives d'oxygène qui comprennent le groupe des radicaux libres) grâce à sa chaîne respiratoire, Les ions métalliques, comme le fer, le cuivre peuvent interagir avec d'autres espèces peu réactives pour former des radicaux hydroxyles. (Garait., 2006; Kada., 2018; MOUFFOUK., 2019)

III.1.3 Sources exogènes

- L'exposition aux rayons UV du soleil et le tabagisme. (ils provoquent la déorganisation des électrons au niveau des atomes, c'est-à-dire leur transformation en radicaux libres qui vont détruire les cellules de l'épiderme)
- La pollution de l'air provoque la production des radicaux libres, comme le NO₂- et NO- (oxide nitrique et dioxyde d'azote) qui induisent la génération d'autres radicaux libres qui sont à l'origine d'oxydation des acides gras polyinsaturés des alvéoles pulmonaires.
- Le métabolisme des médicaments et des substances toxiques comme les pesticides produit des radicaux libres (ROS).

- les rayons " X" stimulent les molécules photosensibles ou dégradent la molécule d'eau pour produire l'anion superoxyde et l'oxygène singulet (Kada., 2018; MOUFFOUK., 2019).

III.2.1 Stress oxydatif

Le stress oxydant est un déséquilibre entre la production des radicaux libres qui sont des espèces réactives de l'oxygène et les antioxydants par l'organisme. Ce déséquilibre conduit à la destruction des biomolécules intéressantes de l'organisme, par exemple l'ADN, les protéines et les lipides. En effet, notre mode de vie (tabagisme, alcoolisme) ainsi que notre mauvais comportement alimentaire sont à l'origine de ce type de stress. Ce dernier provoque souvent des maladies cancéreuses et cardio-vasculaires. (Haleng et al., 2007; Kada., 2018; MOUFFOUK., 2019).

III.2.2 Conséquences moléculaires du stress oxydatif

a) Altération de la molécule d'ADN

L'altération se fait par les radicaux libres qui sont capables d'attaquer soit la liaison entre les bases azotées et le désoxyribose, comme le cas de la guanine qui peut entrer en interaction avec le radical hydroxyle pour former la 8-hydroxy-2'-déoxyguanosine (8-OH-dG) qui se lie à l'adénine à la place de la cytosine, soit les protéines qui sont en relation avec l'ADN, comme les histones qui entrent dans sa structure et les facteurs de réplication ou de transcription, ce qui entraîne des mutations suivies par un cancer (Haleng et al., 2007; MOUFFOUK., 2019).

b) Altération des protéines

Cette altération est causée également par les radicaux libres qui touchent principalement les résidus d'acides aminés, pour les transformer en dérivés carbonylés (C=O) par l'ajout du groupement hydroxyle, et qui provoquent la sulfoxydation des groupements méthionine, la chloration des groupements aromatiques et donc le clivage de la chaîne peptidique et la modification de la fonction protéique qui est difficilement corrigée et par conséquent il y aura l'assemblage des protéines non-fonctionnelles qui forment des amas à l'intérieur de la cellule (Haleng et al., 2007 ; MOUFFOUK., 2019).

c) Altération des lipides

Elle touche essentiellement les phospholipides et les acides gras polyinsaturés de la membrane plasmique, ça se fait selon les étapes suivantes:

- L'association d'un groupement hydrogène qui provient d'un groupement méthyle d'un acide gras polyinsaturé (AGPI) avec un groupement hydroxyle pour la formation d'une molécule d'eau et d'un radical libre.
- L'union du radical libre formé avec une molécule d'oxygène pour donner un radical peroxyde.
- La liaison du radical peroxyde avec un hydrogène libéré par un autre acide gras polyinsaturé pour former un radical peroxyde, ce qui provoque la perturbation de la structure de la membrane cellulaire et donc la mort cellulaire.
- Les lipides peroxydiques formés peuvent- être soit éliminés par la glutathion peroxydase, soit oxydés nouvellement surtout en présence de fer et de cuivre par la voie de la B-oxydation en malondialdéhyde (MDA) et en 4-hydroxynonéol (4-HNE qui sont des radicaux libres pro-athérogènes. ([Haleng et al., 2007](#); [MOUFFOUK., 2019](#)).

III.2.3 Conséquences pathologiques du stress oxydant

Le stress oxydatif provoque l'apparition de plusieurs maladies, comme:

Les maladies cardiovasculaires, neurodégénératives, le cancer, l'hypertension rénale des maladies pulmonaires, l'obésité, l'asthme, les pathologies articulaires, le diabète et l'athérosclérose ([Migdal et al., 2011](#); [MOUFFOUK., 2019](#)).



Figure 3 : Les Cibles des radicaux libres (MOUFFOUK., 2019).

III.3.1 Antioxydants et système de défense

Un antioxydant est un élément qui a le pouvoir de diminuer ou de bloquer l'oxydation cellulaire et qui est de nature différente d'un compartiment à un autre au niveau de l'organisme, c'est-à-dire qu'il peut-être soit une enzyme catalytique, soit de nature hydrosoluble, soit de nature liposoluble (MOUFFOUK., 2019).

III.3.2 Mode d'action des antioxydants

Les antioxydants ont plusieurs modes d'action, par exemple ils peuvent réduire les radicaux libres, se conjuguer avec eux pour former des complexes stables, emprisonner les métaux de transition libres (le fer qui participe dans la formation des radicaux libres), ou bien produire du glutathion (il permet les échanges des électrons, c'est-à-dire l'oxydo-réduction) (MOUFFOUK., 2019).

III.3.3 Classification des antioxydants

Le rôle majeur des antioxydants c'est de garder l'équilibre intracellulaire entre les antioxydants et les radicaux libres, c'est-à-dire qu'ils constituent le système de défense de la cellule, ce système est divisé en 2 groupes: les antioxydants primaires enzymatiques et les antioxydants secondaires non-enzymatiques (MOUFFOUK., 2019).

a) Les antioxydants endogènes

- **Les superoxydes dismutases**

C'est une métalloprotéine responsable de la dismutation de l'anion superoxyde en une molécule du peroxyde d'hydrogène et d'oxygène, le peroxyde d'hydrogène lui-même va être dégradé par la glutathion peroxydase ou bien par la catalase.

Les superoxydes dismutases (SOD) sont des isoenzymes de 3 types qui diffèrent en fonction de leur localisation par rapport à la cellule: la Cu/Zn-SOD1 cytosolique, la Mn-SOD2 mitochondriale et la Cu/Zn-SOD3 extracellulaire. (MOUFFOUK., 2019).

- **Les catalases**

La catalase est une enzyme intracellulaire située au niveau des peroxysomes des hépatocytes et des globules rouges qui entre dans la réaction de dismutation du peroxyde d'hydrogène en une molécule d'eau (Haleng et al., 2007; MOUFFOUK., 2019).

- **Les glutathions peroxydases**

La glutathion peroxydase est une sélénoprotéine (dépend de la présence du sélénium) qui joue un rôle majeur dans la défense antioxydante, elle intervient dans l'élimination du peroxyde d'hydrogène et également des hydroperoxydes qui proviennent de l'oxydation des acides gras polyinsaturés.

- **Les chélateurs de métaux**

Ce sont des protéines sériques capables de se lier aux ions métalliques hautement toxiques comme le cuivre et le fer pour empêcher leur association avec le peroxyde d'hydrogène (MOUFFOUK., 2019).

- **Le système thiorédoxine**

Son rôle est de neutraliser les peroxydes lipidiques, le peroxyde d'hydrogène et de produire l'acide ascorbique à partir du radical ascorbyl sous l'effet de la thiorédoxine renouvelée par la thiorédoxine réductase et le NADPH (Haleng et al., 2007).

b) Les antioxydants exogènes

- **L'acide ascorbique (vitamine C)**

La vitamine "c" autrement appelée l'acide ascorbique ou l'ascorbate est un antioxydant très efficace hydrosoluble, qui se trouve sous une forme ionisée (AsC⁻), ce qui lui

facilite la liaison avec d'autres radicaux libres, comme l'anion superoxyde, le radical hydroxyle et même les peroxydes lipidiques, en plus de cette caractéristique l'ascorbate a le pouvoir de régénérer la vitamine "E" ou l' α -tocophérol après son interaction avec les peroxydes lipidiques. La vitamine "c" est un intermédiaire de plusieurs fonctions biologiques, comme: la stimulation de la réponse immunitaire, la cicatrisation (réparation des blessures), la détoxification de l'organisme, le métabolisme du fer, la production du collagène et des globules rouges (MOUFFOUK., 2019). L'apport journalier en cette vitamine doit-être de l'ordre de 100mg/jour à partir des fruits (Haleng et al., 2007).

- **La vitamine "E" ou α -tocophérol**

La vitamine "E" autrement nommée l' α -tocophérol est un antioxydant hydrophobe, ce qui fait qu'il se trouve au niveau des membranes riches en acides gras polyinsaturés et en lipoprotéines, dont le rôle est de protéger ces composés contre la peroxydation lipidique en se liant aux radicaux peroxydes ($RO_2 \cdot$) pour former un radical α -tocophéryl capable de bloquer la prolifération de la peroxydation lipidique (MOUFFOUK., 2019).

L'apport journalier en cette vitamine doit-être de l'ordre de 10mg/jour à partir des huiles contenues dans le soja, les olives et plusieurs d'autres aliments (Haleng et al., 2007).

Matériel et méthodes

III. Matériel et méthodes

La connaissance des activités biologiques et des constituants chimiques est très importante dans l'étude des plantes. Ce travail ayant pour but d'évaluer l'effet antioxydant de *Calicotome spinosa* L., est réalisé au niveau du laboratoire de "Biochimie et Microbiologie" de la faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre de l'université de "Akli Mouhand Oulhadje de Bouira". Tous les tests ont été effectués sur des extraits éthanoliques des feuilles et des fleurs de *Calicotome Spinosa* L. Les absorbances ont été mesurées par un spectrophotomètre UV- visible. Les échantillons sont placés dans une cuve de trajet optique de 1cm.

III. 1. Matériel

III. 1.1 Appareillage

Balance analytique (ohaus) ; Spectrophotomètre à UV (Optima) ; Bain-marie (DAIHAN Scientific) ; Vortex (Nahita) ; Agitateur électromagnétique (Lab tech) ; Sonicateur (Selecta) ; Micropipette (Accumax pro) ; Etuve (memmert) ; PH-mètre (Mettler Toledo).

III. 1.2 Produits chimiques

Ethanol 96°(Speci-Lab); folin ciocalteu (Sigma-Aldrich); Carbonates de sodium (Sigma-Aldrich); Chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) (Sigma-Aldrich) ; 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) (Sigma-Aldrich) ;Chlorure de sodium (NaCl) (Sigma-Zentrifugen) ; L'acide 2,2'-azino-bis (ABTS) (Biochem) ; phosphate de potassium (KH_2PO_4) (Biochem) ; ferricyanure de potassium $K_3[Fe(CN)_6]$. (Biochem) ; tampon phosphate (Sigma-Aldrich) ; l'acide trichloracétique (TCA) (Biochem) ; chlorure ferrique ($FeCl_3$) (Biochem) ; Quercétine (Sigma-Aldrich) ; Acide ascorbique (Sigma-Aldrich) ; Acide gallique (Sigma-Aldrich).

III. 1.3 Matériel végétal

Le matériel végétal étudié comprend les feuilles et les fleurs de "*Calycotome spinosa*". La récolte de la plante a été effectuée 2 fois, Le: 7 avril 2022 et le 13 avril 2022 à "Bouira ville", située à environ 80 km au sud-est d'Alger capitale de l'Algérie. L'espèce a été identifiée par la professeure botaniste "MESRANE" du département des sciences agronomiques de la faculté SNVST de l'université de Bouira.

III. 2. Méthodes

III. 2.1 Préparation des échantillons

Les différentes parties de la plante (fleurs et feuilles) ont été triées puis elles ont été séchées à l'étuve à une température de 40°C pendant 4 jours et broyées finement. Les deux échantillons ont été conservés dans des flacons en verre à l'abri de la lumière.



Figure 4: Différentes parties séchées et broyées de *Calicotome spinosa* Link (CHERFIA., 2021).

III. 2.2 Préparation des extraits

L'extraction a été faite par la méthode des ultrasons pour les feuilles et pour les fleurs suivant ces étapes:

a) Les feuilles

10g de la poudre des feuilles de "*Calycotome spinosa* L." ont été ajoutés à 100ml d'éthanol à 70%, puis le mélange a été agité pour passer par la suite par une étape d'ultrasons (40°C pendant 30 min), puis par une étape de filtration, et vers la fin par une étape de séchage à l'étuve (40-45°C) dans le but d'extraire les polyphénols contenus à l'intérieur de ces feuilles (Boudou et al., 2021).

b) Les fleurs

L'extraction des polyphénols à partir des fleurs de *Calicotome spinosa* a été faite selon le même protocole de Boudou et al (2021) appliqué pour extraire les composés phénoliques à partir des feuilles.

III. 2.3 Evaluation du rendement d'extraction

Le rendement est défini comme étant le rapport entre la masse des extraits obtenue et la masse sèche du matériel végétal à traiter (Muanda., 2010; Mayouf., 2019). Le pourcentage du rendement de chaque extrait a été calculé selon l'équation (1):

$$R (\%) = m /M \times 100..... (1)$$

(R%) : Rendement exprimé en %.

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

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

III. 2.4 Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux de la plante "*Calycotome spinosa*" se fait par la méthode du folin ciocalteu, selon la méthode décrite par (EL JEMLI., 2019), avec quelques modifications.

Le réactif du folin ciocalteu est un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique, il s'oxyde facilement en présence des polyphénols pour produire un mélange d'oxyde bleu réduit. La couleur bleue est proportionnelle à la quantité des polyphénols contenue dans les extraits de la plante (MATOU., 2019; MOUFFOUK., 2019).

Le dosage des polyphénols a été réalisé pour les fleurs et pour les feuilles dans les mêmes conditions, selon le protocole suivant: 100 µl de l'extrait à analyser est mélangé avec 500µl du réactif de Folin–Ciocalteu et 400 µl de carbonate de sodium (Na₂CO₃) à 7,5% fraîchement préparée. Après 30 min d'incubation l'absorbance est lue à 765 nm. Une courbe d'étalonnage est établie en même temps dans les mêmes conditions opératoires avec l'acide gallique (EAG). À partir de l'équation de régression de la courbe, la concentration en polyphénols totaux est exprimée en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de matière végétale sèche (mg EAG/g d'extrait) (EL JEMLI., 2019).

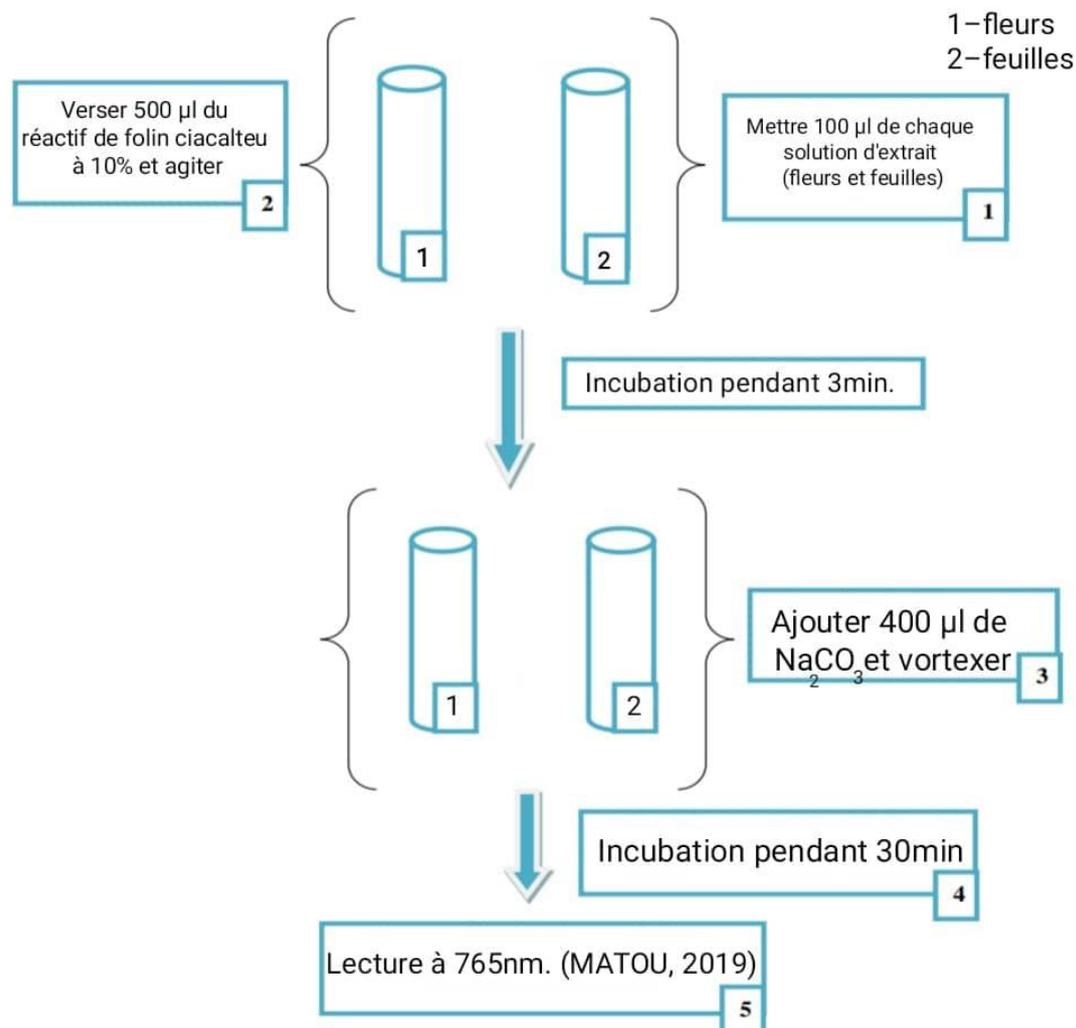


Figure 5: Protocole du dosage des polyphénols totaux (Cherfia *et al.*, 2017; MATOU., 2019)

III. 2.5 Dosage des flavonoïdes

La détection de la quantité des flavonoïdes totaux contenus au niveau des extraits de *Calycotome spinosa* se fait à l'aide de la méthode décrite par (EL JEMLI., 2019) avec peu de modifications.

Le dosage des flavonoïdes est basé sur la formation d'un complexe très stable entre le chlorure d'aluminium et les 2 carbones d'oxygène présents sur les carbones "4" et "5" sous forme de groupements hydroxyles (OH), l'aluminium joue le rôle d'un donneur d'électrons, c'est-à-dire qu'il perd 2 électrons pour s'unir aux 2 atomes d'oxygène précédents, ce complexe a une couleur jaunâtre et il est dosé spectrophotométriquement à 420nm

(GHNIMI., 2015 ; MOUFFOUK., 2019) .

1 ml de l'extrait est mélangé à 1 ml de chlorure d'aluminium (AlCl_3). Après 1 heure d'incubation à température ambiante, la lecture de l'absorbance a été faite à 420 nm. La teneur en flavonoïdes est ensuite déduite à partir de l'équation de la courbe d'étalonnage réalisée dans les mêmes conditions opératoires par la quercétine (EQ), les résultats sont exprimés en (mg EQ/ g d'extrait) (EL JEMLI., 2019).

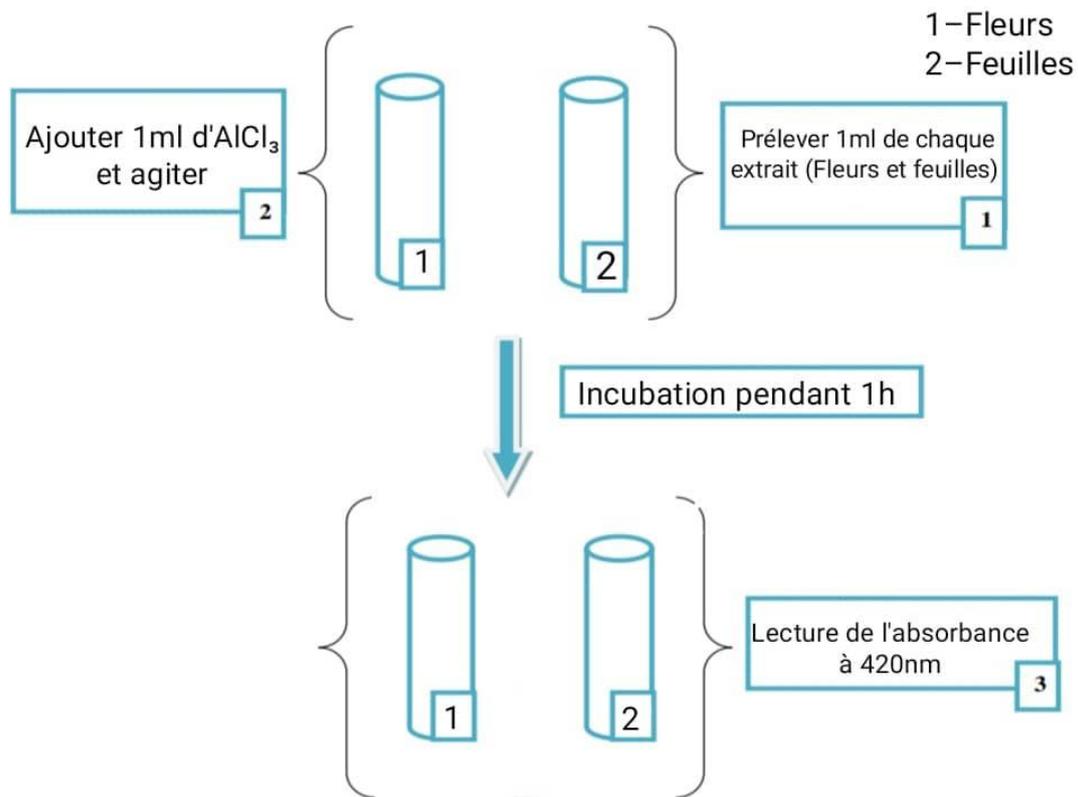


Figure 6 : Protocole du dosage des flavonoïdes (GHNIMI., 2015; Cherfia *et al.*, 2017; MOUFFOUK., 2019).

III. 2.6 Mesure des activités anti-oxydantes

III. 2.6.1 Piégeage des radicaux libres DPPH

L'activité anti-radicalaire a été mesurée par la méthode décrite par Matoul *et al.*, (2019) avec quelques modifications .

La mesure de l'activité anti-radicalaire du radical libre 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle se base sur le changement de couleur de ce radical qui est violet en une couleur jaune lorsqu'il est réduit par un composé à propriété anti-radicalaire en diphényle picrylhydrazine, L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu. Cette

réduction est mesurable par spectrométrie UV- Visible, en suivant la diminution de l'absorbance à 517nm (GHNIMI., 2015; MOUFFOUK., 2019 ; MATOU., 2019 ;KADA., 2018).

La mesure de l'absorbance pour toutes les concentrations des 2 extraits (fleurs et feuilles) a été effectuée à une même longueur d'onde (517nm) parce que cette longueur d'onde est spécifique seulement pour les composés qui possèdent une activité anti-radicalaire dans les extraits.

Cette méthode consiste à la préparation des différentes dilutions (De 220µg/mL jusqu'à 330µg/mL) à partir des extraits à tester avec une solution éthanolique de DPPH à 4% de manière que l'absorbance soit entre 0,7 et 0,8 et pour chaque dilution 3 répétitions ont été faites et chaque répétition doit contenir: 100 µl d'extrait et 1300 µl de DPPH. Le blanc contient l'éthanol et le contrôle c'est un mélange entre 100 µl d'éthanol pure et 1300 µl de DPPH.L'absorbance des extraits est mesurée à 517nm après 30min à l'obscurité, .La courbe d'étalonnage a été établie par l'utilisation des différentes absorbances en fonction des différentes concentrations (220-330µg/ml) de l'acide ascorbique. Les résultats obtenus pour les échantillons sont exprimés en mg équivalent vitamine C par gramme de matière sèche (EVC/g MS).

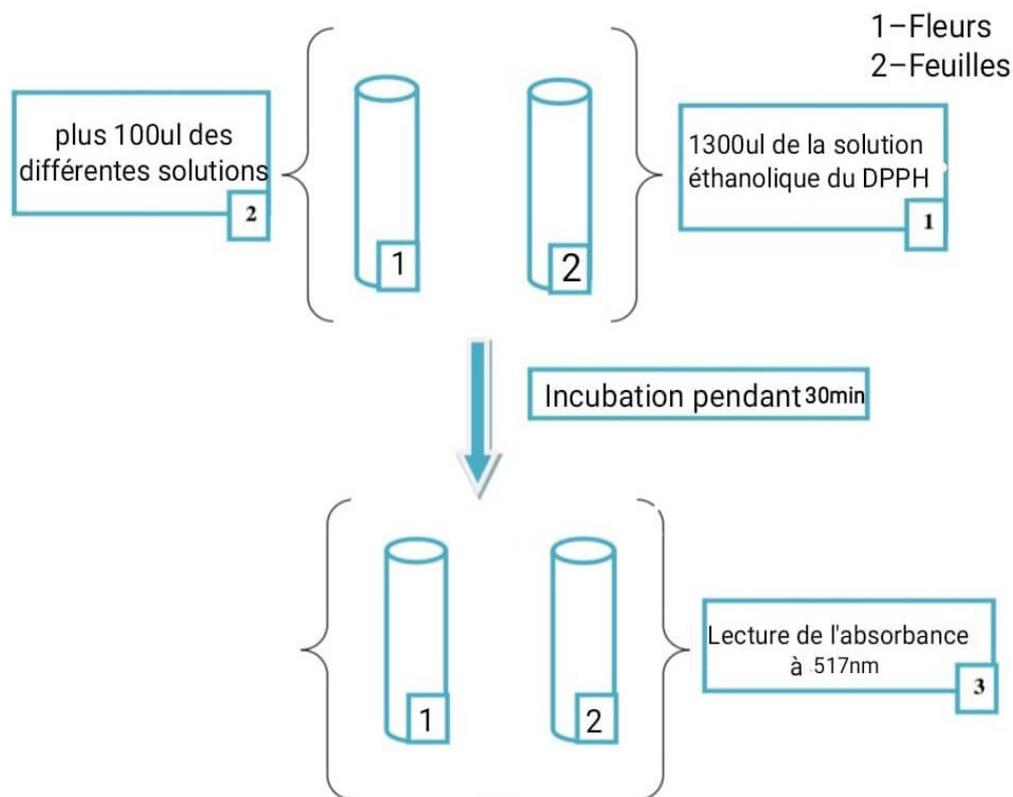


Figure 7 : Protocole du piégage du radical DPPH. (Cherfia et al., 2017; MATOUL., 2019)

L'activité anti-radicalaire a été évaluée selon la loi suivante:

$$\text{Activité antioxydante (\%)} = [(Ac - Ae) / Ac] \times 100$$

Ac: Absorbance du contrôle positif (Solution DPPH sans extrait).

Ae : Absorbance de l'échantillon.

- **Calcul des concentrations inhibitrices IC₅₀:**

La valeur d'IC₅₀ correspond à la concentration des extraits qui inhibe 50% des radicaux libres c'est-à-dire que l'IC₅₀ c'est la concentration qui réduit 50% des radicaux libres DPPH, cette valeur a été déduite à partir des résultats des différentes absorbances obtenues. Une faible IC₅₀ indique une forte activité antioxydante (GHNIMI., 2015; CHERFIA et al., 2017; ERENLER et al., 2016; MADI, 2018).

III. 2.6.2 Le pouvoir réducteur du fer (FRAP)

Le pouvoir réducteur du fer a été estimé par la méthode décrite par **Ferriera et al. (2007)**, avec quelques modifications (FERREIRA., 2007).

L'évaluation du pouvoir réducteur de fer se base sur la capacité des antioxydants qui sont les polyphénols présents dans les extraits à réduire le fer ferrique (Fe³⁺) en fer ferreux (Fe²⁺) par échange d'électrons, ce dernier peut-être quantifié en suivant l'augmentation de la couleur bleue cyanée qui est proportionnelle à la quantité du fer ferreux présent dans le milieu réactionnel à une longueur d'onde de 700nm (MATOU., 2019; MOUFFOUK., 2019)

Pour l'évaluation du pouvoir réducteur de fer dans les extraits des feuilles et des fleurs de "*Calycotome spinosa*", 250 µl de ces extraits avec des concentrations différentes (2mg/ml; 1,5mg/ml; 1mg/ml; 0,5mg/ml; 0,1mg/ml) ont été ajoutées à 250 µl de ferricyanure de potassium K₃[Fe(CN)₆] à 20% et à 250 µl du tampon phosphate (pH=6,8), puis les mélanges obtenus ont été vortexés et incubés pendant 20min à 50°C dans le bain-marie, après 250 µl de l'acide trichloracétique (TCA) à 10% ont été additionnées aux mélanges réactionnels précédents. Ensuite, pour 500 µl de chaque mélange, 100 µl du chlorure ferrique (FeCl₃) à 0,01% et 500 µl de l'eau distillée ont été ajoutés. En fin, l'ensemble a été incubé à l'obscurité avant d'être lu à 700nm par un spectrophotomètre, contre un blanc qui a été préparé avec le même protocole, avec le changement des 250 µl de l'extrait par 250 µl de l'éthanol. La valeur d'EC₅₀ est calculée à partir de la courbe de l'absorbance en fonction de la concentration de l'échantillon (BOUNIHI, 2016; KADA, 2018; MOUFFOUK, 2019).

L'absorbance augmente avec l'augmentation de l'efficacité du pouvoir réducteur des antioxydants (CHERFIA., 2020)

III. 2.6.3 Piégeage du radical-cation libre ABTS^{•+}

Le test de Piégeage du radical-cation libre ABTS^{•+} est réalisé selon la méthode décrite par (GHNIMI., 2015).

Cette méthode se base sur la capacité d'un antioxydant à rendre stable le radical ABTS^{•+} (sel d'ammonium de l'acide 2, 2' - azino bis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)) qui est instable. Ce radical cationique possède une couleur bleu verdâtre, il provient de l'oxydation de l'ABTS qui est transparent soit par le phosphate de potassium (KH_2PO_4), soit par le 2,2'-azo-bis (2-amidino-propane) dihydrochloride (AAPH) et il devient de nouveau incolore et stable lorsqu'il interagit avec un antioxydant donneur de H^\bullet (GHNIMI., 2015).

La solution de travail a été préparée par l'addition d'une solution mère d'ABTS 7 mm à une solution de persulfate de potassium (KH_2PO_4) à 2,4 mm avec les mêmes quantités, puis ces réactifs ont été laissés pour réagir pendant 14 h à température ambiante dans l'obscurité. 1 ml de cette solution a ensuite été dilué avec du méthanol jusqu'à où l'absorbance soit entre 0,7 et 0,8 à une longueur d'onde de 734 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. 60 μl d'extrait a été laissé réagir avec 2,94 ml de la solution d'ABTS et l'absorbance a été enregistrée à 734 nm après 7 min en utilisant un spectrophotomètre. La courbe d'étalonnage a été établie à partir des absorbances en fonction des différentes concentrations de vitamine C. Les résultats sont exprimés en unité d'équivalence de vitamine C par gramme de matière sèche (EVC/g MS) (ILAIYARAJA., 2015; GHNIMI., 2015)

Résultats et discussion

IV Résultats et discussion

IV.1 Rendement d'extraction

L'extraction est une étape clé pour la préparation des extraits des plantes qui servent à l'étude des métabolites secondaires, comme le cas des polyphénols qui ont une importante activité antioxydante (Kada., 2020).

La méthode d'extraction qu'on a utilisé dans notre étude est l'extraction par ultrasons car elle est plus accélérée, automatisée, et permet de donner un rendement élevé en polyphénols.

(Dahmoune et al., 2020).

Tableau II: Rendement des extraits éthanoliques des feuilles et des fleurs de "*Calycotome spinosa*. L."

Matrice	Rendement (%)
Feuilles	19,57
Fleurs	19,82

Les résultats représentés dans le Tableau 2 indiquent que les rendements des extraits éthanoliques des feuilles et des fleurs de '*Calycotome spinosa*.L." sont élevés et proches, le rendement des feuilles est égal à 19,57% et celui des fleurs est égal à 19,82%, c'est-à-dire que la différence entre le rendement des feuilles et des fleurs n'est pas significative selon le T test ($P > 0.05$). Les résultats obtenus soulignent l'importance de l'utilisation d'un solvant hydro-alcoolique (hydro-éthanolique) d'une polarité très élevée en comparaison à un solvant pur, ce mélange est composé de l'eau qui est le solvant le plus polaire et de l'éthanol, alors l'eau détruit les parois cellulaires pour faciliter à l'éthanol d'entrer en contact avec un grand nombre de solutés. (Saidi., 2020).

Ces résultats sont différents de ceux obtenus par Cherifa et al.(2020), qui ont travaillé sur les feuilles et les fleurs de "*Calycotome spinosa*.L." et qui ont trouvé que l'extrait méthanolique des feuilles possède le rendement le plus élevé qui est égal à $15,88 \pm 0,53$ % et ce rendement est inférieur à celui qu'on a obtenu, cela est dû à l'utilisation du méthanol qui est un solvant d'extraction non seulement très toxique pour le manipulateur mais aussi il peut interférer avec les molécules extraites (contaminant)

Les rendements d'extractions sont liés à plusieurs paramètres à savoir la méthode d'extraction, la durée d'extraction, la température qui peut causer la dégradation des substances thermolabiles, le solvant utilisé, la durée et les conditions de stockage. (Kada., 2020).

IV 2. Dosage des polyphénols totaux:

Les polyphénols et les flavonoïdes sont des métabolites secondaires connus par leurs multiples activités anti-oxydantes, on a choisi d'étudier ce type de métabolites secondaires parce qu'ils sont mentionnés dans une grande partie des nouvelles recherches et surtout dans le domaine de la thérapeutique antioxydante. (Saidi., 2020).

Le dosage des polyphénols totaux de la plante "*Calycotome spinosa* L." se fait par la méthode du folin Ciocalteu, selon la méthode décrite par El jemli et al., (2019) à l'aide d'une courbe d'étalonnage de l'acide gallique avec une équation de régression $y = 0,008x - 0,0451$ (Annexes 1).

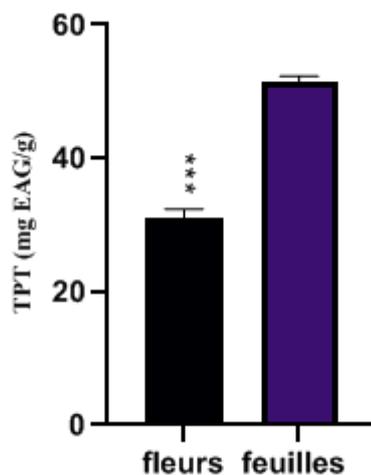


Figure 8: La teneur en polyphénols totaux (TPT) des fleurs et feuilles de *Calycotome spinosa* L

Les résultats présentés dans la figure 8 montrent une différence significative des teneurs en polyphénols totaux ($P < 0.0001$) entre les feuilles et les fleurs de *Calycotome spinosa* L.

La teneur en polyphénols totaux pour les fleurs est de $31,0958 \pm 0,58$ mg EAG/g et pour les feuilles est de $51,429 \pm 0,40$ mg EAG/g. Donc on peut remarquer facilement ici que la teneur des extraits éthanoliques des feuilles est plus élevée par rapport à celle des fleurs

IV.3 Dosage des flavonoïdes totaux

La détection de la quantité des flavonoïdes totaux contenus au niveau des extraits de *Calycotome spinosa* a été déterminée par la méthode décrite par (EL JEMLI et al 2019), à l'aide de la courbe d'étalonnage de la quercétine avec une équation de $y = 35,927x + 0,0015$ (Annexes 2).

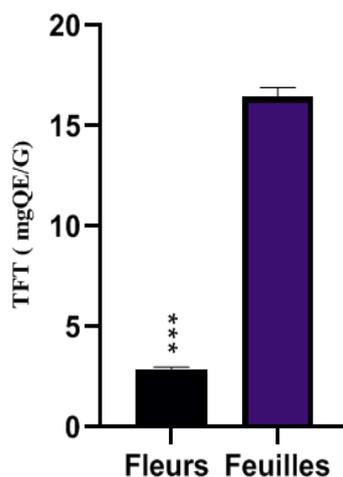


Figure 9: Teneur en flavonoïdes totaux (TFT) de *Calycotome* des fleurs et feuilles de *Calycotome spinosa* L.

Les résultats observés dans la figure 9 présentent une différence significative de la teneur en flavonoïdes totaux ($P < 0,0001$) entre les extraits éthanoliques des feuilles et des fleurs de *Calycotome spinosa* L.

La teneur en flavonoïdes totaux dans les extraits éthanoliques des feuilles est de l'ordre de $16,45 \pm 1,90$ mg EQ/g et dans les extraits éthanoliques des fleurs, elle est estimée à $2,89 \pm 1,65$ mg EQ/g, notant que ces valeurs sont inférieures à celles de polyphénols totaux.

Le travail réalisé par (Cherifa et al., 2020) sur les feuilles et les fleurs de *Calycotome spinosa* L a montré que la quantité des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux dans les fractions d'acétate d'éthyle des feuilles est la plus élevée et ces fractions ont les valeurs suivantes ($107,75 \pm 2,09$ mg GAE/g et $20,87 \pm 0,01$ mg QE/g pour les polyphénols et pour les flavonoïdes respectivement), ces résultats sont supérieurs par rapport à ceux de notre étude et cela est relié directement à la sélectivité des solvants pour les substances polaires ou apolaires. (Saidi., 2020).

Ces variations observées entre les polyphénols et les flavonoïdes sont influencées par plusieurs facteurs, dont on peut citer la période de récolte, le site de collecte, le climat des régions, ainsi que la partie de la plante.

En fait, les produits utilisés pour les différents dosages comme le réactif du folin Ciocalteu qui interfère avec des protéines, des sucres, l'acide ascorbique et des composés soufrés peuvent influencer sur les résultats obtenus. (MOUFFOUK., 2019).

IV.4 Détermination de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante est un ensemble de mécanismes qui conduisent à l'inhibition de toute sorte de radicaux libres soit par l'échange d'un hydrogène, soit par la chélation des métaux de transition ou bien par le blocage de l'activité des enzymes d'oxydation. L'estimation des activités antioxydantes doit se faire par un ensemble de méthodes (DPPH, FRAP, ABTS) dans le but d'identifier la capacité antioxydante des composés bioactifs qui ont une nature et un mode d'action différents. (Kada., 2020).

Dans la présente étude, l'activité antioxydante des extraits hydro-éthanoliques des feuilles et des fleurs de *Calicotome spinosa* a été évaluée selon la capacité de piégeage des radicaux libres notamment : ABTS^{•+}, DPPH ainsi que FRAP.

IV.4.1 Piégeage du radical libre DPPH

Ce test est le plus employé pour l'estimation de l'activité anti-oxydant parce qu'il est rapide, précis, facile à refaire

Le radical libre 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle contenant un électron célibataire sur un atome d'azote est un moyen efficace pour comprendre la relation structure activité antioxydante des polyphénols. La réduction de ce radical peut-être reconnue par le virage de la couleur violette de DPPH à la couleur jaune mesurable par spectrophotométrie à 514–518 nm. (MOUFFOUK., 2019).

Le pourcentage d'inhibition I (%) du DPPH par le "contrôle vitamine c" avec les extraits hydro-éthanoliques de *Calycotome spinosa* sont représentés dans la figure suivante

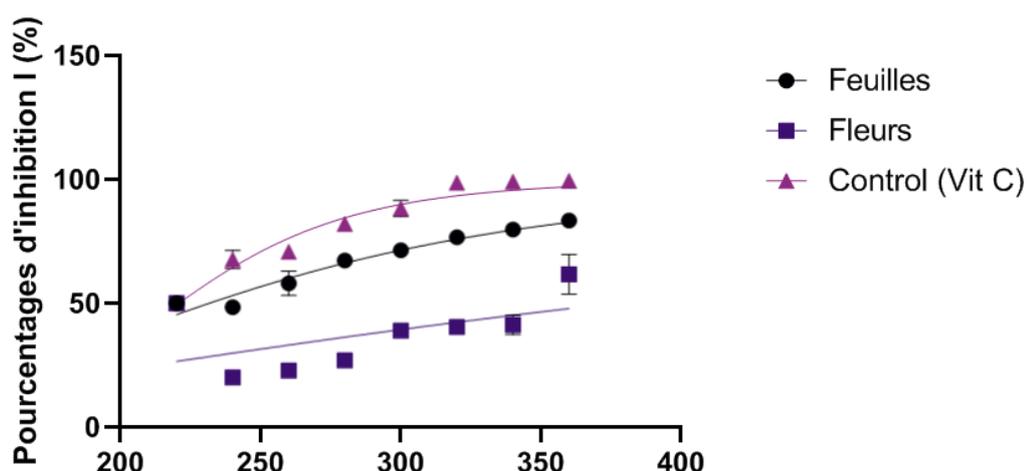


Figure 10: Pourcentages d'inhibition des extraits hydro-éthanoliques des feuilles et des fleurs de *Calycotome spinosa* L et du contrôle (vitamine C).

La figure 10 montre que les pourcentages des extraits hydro-éthanoliques des feuilles et des fleurs avec le contrôle qui est la vitamine "C" augmentent avec l'augmentation de la concentration. Leurs pourcentages d'inhibition sont compris entre 18.72 ± 0.98 % et 99.60 ± 1.2 %

A la plus grande concentration $360 \mu\text{g/ml}$, on a trouvé les pourcentages d'inhibition suivants: $61,72 \pm 0.10\%$, $83,48 \pm 1.1\%$, $99,46 \pm 2.31\%$. Pour les fleurs, les feuilles et pour le contrôle respectivement. Le contrôle possède le pourcentage d'inhibition le plus important, suivi de celui des feuilles et celui des fleurs en dernier lieu.

Pour l'évaluation de l'activité anti-radicalaire des extraits par le test DPPH, la IC_{50} a été calculée et elle correspond à la concentration de l'extrait qui peut réduire 50% des radicaux libres DPPH. (Matou., 2019).

La vitamine C est employée comme contrôle, sa courbe d'étalonnage a été établie avec une équation de régression $y = 5,0433x + 49,621$ (Annexes 3)

La IC_{50} est inversement proportionnelle à la capacité anti-radicalaire d'un composé, c'est-à-dire qu'une faible IC_{50} correspond à un fort pouvoir anti-radicalaire (Madi et al., 2019 ; Cherifa et al., 2020).

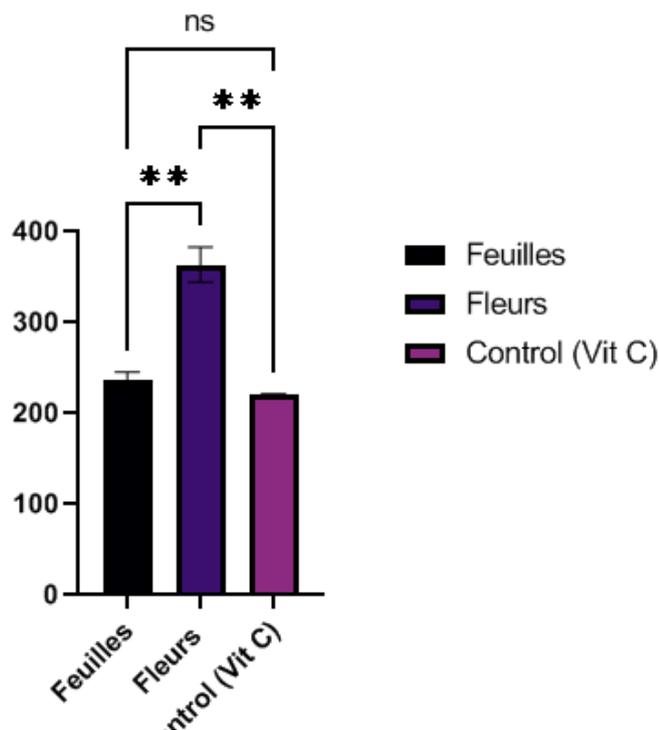


Figure 11: Les CI₅₀ de la vitamine C et des extraits hydro-éthanoliques des feuilles et des fleurs de *Calycotome spinosa*.L.

Les résultats observés dans la figure 11 présentent une différence significative entre l'IC₅₀ du contrôle (la vitamine C) et celle des fleurs (<0,0001), La différence est significative aussi entre l'IC₅₀ du contrôle (la vitamine C) et l'IC₅₀ des feuilles (P>0,005).

De plus, l'IC₅₀ de la vitamine "C" est plus faible par rapport à celle des fleurs et des feuilles, elle est de l'ordre de : $220,8 \pm 0,02$ mg/mL. Selon le T test, les IC₅₀ des deux matrices de la même plante présentent une différence significative (<0,0001). Autrement dire l'extrait éthanolique des feuilles possède une IC₅₀ faible par rapport à l'IC₅₀ des fleurs ($231,6 \pm 1,32$ mg/ml et $376,7 \pm 3,20$ mg/ml respectivement), Donc il possède une meilleure activité anti-radicalaire. L'origine de cette différence c'est la variation de la teneur en polyphénols entre les deux parties précédentes, ce qui veut dire, la partie la plus riche en polyphénols qui possède l'activité anti-radicalaire la plus élevée. (Cherifa et al., 2020, Kada., 2020).

Le travail réalisé par (Cherifa et al., 2020) sur les feuilles et les fleurs de *Calycotome spinosa* L. a montré que les extraits méthanoliques et d'acétate d'éthyle des feuilles étaient généralement plus actifs que ceux des fleurs avec des CI₅₀ plus faibles qui sont de l'ordre de: $0,4104 \pm 0,015$ mg/ml et de $0,4525 \pm 0,08$ mg/mL. Ces résultats sont inférieurs à ceux de notre

étude, ce qui signifie que leurs extraits ont une activité plus importante par rapport à nos extraits.

Selon Boudou et al (2021) , les extraits hydro-éthanoliques des tiges de *Calycotome spinosa* L. ont une capacité anti-radicalaire très puissante avec une CI_{50} égale à $(0,34 \pm 0,048 \text{ mg/ml})$ par la méthode d'extraction assistée par micro-ondes et une $CI_{50} = 0,67 \pm 0,041 \text{ mg/ml}$ par la méthode d'extraction assistée par ultrasons. Ces valeurs sont largement inférieures à celles qu'on a trouvées, l'activité du piégeage des radicaux libres DPPH de leurs extraits est meilleure par rapport à l'activité de nos extraits.

L'activité anti-radicalaire est liée à plusieurs facteurs, la région de récolte, le climat et le stade de développement de la plante, la partie de la plante, le solvant employé pour l'extraction et l'isolement (MOUFFOUK., 2019 ; Cherifa et al., 2020)

IV.4.2 Piégeage du radical libre ABTS

Ce test est basé sur la susceptibilité d'un antioxydant à réduire le radical cationique ABTS⁺ (acide 2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) instable de coloration bleu-verte en ABTS stable incolore, par la donation d'un H•.

Les pourcentages d'inhibition I (%) d'ABTS par le "contrôle vitamine C "avec les extraits hydro-éthanoliques de *Calycotome spinosa*.L sont représentés dans la figure suivante

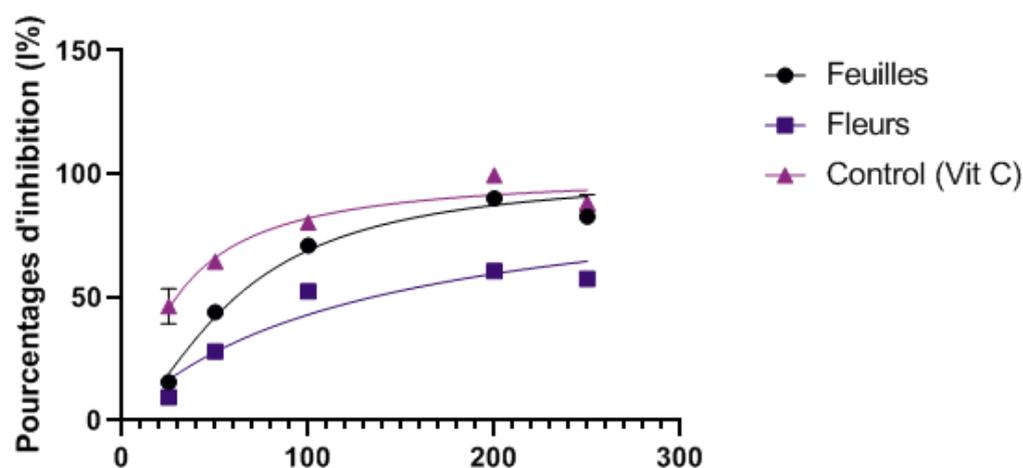


Figure 12: Pourcentages d'inhibition des extraits hydro-éthanoliques des feuilles et des fleurs de *Calycotome spinosa*.L et du contrôle (vitamine c).

La figure 12 montre que les pourcentages des extraits hydro-éthanoliques des feuilles et des fleurs avec le contrôle qui est la vitamine "C" augmentent avec l'augmentation de la concentration. Leurs pourcentages d'inhibition sont compris entre $8,91 \pm 1,30\%$ et $99,60 \pm 1,15\%$.

A la concentration maximale $200\mu\text{g/ml}$ on a trouvé les pourcentages d'inhibition suivants: $60,55 \pm 3,14\%$, $90,09 \pm 4,3\%$, $99,46 \pm 1,22\%$ pour les fleurs, les feuilles et pour le contrôle respectivement. Le contrôle possède le pourcentage d'inhibition le plus important, suivi de celui des feuilles, puis de celui des fleurs.

L'évaluation de l'activité anti-radicalaire des extraits par le test ABTS se fait de la même manière que le test DPPH en calculant la l'IC50

La vitamine C représente le contrôle, sa courbe d'étalonnage a été réalisée avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,9842$ et une équation de régression $y = 1,062x - 05,62$ (Annexes 4).

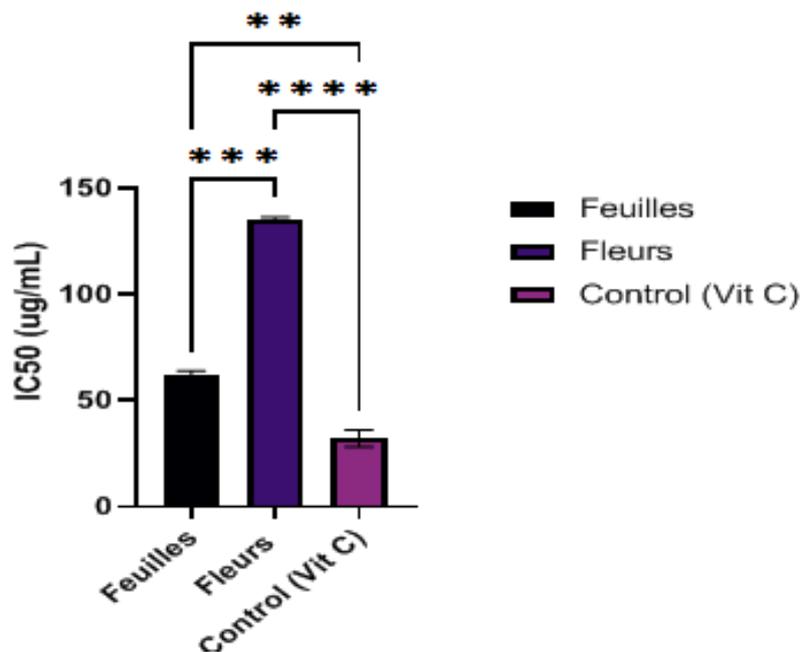


Figure 13: Les CI_{50} de la vitamine C et des extraits hydro-éthanoliques des feuilles et des fleurs de *Calycotome spinosa*.L. Par le test ABTS.

Les résultats observés dans la figure 13 présentent une différence très significative entre l'IC50 du contrôle (la vitamine C), des fleurs et des feuilles (<0.0001).

De plus, l'IC50 de la vitamine "C" est plus faible par rapport à celle des fleurs et des feuilles ($29,23 \pm 1,8 \text{ mg/mL}$). Selon le T test, les IC50 des deux parties de la même plante présentent

une différence très significative (<0.0001), c'est-à-dire que l'extrait éthanolique des feuilles possède une IC_{50} faible par rapport à l' IC_{50} des fleurs ($61,09 \pm 2,5$ mg/ml et $134,4 \pm 1,7$ mg/ml respectivement), Alors il a une activité anti-radicalaire plus importante par rapport à l'activité de l'extrait éthanolique des fleurs, ces résultats sont expliqués par le fait qu'il y a une forte corrélation entre la quantité des polyphénols et des flavonoïdes avec l'activité antioxydante de la partie où ces composés se trouvent (Kada, 2020). En plus cette différence provient de l'intensité de la synergie entre les polyphénols et d'autres éléments chimiques présents au niveau des feuilles ou au niveau des fleurs. (MOUFFOUK., 2019).

Selon Dzoyem et al.(2014), les extraits d'acétone des feuilles de *xylia tarreana* possèdent l'activité antiradicalaire la plus puissante par comparaison à huit autres espèces de la famille des fabaceae avec une IC_{50} de 3.960 ± 0.14 mg/ml . Ces résultats sont largement inférieurs à nos résultats ce qui veut dire que les extraits de feuilles de cette espèce ont un pouvoir réducteur plus puissant par rapport aux extraits de *Calycotome spinosa*.L qu'on étudie.

Les fluctuations des résultats obtenus sont dues à plusieurs facteurs à savoir, la différence des régions de récolte et les conditions environnementales qui peuvent jouer sur la composition chimique de la plante, donc elle va influencer sur l'activité antioxydante de ces derniers.

(MOUFFOUK., 2019).

IV.4.3 Pouvoir réducteur du fer (FRAP)

FRAP est basé sur la capacité d'une substance chimique à réduire le fer ferrique Fe^{3+} en fer ferreux Fe^{2+} par le transfert d'électrons, c'est une méthode rapide, simple, facile et reproductible .la quantité du Fe^{2+} obtenue peut-être suivie par l'augmentation de l'intensité de la couleur qui est proportionnelle au pouvoir réducteur de l'échantillon analysé. (MOUFFOUK., 2019; Kada., 2020).

Le pouvoir réducteur du fer a été estimé par la méthode décrite par (Ferreira et al., 2007), pour l'évaluation de ce pouvoir pour les extraits par le test FRAP, la EC_{50} a été calculée. Cette dernière correspond à la concentration à laquelle l'absorbance est égale à 0,5, en plus l'augmentation de l'absorbance signifie qu'il y a une augmentation du pouvoir réducteur des extraits. De plus, l'activité réductrice est inversement proportionnelle à l' EC_{50} , ce qui veut dire que c'est l'extrait ayant une faible EC_{50} qui a un pouvoir réducteur important. (Cherifa et al., 2020) .

Les résultats du pouvoir réducteur des deux parties de la plante et de la vitamine C sont représentés dans la figure suivante:

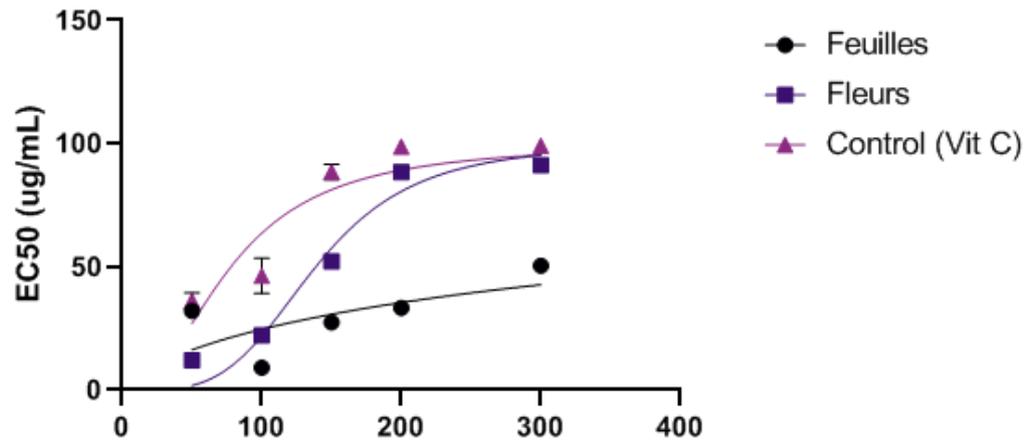


Figure 14 : Pouvoir réducteur de la vitamine C, des extraits hydro-éthanoliques des feuilles et des fleurs de *Calycotome spinosa*.L.

A partir des résultats présentés sur la courbe ci-dessus, les EC₅₀ de la vitamine C, des extraits hydro-éthanoliques des feuilles et des fleurs augmentent avec l'augmentation de la concentration.

La courbe d'étalonnage de la vitamine C (contrôle) a été réalisée avec une équation de régression $y = 4,2938x - 0,0384$ (Annexes 5).

L'histogramme suivant représente les différentes EC₅₀ du contrôle et des deux extraits (feuilles et fleurs).

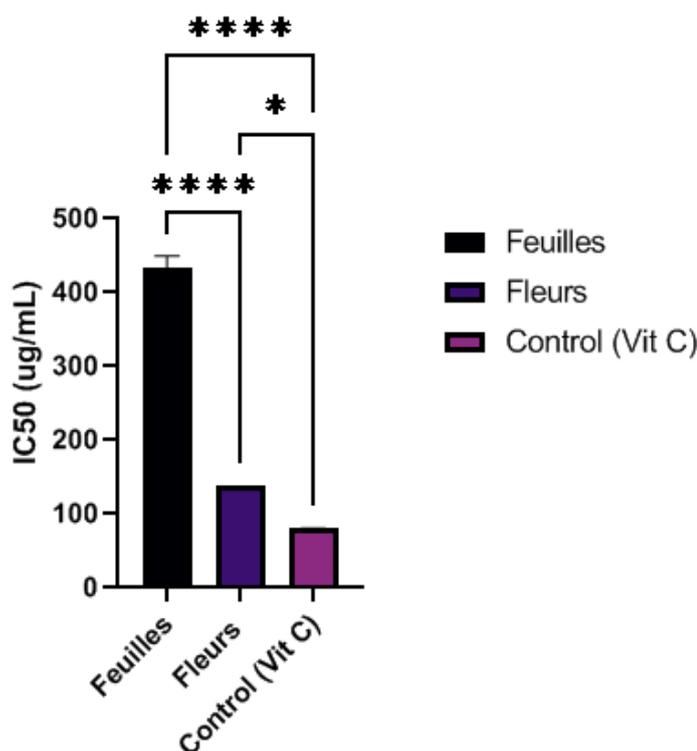


Figure 15: Les EC₅₀ de la vitamine C des extraits hydro-éthanoliques des feuilles et des fleurs de *Calycotome spinosa*.L. par le test FRAP.

Les résultats observés dans la figure 15 montrent qu'il y a une différence très significative entre la EC₅₀ du contrôle (la vitamine C) et la EC₅₀ des feuilles ($P < 0,0001$). La différence est peu significative entre la EC₅₀ du contrôle (la vitamine C) et celle des fleurs. Les valeurs de ces EC₅₀ varient entre $78,05 \pm 3,81$ mg/mL et $444,7 \pm 0,98$ mg/mL.

Le pouvoir réducteur du fer des deux extraits est inférieur à celui de la vitamine C. A partir des résultats obtenus par le T test, les EC₅₀ des deux matrices de la même plante présentent une différence très significative ($< 0,0001$). Brièvement, l'extrait hydro-éthanolique des feuilles possède la EC₅₀ la plus élevée $444,7 \pm 0,98$ mg/mL. Suivie de celle des fleurs ($138,9 \pm 1,59$ mg/mL) et de la vitamine C ($78,05 \pm 3,81$ mg/mL), ça veut dire que les deux extraits possèdent un pouvoir réducteur non-négligeable et cela c'est une preuve de leur capacité de donation d'électrons et donc leur capacité de neutraliser les radicaux libres.

(Kada., 2020).

Selon **Cherifa et al. (2020)**, les extraits méthanoliques et d'acétate d'éthyl des feuilles de *Calycotome spinosa*.L possèdent le pouvoir réducteur le plus puissant avec des EC₅₀ de $0,76373 \pm 0,32$ et $0,78004 \pm 1,36$ mg/mL. Ces résultats sont inférieurs à nos résultats ce qui signifie que leurs extraits de feuilles ont un pouvoir réducteur plus important.

En effet, Le pouvoir réducteur d'une substance chimique ou d'un échantillon signifie qu'il a une forte activité antioxydante (MOUFFOUK., 2019).

Ainsi, L'activité antioxydante des polyphénols est liée directement à leurs propriétés redox grâce aux quelles ils peuvent agir comme agents réducteurs, donneurs d'hydrogène ou d'électrons ou comme chélateurs de métaux. (Boudou et al., 2021).

Conclusion et perspective

Conclusion et perspective

Dans le cadre de cette étude, le dosage des polyphénols et des flavonoïdes avec la capacité antioxydante des extraits hydro-éthanoliques des feuilles et des fleurs de *Calycotome spinosa* L. ont été évalués.

Dans la lumière de ces expériences, le dosage des polyphénols et des flavonoïdes totaux, a montré que la teneur en ces composés dans l'extrait hydro-éthanolique des feuilles est plus élevée par rapport à celle de l'extrait des fleurs.

Dans une autre série d'expériences, la capacité antioxydante des mêmes extraits a été évaluée par trois tests : Le test de piégeage des radicaux libres DPPH, le pouvoir réducteur du fer FRAP ainsi que le test de piégeage des radicaux libres ABTS^{•+}. Alors la capacité antiradicalaire la plus importante a été révélée par les tests (DPPH) et (ABTS^{•+}) pour les extraits des feuilles. Par contre le test (FRAP) a indiqué que c'est l'extrait hydro-éthanolique des fleurs qui possède un pouvoir réducteur plus élevé.

En effet, les parties aériennes de *Calycotome spinosa* L. servent comme une très bonne source de composés antioxydants qui peuvent être exploitée dans plusieurs domaines notamment, le domaine industriel, alimentaire ainsi que pharmaceutique pour la prévention des pathologies.

En fait, on espère qu'il y ait un développement de la recherche scientifique sur d'autres activités des extraits hydro-éthanoliques des feuilles et des fleurs de '*Calycotome spinosa*', comme l'activité antiparasitaire, bactérienne et antifongique en utilisant la méthode des ultrasons.

Références bibliographiques

B

Boudou, F., Mostefai, C., Hadj-Mahammed, M., Zaoui, O., Oughlissi-Dehak, K., Bouziane M, Zaoui F. (2021). Phytochemical content and antioxidant activity of aqueous and hydro-ethanolic extracts of *Calycotome spinosa* using conventional and unconventional extraction methods, *Journal of Experimental Research*, 9 (1). 22-28.

Bounihi, A. (2016). Criblage phytochimique, Étude Toxicologique et Valorisation Pharmacologique de *Melissa officinalis* et de *Mentha rotundifolia* (Lamiacées). Thèse de doctorat, Université de RABAT.1-199

Boubakr, S., Ali, L., Zoheir, M., Zahra, H., Mohamed, D., Boukeur, A. (2015). Floristic, Ethnobotanical and Phytotherapy Studies of Medicinal Plants Spontaneous in the Area of Mountains Tessala, Western Algeria. *Global Journal of Medicinal Plants Research*, 3(5), 1-16.

C

Cherfia, R., Kacem Chaouche, N. (2020). Research of antimicrobial potentialities of an endemic plant of the genus-*Calycotome*. thèse de doctorat, l'université frères Mentouri Constantine 1.

Cherfia, R., Ali, M. K., Talhi, I., Benaissa, A., Chaouche, N. K. (2017). Phytochemical analysis, antioxidant and antimicrobial activities of leaves and flowers ethyl acetate and n-butanol fractions from an Algerian endemic plant *Calycotome spinosa* (L.) Link. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 9(12), 185-196.

Cherfia, R., Kara Ali1, M., Talhi, I., Benaissa, A., Kacem Chaouche, N, (2017). Analyse phytochimique, antioxydant et antimicrobien activités des feuilles et des fleurs acétate d'éthyle et n fractions de butanol d'une plante endémique algérienne *Calycotome épineux*(L.) Lien. Département de génie pharmaceutique, Faculté de génie des procédés, Université Constantine 3

Cherfia, R., Zaiter, A., Akkal, S., Chaimbault, P., Abdelwahab, AB, Kirsch, G., & Chaouche, NK (2020). Nouvelle approche dans la caractérisation des composés bioactifs isolés des feuilles de *Calycotome spinosa* (L.) Link par l'utilisation de l'ionisation négative par électrospray LITMSn, LC-ESI-MS/MS, ainsi que l'analyse RMN. *Chimie bioorganique* , 96 , 103535.

Références bibliographiques

D

Dahmoune, F., Boulekbache, L., Moussi, K., Aoun, O., Spigno, G., & Madani, K. (2013). Valorisation des résidus de Citrus limon pour la récupération des antioxydants : Évaluation et optimisation de l'application des micro-ondes et des ultrasons à l'extraction par solvant. *Cultures et produits industriels* , 50 , 77-87

Damerdji, A. (2012). Les Orthoptéroïdes sur différentes plantes dans la région de Tlemcen (Algérie). *Afrique Science : Revue Internationale des Sciences et Technologies*, 8 (3), 82-92.

Damerdji, A., Djeddid, A. (2012). les orthoptéroïdes associés à une plante xérophile (calycotome spinosa l. (link)) (fabacees) dans la région de tlemcen (nord-ouest algérien). Département d'Ecologie et Environnement,20, 1-111.

E

EL JEMLI, M. (2019). contribution a l'etude ethnobotanique, toxicologique, pharmacologique et phytochimique de quatre cupressacees marocaines: juniperus thurifera l., juniperus oxycedrusl., juniperus phoenicea l. et tetraclinis articulatal. Thèse de doctorat, Université de RABAT.1-204

Erenler, R., Sen, O., Aksit, H., Demirtas, I., Yaglioglu, AS, Elmastas, M., & Telci, I. (2016). Isolement et identification des constituants chimiques d'Origanum majorana et étude des activités antiprolifératives et antioxydantes. *Journal des sciences de l'alimentation et de l'agriculture* , 96 (3), 822-836.

F

Ferreira, IC, Baptista, P., Vilas-Boas, M. et Barros, L. (2007). Capacité de piégeage des radicaux libres et pouvoir réducteur des champignons sauvages comestibles du nord-est du Portugal : activité individuelle du chapeau et du stipe. *Chimie alimentaire* , 100 (4), 1511-1516.

G

Garait, B. (2006). Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la GliSODin®.Thèse de doctorat, Université de Joseph-Fourier-Grenoble I France.1-196

Références bibliographiques

Ghnimi, W. (2015). Étude phytochimique des extraits de deux Euphorbiaceae: Ricinus communis et Jatropha curcas. Évaluation de leur propriété anti-oxydante et de leur action inhibitrice sur l'activité de l'acétylcholinestérase. Thèse de doctorat, Université de Lorraine.1-244

H

Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10), 628-38.

I

Ilaiyaraja, N., Likhith, KR, Babu, GS et Khanum, F. (2015). Optimisation de l'extraction des composés bioactifs du fruit de Feronia limonia (pommier des bois) à l'aide de la méthodologie de surface de réponse (RSM). *Chimie alimentaire*, 173, 348-354.

K

Kada, S. (2018). Recherche d'extraits de plantes médicinales doués d'activités biologiques.

Thèse de doctorat, Université Ferhat Abbas Sétif .1-172

L

Lahsissene, H., Kahouadji, A., & Hseini, S. (2009). Catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de Zaër (Maroc Occidental). *Lejeunia, revue de botanique*. 30-1

Larit, F., Benyahia, S., Benayache, S., Benayache, F., Léon, F., Brouard, I., & Bermijo, J. (2012). Flavonoïds from Calycotome spinosa (L.). *Lamk. Int J Med Arom Plants*, 2(1), 34-37.

Lattanzi, E. (2008). La distribution de trois espèces du genre Calicotome en Ita. *Flora Mediterranea*, 18 , 123-125.

M

Madi, A., & Belkhiri, A. (2018). Caractérisation phytochimique et évaluation des activités biologiques de Cleome arabica. Thèse de doctorat, Université frères Mentouri Constantine.1-157

Références bibliographiques

Matou, M. (2019). Composition et propriétés biologiques d'extraits de *Phyllanthus amarus* Schumacher et Thonning (1827) utilisés en médecine traditionnelle aux Antilles. Thèse de doctorat, Université des Antilles. 1-212

Mayouf, N. (2019). Propriétés antioxydante, anti-inflammatoire et immunomodulatrice des extraits d'*Asphodelus micro-carpus*. Thèse de Doctorat, Université de Farhat Abbas, Sétif. 1-151

Mechergui, K., SALEH, A., Naghmouchi, S., & Jaouadi, W. (2021). Ecological diversity of spiny broom (*Calicotome villosa* (Poir.) Link) and sweet broom (*Genista spachiana*) of three different provenances: chemical composition, secondary compounds of shrub leaves and responses to drought stress. *Applied ecology and environmental research*, 19(5), 3717-3735.

Migdal, C., Serres, M. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *Médecine/sciences*, 27(4), 405-412.

Mokhtari, M. (2012). Etude phytochimique de la plante *Calicotome spinosa* Link. Thèse de Doctorat, Université de Batna. 1-113

Morel, S. (2011). Etude phytochimique et évaluation biologique de *Derris ferruginea* Benth. (Fabaceae). Thèse de Doctorat, Université d'Angers. 1-266

Mouffouk, C. (2019). Évaluation des activités biologiques et étude de la composition chimique de la plante *Scabiosa stellata* L. Thèse de doctorat, Université de Batna 2.1-237

Muanda F. (2010). Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Thèse de doctorat, Université de Lorraine. 1-295

N

Ngene, J. P., Ngoule, C. C., Kidik, C. P., Ottou, P. M., Dibong, S. D., & Mpondo, E. M. (2015). Importance dans la pharmacopée traditionnelle des plantes à flavonoïdes vendues dans les marchés de Douala est (Cameroun). *Journal of Applied Biosciences*, 88, 8194-8210.

P

Peirs, C. (2005). Contribution à l'étude phytochimique de *Galega officinalis* L. (Fabaceae). Thèse de Doctorat, Université de TOULOUSE. 1-272

Références bibliographiques

S

Saidi, B., Ali, L., Zoheir, M., Zahra, H., Mohamed, D. et Boukeur, A. (2015). Études floristiques, ethnobotaniques et phytothérapeutiques des plantes médicinales spontanées dans la région des montagnes de Tessala, ouest algérien. *Journal mondial de recherche sur les plantes médicinales*, 3 (5), 1-16.

SAIDI, I. (2019). Caractérisation et valorisation d'une plante de la famille des fabaceae: *Gleditsia triacanthos* de la région de Sidi Bel Abbès: Extraction des substances bioactives
Thèse de Doctorat, Université de DJILLALI LIABÈS Sidi Bel Abbés. 1-188

Salmi, A., Boulila, F., Bourebaba, Y., Le Roux, C., Belhadi, D., & De Lajudie, P. (2018). Diversité phylogénétique des souches de *Bradyrhizobium nodulans* *Calicotome spinosa* L. dans le Nord-Est algérien. *Microbiologie systématique et appliquée*, 41 (5), 452-459.

W

Wojciechowski, MF, Lavin, M. et Sanderson, MJ (2004). Une phylogénie des légumineuses (Leguminosae) basée sur l'analyse du gène *matK* du plaste résout de nombreux sous-clades bien pris en charge au sein de la famille. *Journal américain de botanique*, 91 (11), 1846-1862.

Résumé

Résumé

L'objectif principal de cette étude porte sur l'évaluation des potentiels antioxydants des extraits de feuilles et fleurs de *Calicotome Spinosa* L, pour des applications pharmacologiques. Tout d'abord, les extraits hydro-éthanolique de feuilles, et de fleurs de cette plante ont été préparés par ultrason. Ensuite, les extraits obtenus ont passé par une analyse quantitative des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux à l'aide de Folin ciocalteu, $AlCl_3$, respectivement. et par les tests d'évaluation de l'activité antioxydante à savoir, l'activité de piégeage des radicaux libres DPPH, le pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP) et l'activité de piégeage des radicaux ABTS. Les résultats obtenus ont montré que les fleurs ont le rendement le plus important (19,82%). Par contre, les feuilles ont révélé les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux qui sont de l'ordre de 51,429 mg EAG/mg, et 16,45mg EQ/mg, consécutivement. Ainsi la meilleure activité de piégeage des radicaux libres DPPH a été exprimée par l'extrait de feuilles avec une IC_{50} de 231,5 mg/ml, cela est pareil pour l'activité de piégeage des radicaux ABTS qui est remarquable pour le même extrait avec une IC_{50} de 61.09 mg/ml. De plus, le meilleur pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP) a été exprimé par l'extrait de fleurs avec une EC_{50} de 138.9 mg/ml. Les résultats précédents ont confirmé que *Calycotome spinosa*, en particulier les feuilles, pourrait être utilisé comme source de composés bioactifs thermorésistants aux propriétés antioxydantes intéressantes.

Mot clé: *Calycotome spinosa*, activité antioxydante, thermorésistants.

Abstract

The main objective of this study concerns the evaluation of the potential antioxidants of extracts of leaves and flowers of *Calicotome Spinosa* L, for pharmacological applications.. First of all, the hydro-ethanolic extracts of leaves and flowers of this plant were prepared by ultrasound. Then, the obtained extracts went through quantitative analysis of total polyphenols and total flavonoids using Folin ciocalteu, $AlCl_3$, respectively. And by antioxidant activity evaluation tests, namely, DPPH free radical scavenging activity, ferric reducing antioxidant power (FRAP) and ABTS radical scavenging activity. The results obtained showed that the flowers have the highest yield (19.82%). On the other hand, the leaves revealed the highest contents of total polyphenols and total flavonoids which are of the order of 51.429 mg EAG/mg, and 16.45mg EQ/mg, consecutively. Thus the best DPPH free radical scavenging activity was expressed by the leaf extract with an IC_{50} of 231.5 mg/ml, this is the same for the ABTS radical scavenging activity which is remarkable for the same extract with an IC_{50} of 61.09 mg/ml. Moreover, the best ferric reducing antioxidant power (FRAP) was expressed by the flower extract with an EC_{50} of 138.9 mg/ml. Previous results confirmed that *Calycotome spinosa*, especially the leaves, could be used as a source of heat-resistant bioactive compounds with interesting antioxidant properties.

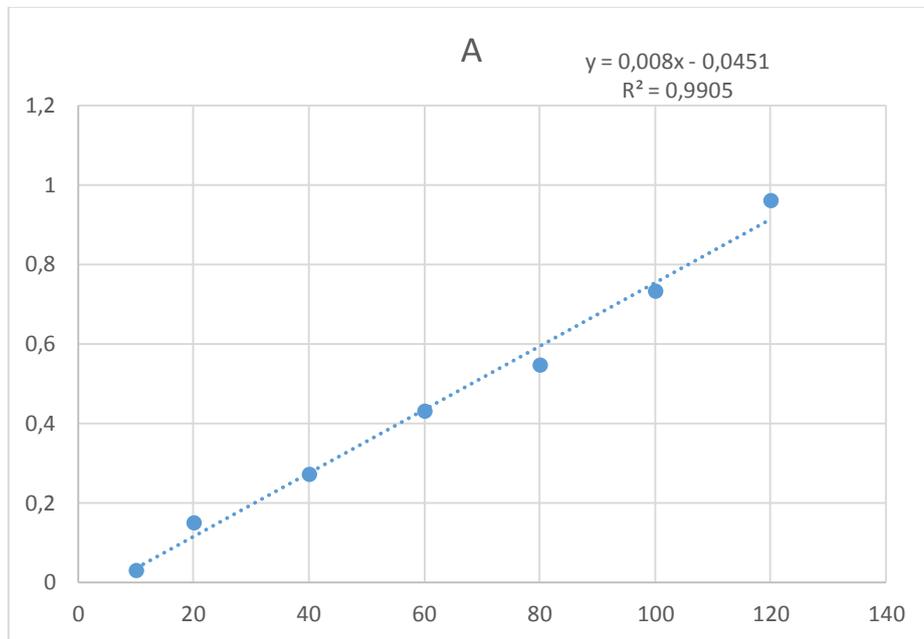
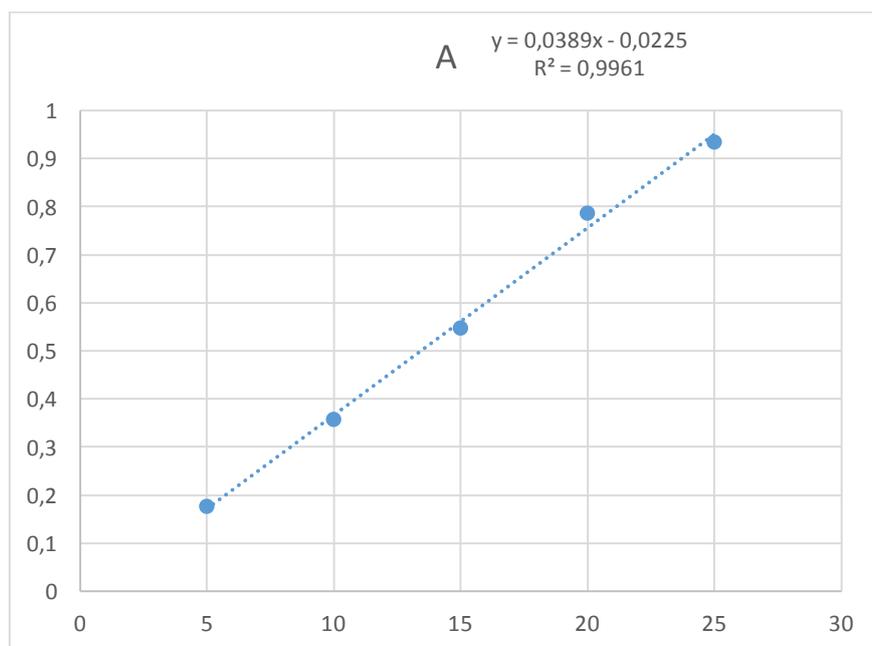
Key words: *Calycotome spinosa*, antioxidant activity, thermoresistant.

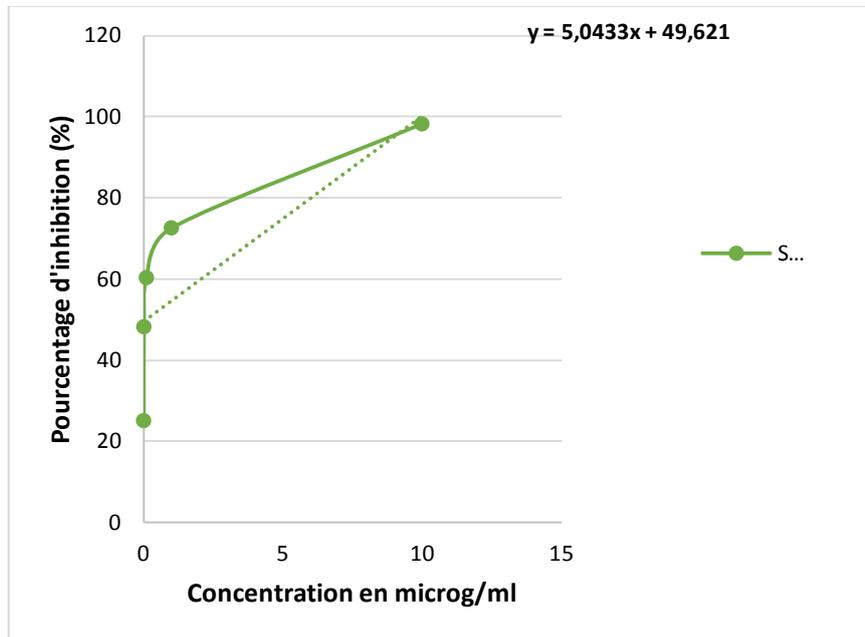
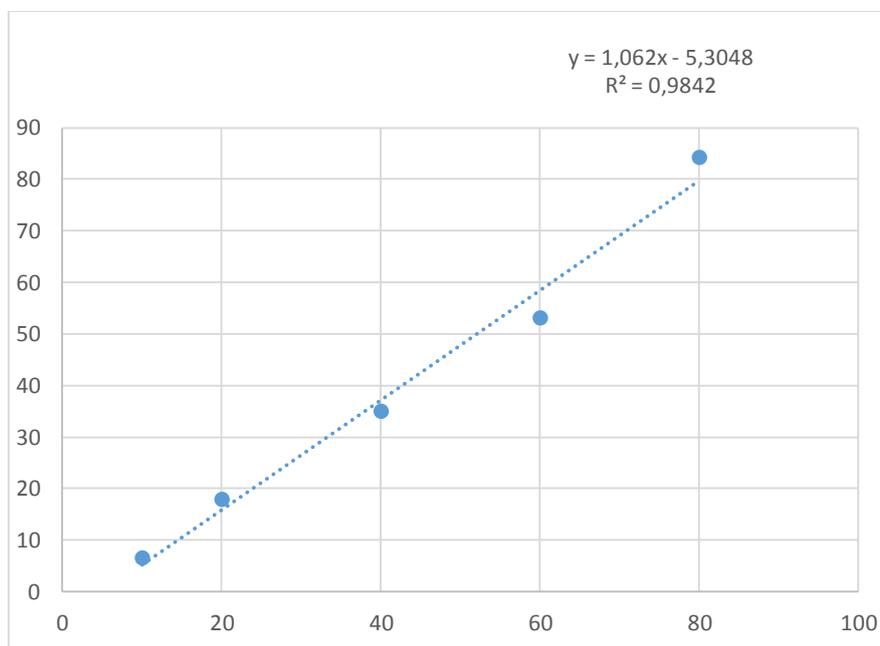
المخلص

يتعلق الهدف الرئيسي من هذه الدراسة بتقييم مضادات الأكسدة لمستخلصات أوراق وأزهار *Calicotome Spinosa* L، للتطبيقات الدوائية. في البداية، تم تحضير المستخلصات المائية الإيثانولية لأوراق وأزهار هذا النبات بواسطة الموجات فوق الصوتية. بعد ذلك، خضعت المستخلصات التي تم الحصول عليها لتحليل كمي لمجموع البوليفينول والفلافونويد الكلي باستخدام Folin ciocalteu، $AlCl_3$ ، على التوالي. كما خضعت إلى اختبارات تقييم النشاط المضاد للأكسدة، وهي نشاط كسح الجذور الحرة DPPH، اختزال الحديد (FRAP) ونشاط الكسح الجذور الحرة ABTS. أظهرت النتائج أن الأزهار لديها أعلى مردود (19.82%)، من ناحية أخرى، أعطت الأوراق أعلى محتوى من البوليفينول الكلي والفلافونيدات الكلية والتي بلغت 51.429 mg/EAG mg، و 16.45 mg EQ/mg (16.45 mg EQ/mg) على التوالي. وبالتالي، تم التعبير عن أفضل نشاط لإزالة الجذور الحرة DPPH من خلال مستخلص الأوراق مع IC_{50} مع 231.5 ملغ / مل، بالإضافة إلى نشاط كبير في إزالة الجذور الحرة ABTS لنفس المستخلص مع IC_{50} من 61.09 ملغ / مل. علاوة على ذلك، تم التعبير عن أفضل مضادات لاخترزال الحديد (FRAP) بواسطة مستخلص الزهرة مع EC_{50} بقيمة 138.9 ملغ / مل. أكدت النتائج السابقة أن *Calycotome Spinosa* L، وخاصة الأوراق، يمكن استخدامها كمصدر للمركبات النشطة بيولوجيًا المقاومة للحرارة ذات الخصائص المضادة للأكسدة المثيرة للاهتمام. البوليفينول والفلافونويد الكلي باستخدام Folin ciocalteu، $AlCl_3$ ، على التوالي. كما خضعت إلى اختبارات تقييم النشاط المضاد للأكسدة، وهي نشاط كسح الجذور الحرة DPPH، اختزال الحديد (FRAP) ونشاط الكسح الجذور الحرة ABTS. أظهرت النتائج أن الأزهار لديها أعلى مردود (19.82%) من ناحية أخرى، أعطت الأوراق أعلى محتوى من البوليفينول الكلي والفلافونيدات الكلية والتي بلغت 51.429 mg/EAG mg، و 16.45 mg EQ/mg (16.45 mg EQ/mg) على التوالي. وبالتالي، تم التعبير عن أفضل نشاط لإزالة الجذور الحرة DPPH من خلال مستخلص الأوراق مع IC_{50} مع 231.5 ملغ / مل، بالإضافة إلى نشاط كبير في إزالة الجذور الحرة ABTS لنفس المستخلص مع IC_{50} من 61.09 ملغ / مل. علاوة على ذلك، تم التعبير عن أفضل مضادات لاخترزال الحديد (FRAP) بواسطة مستخلص الزهرة مع EC_{50} بقيمة 138.9 ملغ / مل. أكدت النتائج السابقة أن *Calycotome Spinosa* L، وخاصة الأوراق، يمكن استخدامها كمصدر للمركبات النشطة بيولوجيًا المقاومة للحرارة ذات الخصائص المضادة للأكسدة المثيرة للاهتمام.

الكلمات المفتاحية: *Calycotome Spinosa*، مضادات الأكسدة، مقاومة للحرارة

Annexes

Annexe 01: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique**Annexe 02: Courbe d'étalonnage de la Quercétine**

Annexe 03: Courbe d'étalonnage de la vitamine C de DPPH**Annexe 04:** Courbe d'étalonnage de la vitamine C de l'ABTS

Annexe 05: Courbe d'étalonnage de la vitamine C de FRAP

