

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة امحمد بوقرة بومرداس
Université M'hamed Bougara de Boumerdès



Faculté des Sciences
Département de Biologie

MEMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du **Diplôme de Master en Biologie**

Filière : Science de la Nature et de la Vie

Spécialité: Biologie des Populations et des Organismes

Thème

Etude de l'effet antioxydant de la plante *Sophora japonica* L.
(Fabaceae) de la région de Boumerdes.

Réalisé par

M^{elle} Djemai Imen

M^{elle} Zougari Chahrazed

Soutenu publiquement le , devant le jury composé de :

Mme YAHIAOUI AICHAOUI Karima

MCA

UMBB

Présidente

Mme BENHABYLES-BOUTTABA Narimen

MCB

UMBB

Promotrice

Mme BOUMAZA Sarah

MAB

UMBB

Examinatrice

Année universitaire 2019-2020.

Remerciements :

Nous remercions tout d'abord le bon Dieu, le tout puissant qui nous a donné le pouvoir, le courage et la patience pour élaborer ce mémoire.

Nous tenons à remercier vivement :

Notre Promotrice: Mme BETHABULES , qu'il trouve ici l'expression de notre vive reconnaissance pour sa disponibilité, son aide, ses conseils, ainsi qu'à ses qualités relationnelles et humaines.

Notre Présidente: Mme NAHIAOUI , d'avoir accepté de présider ce jury et d'apporter ses appréciations sur notre travail.

Mme BOUMAZA , qui nous a fait l'honneur d'examiner ce travail.

A la fin, nos sentiments de reconnaissance et nos remerciements vont à tous ceux qui ont manifesté leur soutien de près ou de loin dans la réalisation de notre travail.

Merci à Tous...

Dédicaces:

Nous dédions ce modeste travail à nos chers :

Parents

Frères et soeurs

Amies

Nos collègues

*Et **A** tous ceux que nous aimons.*

YMEN & CHARAZED

Liste des abréviations

% : pourcentage.

ABS : absorbance.

ABTS: 2, 2 azinobis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid.

AlCl₃: Trichlorure d'aluminium.

BHT: butyl-hydroxy-toluène.

Cl⁻ : anion de chlore.

D.O: Densité Optique.

DPPH: radical 1, 1-Diphényl-2 picrylhydrazyl.

e⁻: électron.

EAG/gMS: Equivalent d'Acide Gallique par gramme de Matière Sèche.

EC/g MS : Equivalent de la catéchine par gramme de matière sèche.

EQ/gMS : Equivalent de Quercétine par gramme de Matière Sèche.

ERN : Espèce Réactives d'azote.

ERO : Espèces Réactives de l'oxygène.

Fe²⁺ : anion de fer.

FeCl₂ : chlorure de fer.

FRAP: Ferric reducing antioxydant power.

H⁺: anion d'hydrogène.

H₂O₂: eau oxygéné.

IC₅₀: Concentration Inhibitrice 50.

LOOH :hydroperoxyde.

min : minute.

ml : millilitre.

mM :milimolaire.

NH₂: groupements amines.

nm: nanomètre.

OH°: Radical hydroxyl.

PI% : Pourcentage d’Inhibition.

R: rendement.

RL : Radicaux Libres.

ROO°: Radicaux libres peroxylés.

ROS: Reactive oxygen species.

SOD: super-oxyde dismutase.

TCA: Acide trichloroacétique.

UV : Ultraviolet.

µg : Microgramme.

Liste des figures

Figure 1. Distribution de <i>Sophora japonica</i> L. dans le monde.....	03
Figure 2. Photo de l'arbre dans son lieu de récolte.....	04
Figure 3. Effets biologiques des polyphénols.....	14
Figure 4. Balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants.....	21
Figure 5. Neutralisation d'un radical libre par un antioxydant.....	21
Figure 6. Sources de production des radicaux libres.....	24
Figure 7. Réseau des antioxydants.....	25
Figure 8. Plante <i>Sophora japonica</i> L. prise dans son milieu systématique.....	28
Figure 9. Poudre végétale de la plante <i>Sophora japonica</i> L.	29
Figure 10. Carte géographique de la région de Boumerdes.....	30
Figure 11. Schéma récapitulatif des différentes étapes de travail.....	31
Figure 12. Mécanisme de la réaction du 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) avec un antioxydant.....	38
Figure 13. Mécanisme réactionnel du test FRAP (ferrique reducing antioxydant power).....	39
Figure 14. Oxydation de la ABTS par le persulfate de potassium de $ABTS^{+^{\circ}}$	41

Liste des tableaux

Tableau I. Classification botanique de <i>Sophora japonica</i> L.....	04
Tableau II. Les principales classes des composées phénoliques.	09
Tableau III. Propriétés des composés phénoliques.....	17
Tableau IV. Les principaux radicaux libres.....	23

Sommaire

Introduction.....	01
-------------------	----

Revue bibliographique

Chapitre I. La plante *Sophora japonica* L.

I.1. Origine	03
I.2. Systématique et classification de la plante	03
I.3. Description botanique.....	05
I.4. Composition biochimique.....	05
I.5. Multiplication et propagation.....	05
I.5.1. Multiplication naturelle.....	06
I.5.2. Multiplication artificielle.....	06
I.6. Intérêt et utilisation de <i>Sophora japonica</i> L.	06

Chapitre II. Les composés phénoliques

II.1. Généralités.....	08
II.2. Localisation des polyphénols au niveau des plantes.....	10
II.3. Biosynthèse des polyphénols.....	10
II.3.1. Voie de l'acide shikimique.....	11
II.3.2. Voie de l'acétate/malonate.....	11
II.4. Utilisation des polyphénols.....	11
II.4.1. Rôles des polyphénols.....	12
II.4.1.1. Rôles physiologiques.....	12
II.4.1.2. rôles technologiques	12
II.5. Importance biologique des polyphénols.....	12
II.6. Classification des polyphénols.....	14
II.6.1. Les formes simples.....	14
II.6.1.1. Les acides hydroxy benzoïques.....	14
II.6.1.2. Les acides hydroxy cinnamiques (phényl-propanoïdes).....	15

II.6.1.3. Les flavonoïdes.....	15
II.6.2. Les formes condensées.....	16
II.6.2.1. Les coumarines.....	16
II.6.2.2. Les lignines.....	16
II.6.2.3. Les tannins.....	16
II.7. Propriétés biologiques des composés phénoliques.....	16
II.8. Principales méthodes d'études des composés phénoliques	17
II.8.1. Procédés d'extraction.....	17
II.8.1.1. Macération.....	17
II.8.1.2. Extraction au soxhlet.....	18
II.8.1.3. Décoction.....	18
II.8.1.4. Digestion.....	18
II.8.1.5. Extraction assistée par micro-ondes.....	18
II.8.2. Procédés de purification et de caractérisation.....	19
II.8.2.1. Chromatographie sur couche mince (CCM).....	19
II.8.2.2. Analyse par chromatographie liquide à haute performance (HPLC).....	19
II.8.2.3. Chromatographie en phase gazeuse (CPG).....	19
II.8.2.4. Les méthodes spectrophotométriques.....	19

Chapitre III. Le stress oxydatif

III.1. Origine du stress oxydatif.....	20
III.2. Les radicaux libres.....	21
III.2.1. Les différents types des ROS.....	22
III.3. Source de production des radicaux libres.....	23
III.4. Systèmes de défense antioxydant.....	24
III.4.1. Système antioxydant enzymatique.....	25
III.4.1.1. Super oxydes dismutase (SOD).....	25
III.4.1.2. La catalase.....	26

III.4.1.3. La glutathion peroxydase (GPX).....	26
III.4.2. Système antioxydant non enzymatique.....	26
III.4.2.1. Vitamine C (Acide ascorbique).....	26
III.4.2.2. Vitamine E (Le tocophérol).....	26
III.4.2.3. Les oligoéléments.....	27
III.4.2.4. Antioxydants d'origine végétale.....	27
III.4.2.5. Les caroténoïdes.....	27

Chapitre IV. Etude expérimentale

I. Matériel.....	28
I.1. Matériel biologique.....	28
I.1.1. Matériel végétal.....	28
I.2. Présentation de la région d'étude.....	29
II. Méthodes d'étude.....	30
II.1. Caractérisation phytochimique.....	32
II.1.1. Préparation de l'infusé.....	32
II.1.2. Identification des tanins totaux.....	32
II.1.3. Identification des tanins galliques.....	32
II.1.4. Identification des tanins catéchiqes.....	32
II.1.5. Identification des anthocyanes.....	33
II.1.6. Identification des flavonoïdes.....	33
II.1.7. Identification des saponosides.....	33
II.1.8. Identification des mucilages.....	33
II.1.9. Identification de l'amidon.....	33
II.1.10. Identification des irridoides.....	33
II.1.11. Identification des glucosides.....	34
II.1.12. Identification des coumarines.....	34
II.1.13. Identification des alcaloïdes.....	34

II.1.14. Identification quinones libres.....	34
II.1.15. Identification des sénosides.....	34
II.2. Extraction des polyphénols.....	34
II.2.1. Détermination du rendement de l'extrait.....	35
II.2.2. Analyse quantitative des composées phénoliques.....	35
II.2.2.1. Principe.....	35
II.2.2.2. Mode opératoire.....	35
II.2.3. Analyses quantitative des flavonoïdes.....	36
II.2.3.1. Principe.....	36
II.2.3.2. Mode opératoire.....	36
II.2.4. Analyse quantitative des tanins condensés.....	36
II.2.4.1. Principe.....	36
II.2.4.2. Mode opératoire.....	36
II.2.5. Analyse quantitative des caroténoïdes.....	37
II.2.5.1. Principe.....	37
II.2.5.2. Mode opératoire.....	37
II.3. Evaluation de l'activité antioxydante.....	37
II.3.1. Pouvoir anti-radicalaire par la méthode DPPH.....	37
II.3.1.1. Principe.....	37
II.3.1.2. Mode opératoire.....	38
II.3.1.3. Calcul des IC ₅₀	39
II.3.2. Méthode de réduction du fer FRAP (Ferricreducingantioxidant power).....	39
II.3.2.1. Principe.....	39
II.3.2.2. Mode opératoire.....	39
II.3.3. Test de blanchissement de la β-carotène.....	40
II.3.3.1. Principe.....	40

II.3.3.2. Mode opératoire.....	40	Mode
II.3.4. Evaluation de l'activité antioxydante par la méthode d'ABTS.....	40	
II.3.4.1. Principe.....	40	
II.3.5.2. Mode opératoire.....	41	Mode
III. Analyse statistique.....	41	

Discussion des résultats

I. Screening phytochimique.....	43
II. Extraction des composés phénoliques.....	43
II.1. Rendement de l'extraction.....	43
II.2. Analyse quantitative de l'extrait méthanolique.....	44
II.2.1. Dosage des polyphénols totaux.....	44
II.2.3. Dosage des flavonoïdes.....	45
II.2.4. Dosage des tanins condensés.....	45
II.2.5. Dosage des caroténoïdes.....	46
III. Evaluation de l'activité antioxydante.....	46
III.1. Méthode de piégeage du radical libre DPPH.....	46
III.2. Chélation du fer ferreux.....	47
III.3. Réduction du radical-Cation ABTS.....	48
III.4. Test de blanchissement de la β -carotène.....	49
Conclusion.....	51

Introduction

Ces dernières années, la consommation des aliments d'origines végétales constitue un enjeu de santé publique. Ce phénomène social est certainement lié à la prise de conscience quant à la relation de cause à effet entre la qualité des aliments et la santé.

En effet, plusieurs études épidémiologiques ont démontrée qu'une alimentation riche en aliments d'origine végétale réduit considérablement plusieurs maladies comme les accidents cardiovasculaires et certains types de cancers (Dauchetet *al.*,2005). Selon l'OMS, plus de 80% de la population mondiale ont recours à la pharmacopée traditionnelle pour faire face aux problèmes de la santé (Diallo, 2000). Il y a environ près de 24 0000 à 30 0000 espèces de plantes à fleur sur terre. Moins de 10% de ces espèces auraient été étudiés scientifiquement pour leurs propriétés pharmacologiques (Millogoet *al.*,2005).

Pour les plantes dont la composition chimique n'est pas connue, ce qui est le cas pour plusieurs espèces médicinales, et pour avoir une idée sur l'activité de la plante, on doit chercher à identifier certains principes actifs. Parmi les grandes familles des métabolites secondaires des plantes qui sont doués d'activité pharmacologique et toxicologique on trouve les alcaloïdes, les saponosides et les polyphénols (les flavonoïdes et les tanins) et les huiles essentielles (Lamnaouer, 2002).

Les polyphénols possèdent un large éventail d'activités biologiques *in vitro* (antibactériennes, anti-cancérigène ,antioxydanteect...) liées à leur caractère réducteur et à leur affinité pour les protéines et les ions métalliques. Les polyphénols présentant ainsi des propriétés antioxydantes bien établies et en lien avec l'inhibition de l'oxydation aussi bien dans le domaine alimentaire (oxydation des lipides) que physiologique (stress oxydant). Ces substances suscitent beaucoup d'intérêt dans plusieurs domaines, en particulier dans les industries agroalimentaire par leurs implications sur la flaveur des aliments et leur incidence sur la conservation des produits alimentaires (Hynes, 2001).

Le phénomène d'oxydation généré par les radicaux libres, affecte aussi bien l'organisme humain que les différents groupes alimentaires existants (Rolland *et al.*, 2004). Dans certaines conditions, il apparaît un déséquilibre dans la balance oxydant/antioxydant provoqué par une production exagérée de radicaux libre ou par diminution des défenses antioxydantes, ce phénomène s'appelle le stress oxydatif (Baudin, 2006).

Le Nord de l'Algérie possède une flore extrêmement riche et variée, caractérisée par son originalité sur le plan systématique (de nombreuses plantes endémiques) et sa large utilisation dans la médecine populaire. Ces caractéristiques rendent l'étude de la flore d'un grand intérêt scientifique dans le domaine phytochimique (Zellaguet *al.*, 2011). Parmi les familles des plantes médicinales qui constituent le couvert végétal, se trouve la famille des fabaceae (Boudjouref, 2011).

Sophora japonica L. est l'arbre des pagodes de la famille des fabacées, originaire de l'Asie orientale, cet arbre est un légumineux à feuilles caduques essentiellement présent en Chine qui a été introduit au Japon (Mène, 1885). Selon notre recherche bibliographique, aucune étude phytochimique de cette plante n'a été rapportée, c'est pour cela, que nous sommes intéressés de mettre en évidence les caractéristiques de cette plante et l'évaluation de l'activité antioxydante de ses composés polyphénoliques. Dans ce contexte, quatre parties vont être présentées:

- La première partie est consacrée à une étude bibliographique et la présentation botanique de *Sophora Japonica* L., sa composition chimique et ses effets thérapeutiques.
- La deuxième partie est consacrée à une étude expérimentale ainsi que le matériel et les méthodes utilisés pour cette étude.
- La troisième partie est dédiée à la présentation des différents résultats bibliographiques obtenus et leur discussion.
- Et enfin une conclusion qui résumera l'ensemble du travail réalisé

Chapitre I. La plante *Sophora japonica* L.

I.1. Origine

La plante sophora du japon, aussi connu sous le nom scientifique de *Styphnolobium japonicum* est un arbre originaire de la chine, il est cultivé depuis longtemps au Japon, Corée en Asie mineure, en Caucase, en Amérique du nord, en Afrique du nord et en Europe. (Loucif, 1998) (Figure 01).

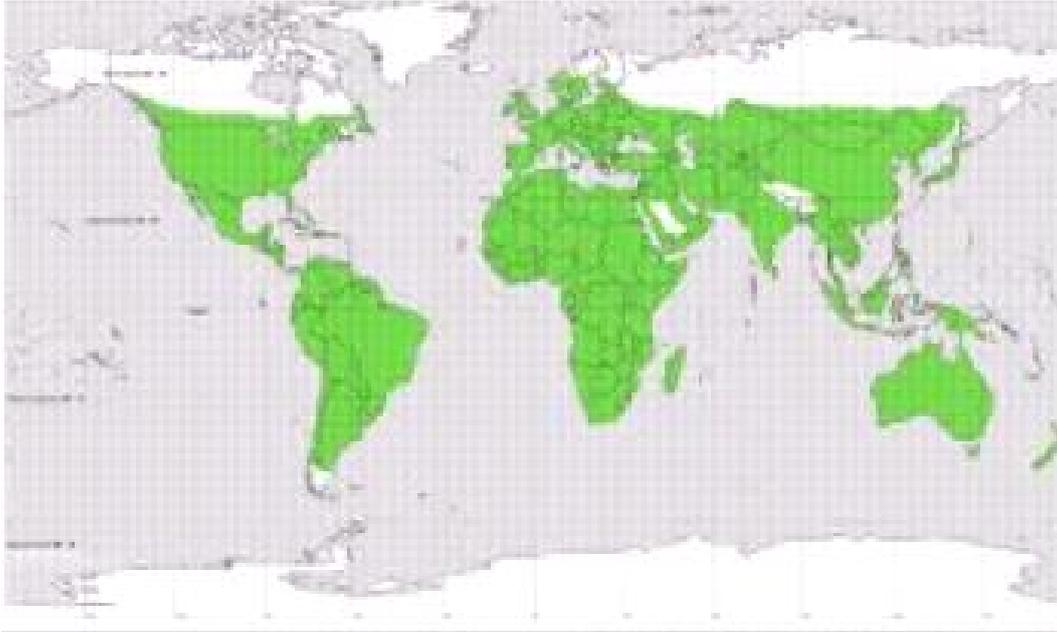


Figure 1. Distribution de *Sophora japonica* L. dans le monde d'après Heywood, (1996).

I.2. Systématique et classification de la plante

La *Sophora japonica* appartient à la famille des fabacées contenant environ 52 espèces, dix-neuf variétés, et sept formes largement distribuées en Asie, en Océanie, et en îles du pacifique. Allant des herbacées aux arbres (*Sophora japonica* L.), ses deux sous-genres sont sophora (fruits déhiscents charnu et mésocarpe incomplet) et *styphnolobium* (fruit indéhiscent charnu et mésocarpe complet) (Panthathi *et al.*, 2011).



Figure 2. Photo de l'arbre prise dans son lieu de récolte.

La classification botanique de *S. japonica* selon Linné, (1830) est la suivante :

Tableau I. Classification botanique de *Sophora japonica* (Linné, 1830).

Règne : plantae
Classe : Magnoliopsida
Ordre : Fabales
Famille : Fabaceae
Sous-famille : Fabioideae
Tribu : Sophoreae
Genre : Styphnolobium
Espèce : Japonicum
Rang : Espèce
Nom scientifique : <i>Styphnolobium japonicum</i>
Basionyme : <i>Sophora japonica</i>
Synonymes : <i>Sophora japonica</i> , <i>Sophora korolkowi</i> , <i>Sophora pubescens</i> , <i>Sophora sinensis</i>
Nom communs : <i>Sophora japonica</i> , <i>Sophora du japon</i> (Français)
Japanese pagoda tree (Anglais)

I.3. Description botanique

Sophora du japon est un bel arbre de 25 mètres de hauteur, 3m50 de circonférence au pied et 27 mètres d'envergure (**Décret, 1882**). Tous les sophoras se sont soutenus à une hauteur égale, avec la même force de végétation. Les feuilles d'un beau vert-foncé, gai et luisant, sont composées d'un grand nombre de folioles comme celui de robinier, pseudo-ocasia. Ces folioles sont plus petites et plus fermes. Les branches sont divergentes et un peut pendantes. La fleur est d'un blanc tirant sur le jaune. Il ne donne ordinairement que tous les deux ans, mais en si grande abondance que l'arbre en est tout couvert. Les fleurs succèdent des gousses nombreuses, longues, minces, réunies ensemble sur un même pétiole, en forme de grappes pendantes. Les gousses sont divisées en plusieurs segments semblables aux cosses des petits haricots. Chaque segment, ou division, renferme une graine de la forme d'une petite fève oblongue, qui devient brune quand elle a acquis son degré de maturité. La graine est environnée d'une pulpe visqueuse ayant la consistance d'une gelée teinte en jaune. Le tout est enveloppé par une pellicule mince. L'écorce de cet arbre est verte et luisante dans sa jeunesse. Elle est respectée par les animaux sans doute à cause de l'odeur forte quelle dégage. Elle devient grise à mesure que l'arbre vieillit. Les racines sont pivotantes et profondes, tandis que celles de l'acacia-robinier sont courantes sur la surface de la terre. Le bois en est dure, compacte, pesant, nul doute qu'il ne devienne d'une grande ressource pour les arts, quand il sera assez multiplié pour qu'on en puise faire usage. C'est un arbre fort et vigoureux, susceptible de vivre long-tems (**Mène, 1885**).

I.4. Composition biochimique

La composition de la plante sophora du japon comprend beaucoup de composés phytochimiques. Ses principaux constituants chimiques sont les flavonoïdes, les triterpénoïdes et les tannins. Les flavonoïdes comprennent principalement la quercétine, la rutine, l'isorhamnétine et le kaempférol ainsi que la cytosine qui ressemble à la nicotine et est similairement toxique. Les fleurs contiennent également divers acides gras (**Panthati et al., 2011**).

I.5. Multiplication et propagation

La multiplication et la propagation de l'arbre des pagodes se réalise surtout par semis ou par bouturage de jeunes pousses est nécessaire pour couper de jeunes pousses avec leur talon en juillet-août. Il faut alors les planter dans un cadre transporté en serre pour le premier hiver.

I.5.1. Multiplication naturelle

Lorsque les fruits deviennent rouge et ridés à maturation, le rutoside qu'ils contiennent est alors à son maximum. Ses fruits restent dans l'arbre lorsque celui-ci a perdu ses feuilles en début d'hiver ; ils mûrissent et tombent un peu plus tard. La multiplication peut ainsi se dérouler naturellement en laissant germer ses graines tombées au sol en printemps suivant. Toutefois, la croissance est très lente et il faudra de nombreuses années avant d'obtenir un bel arbre avec une belle envergure.

I.5.2. Multiplication artificielle

La semaison artificielle peut avoir lieu dès que les graines sont mures dans une serre. Un pré-trempeage des semences stockées pendant 12 heures dans l'eau chaude (non bouillante) permet une meilleure germination. En semant à la fin de l'hiver dans une serre, la germination a lieu en tout début de printemps. En sortant les semis dès qu'ils sont assez grands pour manipulation et les planter dans des pots individuels dans la serre, et les faire pousser pendant 2 ans dans des conditions protégées. Enfin, les planter dans leurs postes permanents au début de l'été de leur troisième année (**Rousselon, 1863**).

I.6. Intérêt et utilisation de *Sophora japonica* L.

L'utilisation ethno-pharmacologique traditionnelle de l'espèce *sophora japonica* L. est largement utilisée dans le traitement de nombreuses maladies et affections. Les principaux constituants bioactifs de ces médicaments traditionnelle ont montrés des activités parmi lesquelles les activités sédatives, dépressives, analgésiques, hypothermiques, cardiotoniques, anti-tumorale, antipyrétiques, anti-oxydantes, anticancéreuses, antibactériennes, anti-inflammatoires et antispasmodiques (**Panthati et al., 2011**).

Le fruit de la plante *Sophora Japonica* ainsi que ces fleurs sont utilisés en qualité de matière première pour l'obtention d'infusion de rutine et de quercétine. Les boutons floraux sont riches en rutoside. Les fruits de la plante sont cueillis à la fin de la floraison (août-septembre), Ils sont destinés pour l'obtention de préparât antiseptique et préparât améliorant la résistance capillaire (**Rusznayak et Szent-Gyorgy, 1936**). Les feuilles sont laxatives et elles sont utilisées dans le traitement de l'épilepsie et des convulsions (**Décret, 1882**). Les fleurs sont employées pour teinter le coton et le papier. Les fleurs fraîches mélangées à de la chaux et à l'huile sont appliquées sous forme d'emplâtre pour combattre les affections charbonneuses. Les gousses sont utilisées dans la médecine Japonais pour activer la circulation sanguine et agir contre le refroidissement des corps, ainsi que dans la teinture en

jaune. Les graines sont utilisées dans le traitement des hémorroïdes de l'hématurie, des saignements utérins, de la constipation, des sensations étouffantes dans la poitrine, des étourdissements des yeux rouges, des céphalées et de l'hypertension. Les ovaires surtout juste avant la floraison de la plante, sont une riche source de rutine et c'est un précieux agent hypotenseurs. Les tiges en décoction sont utilisées dans le traitement des yeux douloureux et des problèmes de la peau. Les racines sont couramment utilisées dans des médicaments traditionnels chinois pour le traitement de l'eczéma, de la colite, de l'infection aigue de la pharyngolaryngite, du mal de gorge, de la dysenterie aigue et de l'hémorragie gastro-intestinale. Le bois de *Sophora japonica* L. est recherché en menuiserie et en ébénisterie. On en fait des meubles et des manches d'outils. Le sophora du japon est aussi un bel arbre d'ornement des jardins (Décret, 1882 ; Loucif, 1998 ; Panthati *et al.*, 2011).

Chapitre II. Les composés phénoliques

II.1. Généralités

Les composés phénoliques ou les polyphénols sont des métabolites secondaires largement répandues dans le règne végétal. Ces composés sont présents dans toutes les parties des plantes mais avec une répartition quantitative qui varient entre les différents tissus. Plus de 8000 structures ont été identifiées allant de simples molécules comme les acides phénoliques à des substances hautement polymérisées comme les tanins (**Dai et Mumper, 2010**). Ils sont synthétisés par l'ensemble des végétaux et ils participent aux réactions de défense face à différents stress biotiques (agents pathogènes, blessures, symbiose) ou abiotiques (lumière, rayonnements UV, faible température, carences). Les polyphénols contribuent à la qualité organoleptique des aliments issus des végétaux (couleur, astringence, arôme, amertume) (**Visioli et al., 2000**).

Les polyphénols sont caractérisés par la présence de plusieurs groupements phénoliques associés en structures plus ou moins complexes généralement de haut poids moléculaire. Ces composés sont le produit du métabolisme secondaire des plante, et ont en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles (**Urquiaga et Leighton, 2000**). La structure des composés phénoliques naturels varie depuis les molécules simples comme les acides phénoliques simples vers les molécules les plus hautement polymérisées tels les tanins condensés (**Macheix et al., 2005**). Le tableau II Regroupe les principales classes des composés phénoliques (**Macheix et al., 2005**).

Tableau II. Les principales classes des composés phénoliques (Macheix *et al.*, 2005).

Squelette Carbonne	Classe	Exemple	Origine (exemple)
C6	▪ Phénols simples	- Catéchol	-Artichaud
C6-C3	▪ Acides hydroxybenzoïques	- p-hydroxybenzoïque	-Epices, fraises
C6-C3	▪ Acides hydroxycinnamique	- Acides caféique, acide férulique, scopolétine, esculétine.	-Pomme de la terre, pomme.
	▪ coumarines		
C6-C2-C6	▪ Silenes	-resvératol	-Vigne
C6-C3-C6	▪ Flavonoïdes	-Kaempférol, quercétine	-Fruits, fleurs, fruits rouges, légumes,
	▪ Flavonols	Cyanidine, pélargonie	pomme, raisin, citrus
	▪ Anthocyanes	Catéchine, épicatechine	
	▪ Flavonones	Naringénine	
	▪ Isoflavonols	Daidzéine	
(C6-C3) ₂	▪ Lignanes	-Pinorésinol	-Pin
(C6-C3) _n	▪ Lignines	-Vescalagine	-Bois noyaude
		-Bois des chênes	Fruits
(C15) _n	▪ Tanins	//	-Raisin rouge, kaki

II.2. Localisation des polyphénols au niveau des plantes

Les composés phénoliques sont présents dans toutes les parties des plantes mais avec une répartition quantitative qui varient entre les différents tissus.

A l'échelle de la cellule, les composés phénoliques sont principalement répartis dans deux compartiments: les vacuoles et la paroi. Dans les vacuoles, les polyphénols sont conjugués, avec des sucres ou des acides organiques, ce qui permet d'augmenter leur solubilité et de limiter leur toxicité pour la cellule (**Macheix et al., 2005**). Au niveau de la paroi, on trouve surtout de la lignine et des flavonoïdes liés aux structures pariétales (**Winkel, 2004 ; Macheix et al., 2005**).

Les composés phénoliques sont synthétisés dans le cytosol. Une partie des enzymes impliquées dans la biosynthèse des phénylpropanoïdes est liée aux membranes du réticulum endoplasmique, où elles sont organisées en métabolites (**Winkel, 2004 ; Macheix et al., 2005**).

Au niveau tissulaire, la localisation des polyphénols est liée à leur rôle dans la plante et peut être très caractéristique.

Au sein même des feuilles, la répartition des composés est variable, par exemple les anthocyanes et les flavonoïdes sont majoritairement présents dans l'épiderme (**Dujardin, 2008**). Au niveau de la plante entière, il faut noter que certains composés ne sont accumulés que dans des organes bien définis. Chez la pomme par exemple, les composés phénoliques interviennent au niveau de la coloration de la peau via les anthocyanes, et dans la qualité (relations avec les bactéries, les champignons, les insectes, résistance aux UV). Toutes les catégories de composés phénoliques sont impliquées dans les mécanismes de résistance et assurent la communication entre cellules, entre végétaux et entre végétaux et animaux (**Dicko et al., 2006**).

II.3. Biosynthèse des polyphénols

Les composés phénoliques sont issus par deux grandes voies métaboliques :

- La voie de l'acide shikimique.
- La voie de l'acétate/malonate.

II.3.1. Voie de l'acide shikimique

La voie de l'acide shikimique est la voie la plus importante pour la biosynthèse des composés aromatiques dans les plantes et les micro-organismes, y compris les acides aromatiques : la phénylalanine, la tyrosine et le tryptophane. Ce sont des métabolites

primaires qui servent de précurseurs pour de nombreux produits naturels (secondaire) tels que les flavonoïdes, les acides phénoliques, les coumarines, les alcaloïdes... (**Ghasemzadeh et Ghasemzadeh, 2001**).

II.3.2. Voie de l'acétate/malonate

La glycolyse et la β -oxydation aboutissent à la formation de l'acétate CoA donnant le malonate. C'est à travers cette voie que s'effectue la cyclisation des chaînes polycétoniques, obtenues par condensation répétée d'unités « Acétate » qui se fait par carboxylation de l'acétyl-CoA. Cette réaction est catalysée par l'enzyme acétyl-CoA carboxylase (**Akroum, 2010**).

II.4. Utilisation des polyphénols

Les polyphénols font partie intégrante de l'alimentation humaine et animale (**Martin et Andriantsitohaina, 2002**). D'un point de vue appliqué, ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve chez les plantes médicinales, alliées à leur difficulté de production. Chez l'homme, ces molécules traces jouent un rôle important en agissant directement sur la qualité nutritionnelle des fruits et légumes et leur impact sur la santé des consommateurs (effet antioxydant, effet protecteur contre l'apparition de certains cancers...) (**Macheix et al., 2005 ; Bénard, 2009**).

Ils sont également utilisés comme additifs pour l'industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique (**Laaboudi, 2012**). Ils sont synthétisés par l'ensemble des végétaux et ils participent aux réactions de défense face à différents stress biotiques (agents pathogènes, blessures, symbiose) ou abiotiques (lumière, rayonnements UV, faible température, carences). Les polyphénols contribuent à la qualité organoleptique des aliments issus des végétaux (couleur, astringence, arôme, amertume) (**Visioli et al., 2000**).

La nature et la fonction des composés phénoliques s'accumulant dans les plantes sont variables. Ces composés de défense regroupent différentes classes de composés tels que les isoflavonoïdes prénylés, les stilbènes, les coumarines, les flavonols ou encore les auronés. D'autres composés ont des fonctions dans la signalisation comme l'acide salicylique, molécule signal dans les mécanismes de résistance. La blessure et l'attaque par des herbivores induisent la synthèse de l'acide chlorogénique ou d'esters phénoliques liés aux parois cellulaires. Ces composés pouvant agir directement en tant que molécules de défense ou servir de précurseurs à la synthèse de la lignine, de la subérine et autres barrières polyphénoliques.

Par ailleurs, la quantité d'anthocyanines augmente fortement après un stress au froid ou un stress nutritionnel (**Hoffmann, 2003**).

II.4.1. Rôles des polyphénols

Les composés phénoliques jouent un rôle important dans le métabolisme de la plante mais aussi peuvent réagir dans les interactions des plantes avec leur environnement biologique et physique (**Boubekri, 2014**).

II.4.1.1. Rôles physiologiques

Les phénols sont associés à de nombreux processus : la croissance cellulaire, la différenciation organogénèse, dormance des bourgeons et floraison (**Alibert *et al.*, 1997**). La présence des composés phénoliques dans toutes les parties du végétal confère une protection considérable à la plante. Elle assure la survie de cette dernière dans les différentes conditions environnementales (climat, sol, sécheresse, rayons UV ...). Ces métabolites sont doués de plusieurs rôles au sein de la plante dont on peut citer : la lutte contre les agents pathogènes, astringence, le goût et la couleur de la plante (**Mohammedi, 2006**).

II.4.1.2. Rôles technologiques

Généralement, les polyphénols sont partiellement responsables des qualités sensorielles et alimentaires des aliments végétaux. L'astringence et l'amertume des nourritures et des boissons dépendent de la teneur en polyphénol. Ainsi, dans la technologie de certains produits végétaux, les transformations des composés phénoliques jouent un rôle important. Ceci est valable aussi bien pour la fermentation des feuilles de thé et des grains de cacao (**Lugasi *et al.*, 2003**).

II.5. Importance biologique des polyphénols

Les polyphénols possèdent un large éventail d'activités biologiques *in vitro* (antibactérienne, anti-cancérogène, anti-inflammatoire, antioxydante etc....) liées à leur caractère réducteur et à leur affinité pour les protéines et les ions métalliques. Les polyphénols présentent des propriétés antioxydantes bien établies et en lien avec l'inhibition de l'oxydation aussi bien dans le domaine alimentaire (oxydation des lipides) que physiologique (stress oxydant). Ces substances suscitent beaucoup d'intérêts dans plusieurs domaines. Celui de la nutrition par leur caractère préventif à l'égard de diverses maladies citées précédemment, en cosmétologie et surtout dans les industries agroalimentaires par leurs

implications, en particulier, sur la flaveur des aliments et leur incidence sur la conservation des produits alimentaires. Ainsi, ils pourraient constituer une alternative à l'utilisation des additifs alimentaires synthétiques, buthylhydroxyanisole (BHA) et buthylhydroxytoluène (BHT), qui ont montré des effets nuisibles (effet carcinogène) (**Morand et Milenkovic, 2014**). Une meilleure connaissance du devenir des polyphénols d'importance alimentaire après ingestion et des effets nutritionnels qui en découlent est essentielle d'un point de vue de nutrition préventive.

Les composés phénoliques sont d'ailleurs de plus en plus utilisés en thérapeutique (**Crozier et al., 2007**). De nombreux travaux suggèrent que les polyphénols participent à la prévention des maladies cardio-vasculaires (**Manach et al., 2005**). Leur consommation se traduit par une augmentation transitoire de la capacité anti-oxydante du plasma dans les heures qui suivent le repas.

Parvenus au niveau des artères, ils préviennent l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (Low Density Lipoproteins ou LDL), qui est l'un des facteurs clé du processus physiopathologique de l'athérosclérose (**Manallah, 2012**).

Les polyphénols agiraient aussi en inhibant l'agrégation plaquettaire impliquée dans le phénomène de la thrombose qui peut conduire à l'occlusion des artères (**Manach et al., 2005**). Ils sont regroupés dans la catégorie veinotoniques et vasculo-protecteurs (**Ghosh et al., 2009**). Un certain nombre de molécules polyphénoliques sont également en étude clinique comme des antiagrégants plaquettaires ou hypotenseurs sans résultats probants (**Martin et Andriantsitohaina, 2002**).

Les polyphénols sont associés à de nombreux processus physiologiques dans la qualité alimentaire, impliqués lorsque la plante est soumise à des blessures mécaniques. La capacité d'une espèce végétale à résister à l'attaque des insectes et des microorganismes est souvent corrélée avec la teneur en composés phénoliques (**Bahorun, 1997**).

Ces composés montrent des activités antioxydantes (**Gomez-Caravaca et al., 2006 ; Xiuzhen et al., 2010**), anticarcinogènes, anti-inflammatoires, antiathérogènes, antithrombotiques, analgésiques, antibactériennes, antiviraux (**Babar Ali et al. 2007**), anti-allergènes, vasodilatateurs (figure 3) (**Falleh et al., 2008 ; Hodgson, 2010**).

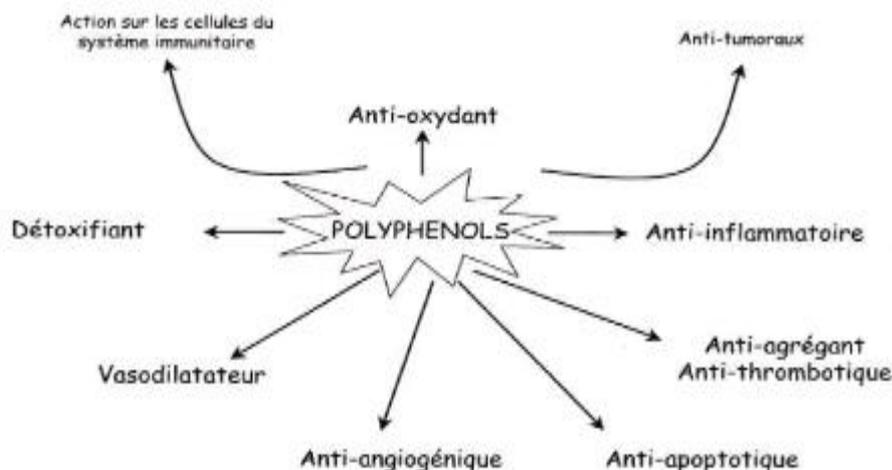


Figure 3. Effets biologiques des polyphénols (Martin et Andriantsitohaina, 2002).

II.6. Classification des polyphénols

Les composés phénoliques sont classés en plusieurs principaux groupes qui se distinguent par le nombre d'atomes de carbone constitutifs et la structure du squelette de base (Robard *et al.*, 1993 ; Michalak, 2006).

II.6.1. Les formes simples

Présentent des structures chimiques allant de C6 aux C15. On distingue : les acides hydroxy benzoïques, les acides hydroxy cinnamiques et les flavonoïdes.

II.6.1.1. Les acides hydroxy benzoïques

Ces acides sont dérivés de l'acides benzoïques, ils sont fréquents sous formes d'esters méthyliques ou glycolyses chez les gymnospermes et les angiospermes. Ils sont libérés après hydrolyse alcaline de certaines molécules en particulier la lignine et certains tanins (Macheix *et al.*, 2005).

II.6.1.2. Les acides hydroxy cinnamiques (phénylpropanoïdes)

C'est une classe très importante qui dérive de l'acide cinnamique. La réactivité de ces acides est liée au degré d'hydroxylation du cycle benzénique et sa modification aléatoire par des réactions secondaires. On distingue deux séries isomères grâce à la présence de double liaison : cis (Z) et trans (E) (Macheix *et al.*, 2005).

II.6.1.3. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes occupent une place prépondérante dans le groupe des phénols, ils sont des métabolites secondaires ubiquistes des plantes. On estime que 2 % environ du carbone organique photo-synthétisé par les plantes, soit quelques 109 tonnes par an, est converti en flavonoïdes (**L'huillier, 2007**).

Ils constituent un groupe de plus de 6000 composés naturels qui sont quasiment universels chez les plantes vasculaires. Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange, et rouge de différents organes végétaux. Tous les flavonoïdes possèdent la même structure de base (C6-C3-C6). Ils contiennent quinze atomes de carbone dans leur structure de base: deux cycles aromatiques A et B à six atomes de carbones liés avec une unité de trois atomes de carbone qui peut ou non être une partie d'un troisième cycle C.

Plus de 4000 flavonoïdes ont été identifiés dans les plantes, et la liste ne cesse de croître. C'est à cause de l'apparition de nombreux modèles de substitution; les substituant primaires (groupe hydroxyle) peuvent eux-mêmes être substitués (glycosylés ou acylés) donnant parfois des structures très complexes (**D'archivio, 2007**). Les principales classes des flavonoïdes sont : les flavonols, les flavones, les flavanones, les flavan-3-ols, les isoflavones et les anthocyanes (**Sadasivam et Thayumanavan, 2003**). Ils varient dans leurs caractéristiques structurales par la diversité fonctionnelle autour de l'oxygénation de l'hétérocycle.

II.6.2. Les formes condensées

II.6.2.1. Les coumarines

Ces substances sont issues du métabolisme de la phénylalanine via un acide cinnamique, l'acide P-coumarique. Les coumarines libres sont solubles dans les alcools et les solvants organiques tels que l'éther ou les solvants dans lesquelles ils sont extractibles. Les formes hétérosidiques sont plus au moins solubles dans l'eau. Elles ont un spectre UV caractéristique fortement influencé par la nature et la position des substituant (**Kansole, 2009**). Selon cet auteur, les coumarines sont des substances cytotoxiques, antivirales, immunostimulantes, tranquillisantes, vasodilatatrices, anticoagulantes.

II.6.2.2. Les lignines

Les lignines sont des polymères composés de trois types de monomères : le P-coumarol, le coniferyl et les sinapyliques (**Raven et al., 2000**). Le fait que ces molécules se

situent au niveau des parois secondaires des cellules végétales après la cellulose, les lignines sont dotés d'une importante rigidité et résistance. Ceci leur permet de protéger les cellules contre les champignons (**Raven et al., 2000**).

II.6.2.3. Les tannins

Les tannins se distinguent en deux grands groupes différents à la fois par leur réactivité chimique et par leur composition (**Nicolas, 1999**). Les tanins hydrolysables sont des esters de glucose et l'acide gallique (**Guignard., 2000**). Selon cet auteur, ces molécules sont caractérisées par le fait qu'ils peuvent être dégradés par l'hydrolyse chimique (enzymatique). Le second groupe est représenté par les tanins condensés. Ce sont des oligomères ou des polymères de flavane-3 ol dérivés de la catéchine ou de ses nombreux isomères (**Harborne., 1980**), (**Awika et Rooney., 2004**). Ils ont la propriété de coaguler les protéines du derme, d'où leur utilisation dans le tannage des peaux (**Guignard, 2000**).

II.7. Propriétés biologiques des composés phénoliques

Les activités biologiques des composés phénoliques sont multiples. En 1997, Bahorun a regroupé les propriétés de chaque composé (Tableau III).

Tableau III. Propriété des composés phénoliques (**Bahorun, 1997**).

Composés phénoliques	Activités
- Acides phénoliques	▪ Antibactériennes
-Acides cinnamiques	▪ Antifongiques
-Acides benzoïques	▪ Antioxydantes
-Coumarines	▪ Protectrices vasculaires ▪ Antioedémateuses
-Flavonoïdes	▪ Antioxydantes ▪ Antitumorales ▪ Anticarcinogènes ▪ Hypotenseurs et diurétiques
-Anthocyanes	▪ Protectrices veineuses

-Proanthocyanidines	<ul style="list-style-type: none">▪ Antioxydantes▪ Antitumorales▪ Antifongiques▪ Anti-inflammatoires
-Tannins galliques et catéchiques	<ul style="list-style-type: none">▪ Antioxydantes

II.8. Principales méthodes d'études des composés phénoliques

II.8.1. Procédés d'extraction

L'objectif de cette extraction c'est de libérer les polyphénols présents dans la structure vacuolaire par rupture du tissu végétal et par diffusion.

II.8.1.1. Macération

La macération consiste à faire maintenir en contacte la drogue avec le solvant d'extraction à température ambiante pendant une durée de temps en relation avec la substance recherchée (**Wicht *et al.*, 2003**). Connue comme une méthode traditionnelle, l'extraction par macération a été couramment employée. Cette procédure, malgré les temps longs d'extraction et l'utilisation d'une quantité considérable de solvants est relativement peu coûteuse. De plus, elle se déroule à température ambiante, ce qui est très positif pour conserver l'intégrité des molécules polyphénoliques sensibles aux changements de température (**Bezanger *et al.*, 1986**).

II.8.1.2. Extraction au soxhlet

Parfois combinées avec des techniques de protection et d'immersion, elle a été communément employée pour obtenir un bon rendement d'extraction de composés polyphénoliques. Cette méthode est très appréciée car elle permet de faire des extractions en continu tout en restant simple et relativement peu coûteuse. Cependant, les inconvénients sont les manipulations séquentielles, les longs temps d'extraction et le travail à des températures d'ébullition (**Escribano-Bailon et Santos-Buelga, 2003 ; Al-Bandak et Oreopolou, 2007**).

II.8.1.3. Décoction

La décoction consiste à maintenir la drogue avec de l'eau potable à ébullition pendant une durée de 15 à 20 min. Ce procédé est particulièrement approprié pour des drogues de consistance dure (bois, racines, écorces), surtout lorsqu'elles renferment des tanins (**Wichlt et al., 2003**).

II.8.1.4. Digestion

La digestion consiste à maintenir en contact la drogue avec de l'eau potable à une température inférieure à celle de l'ébullition mais supérieure à la température ambiante pendant une durée de 1 h à 5h (**Wichlt et al., 2003**).

II.8.1.5. Extraction assistée par micro-ondes

C'est une nouvelle technique qui combine l'utilisation des micro-ondes et d'autres extractions traditionnelles. Des études démontrent que cette technique possède plusieurs avantages tels qu'un gain de temps d'extraction, une utilisation de petites quantités de solvants et un bon rendement (**Csiktusna Di Kiss et al., 2000 ; Lavoie, 2005 ; Hemwimon et al., 2007**).

II.8.2. Procédés de purification et de caractérisation

II.8.2.1. Chromatographie sur couche mince (CCM)

Cette méthode permet la séparation et la purification des différents constituants en fonction de leur taille et de leur forme. Les constituants du mélange se séparent par migration différentielle. Plus la molécule est soluble dans le solvant, plus elle est entraînée par l'éluant et moins adsorbée sur la phase stationnaire (**Burgot, 2002**).

II.8.2.2. Analyse par chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

La chromatographie liquide à haute performance est sans doute la technique la plus utilisée pour caractériser les extraits phénoliques car elle présente une haute résolution, une reproductibilité élevée et une durée d'analyse relativement courte (**Gomez-Caravaca et al., 2006**). Elle peut être employée pour la séparation, la détermination quantitative et l'identification des polyphénols.

II.8.2.3. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

Ce procédé est utilisé pour l'analyse de petites molécules volatiles ou devenant volatiles par transformation préalable. Elle nécessite d'opérer dans des colonnes spéciales, portées à haute température afin de maintenir les molécules sous forme gazeuse pendant leur traversée. Ces derniers sont dissous dans un solvant vaporisable, puis sont transformées en vapeur dans une chambre d'injection préchauffée. Ces molécules sont donc volatilisées et entraînées à travers la colonne par un courant de gaz inerte, appelé gaz vecteur (**Kamoun, 1997**).

II.8.2.4. Les méthodes spectrophotométriques

Elles sont utilisées principalement pour leur simplicité et leur sensibilité élevée. La teneur en polyphénols totaux est déterminée par le test de Folin-Ciocalteu (760-675 nm) ou le test de Prussien Blue. Une courbe d'étalonnage est établie avec l'acide gallique et les résultats sont exprimés en équivalence d'acide gallique. Ces tests ayant comme principe le phénomène d'oxydo-réduction ne sont spécifiques à une classe de polyphénols et souffrent d'interférences avec les aminoacides de types tyrosine et d'autres composés non phénoliques tels que l'acide ascorbique (**Kim et al., 2003 ; Djeridane et al., 2006**).

Chapitre III. Le stress oxydatif

Les radicaux libres sont des molécules instables et fortement réactives (Suresh *et al.*, 2008), entraînant le stress oxydant, qui est défini comme un déséquilibre entre les oxydants et les antioxydants (Ratnam *et al.*, 2006). Il peut se produire en raison de la surproduction d'oxydants, la diminution de la défense antioxydante ou une combinaison de ces deux facteurs (Ece *et al.*, 2007). Les protéines ainsi que les lipides sont les cibles principales des espèces réactives d'oxygènes (Serdar *et al.*, 2006). Ces derniers causent la peroxydation lipidique, l'oxydation des protéines et les altérations de l'ADN (Deaton, 2003), provoquant ainsi le développement du cancer, du diabète, des maladies neurodégénératives et des maladies cardio-vasculaires (Ratnam *et al.*, 2006). L'organisme humain a développé des systèmes de défense pour traiter ce phénomène (stress oxydant) et lutter contre les espèces réactives qui sont préjudiciables à la vie humaine (Prior et Cao, 1999 ; Laguerre et al, 2007).

Le stress oxydatif n'est pas une maladie mais un mécanisme physiopathologie. Un excès des espèces réactives mal maîtrisé favorisera une maladie ou un vieillissement accéléré (Merçan, 2010).

III.1. Origine du stress oxydatif

Le stress oxydatif peut avoir diverses origines, telles que la surproduction endogène d'agents pro oxydants d'origine inflammatoire, un déficit nutritionnel en antioxydants ou même une exposition environnementale a des facteurs pro oxydants (Tabac, alcool, médicaments, rayons ultraviolets, pesticides, ozone, amiante, métaux toxiques) (Magder, 2006) (Figure 6).

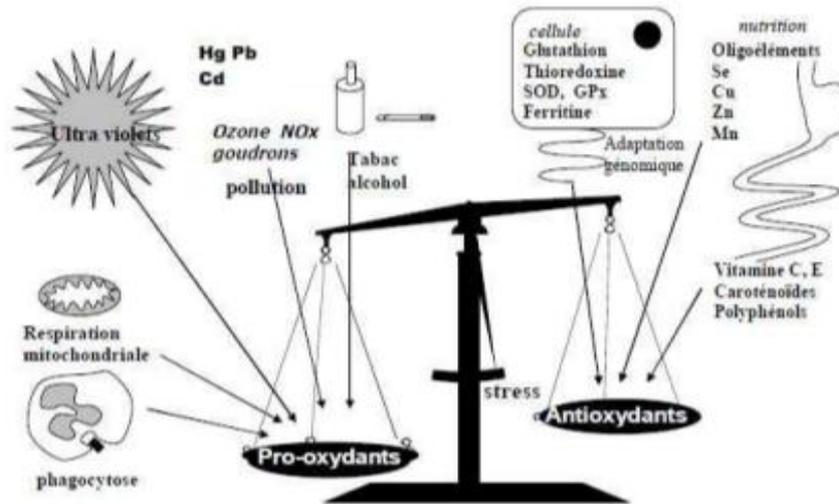


Figure 4. Balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants (Favier, 2006).

III.2. Les radicaux libres :

L'oxygène est un élément essentiel pour les organismes multicellulaires parce qu'il permet de produire de l'énergie en oxydant de la matière organique. Mais nos cellules convertissent une partie de cet oxygène en métabolites toxiques : Les radicaux libres organiques (Descheemaeker, 2004).

Par définition un radical libre est une espèce chimique qui possède un ou plusieurs électrons non apparié sur leur couche externe (figure 2). La présence d'un électron non apparié confère à ces molécules une grande instabilité, c'est-à-dire qu'elles sont extrêmement réactives et que leur durée de vie est courte (Carange, 2010).

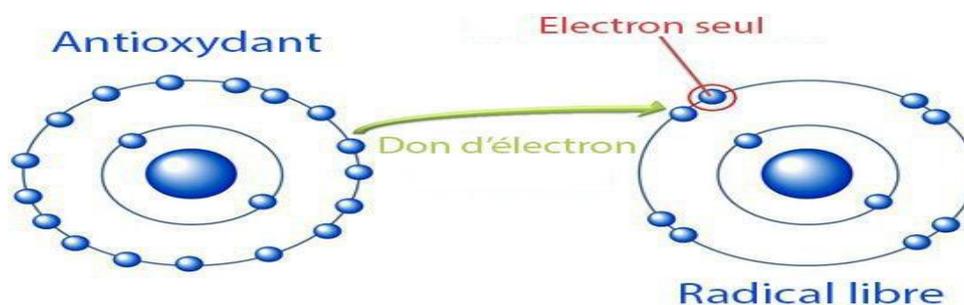


Figure 5. Neutralisation d'un radical libre par un antioxydant.

Ces molécules se lient rapidement aux molécules non radicalaires à proximité résultant généralement en la formation de nouveaux radicaux. Les ROS sont principalement formés lors de l'oxydation des lipides par le cycle de Krebs et lors de la chaîne de transport mitochondriale d'électrons qui a pour but de produire de l'énergie. Les radicaux libres sont formés suite à l'oxydation des glucides, la glycation non enzymatique des protéines et leur subséquente dégradation. La présence d'une faible concentration de ROS est importante pour le maintien d'un statut redox cellulaire normal ; par contre, une production excessive de ROS endommage les lipides, les protéines et l'ADN compromettant les fonctions cellulaires (Yu, 2004).

Les radicaux libres peuvent être dérivés de l'oxygène (espèces réactives de l'oxygène ERO) ou d'autres atomes comme l'azote (espèces réactives d'azote ERA). La présence d'un électron célibataire confère aux radicaux libres une grande réactivité (demi-vie courte) et ils peuvent être aussi bien des espèces oxydantes que réductrices (Delattre *et al.*, 2005).

III.2.1. Les différents types des ROS

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer (Favier, 2003) :

Les radicaux primaires qui constituent un ensemble restreint de composés radicalaires et dérivent de l'oxygène par des réductions à un électron tels l'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$ et le radical hydroxyle OH^{\bullet} , ou de l'azote tel le monoxyde d'azote NO^{\bullet} . Ils jouent un rôle particulier en physiologie.

Les radicaux secondaires se forment par réaction des radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule.

D'autres espèces dérivées de l'oxygène dites espèces actives de l'oxygène, comme l'oxygène singulet (1O_2), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou le nitroperoxyde (ONOOH) ne sont pas des radicaux libres, mais sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de radicaux.

Tableau IV. Les principaux radicaux libres (Haton, 2005).

Oxygène	O_2
Oxygène singulet	$1 O_2$
Anion super oxyde	$O_2^{\bullet-}$
Radical hydroxyle	OH
Radical hydroperoxyde	HOO
Radical peroxyde	ROO
Hydroperoxyde	$ROOH$
Radical alkoxyde	$RO^{\bullet-}$
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2
Radical oxyde nitrique	NO^{\bullet}

III.3. Sources de production des radicaux libres

Les êtres humains sont constamment exposés aux radicaux libres. En effet, les sources de radicaux libres sont variées : la pollution atmosphérique, la cigarette, le rayonnement UV, les radiations ionisantes, les radiations cosmiques, le métabolisme cellulaire (activité mitochondriale, réactions enzymatiques), l'inflammation et les métaux toxiques (Favier, 2006) (Figure 6).



Figure 6. Sources de production des radicaux libres (Favier, 2006).

III.4. Système de défense antioxydant

Un antioxydant est une molécule qui diminue ou empêche l'oxydation d'autres substances chimiques. On divise les antioxydants en deux grandes classes : **les antioxydants endogènes** (enzymatiques) et **les antioxydants exogènes** (non enzymatiques), selon qu'ils soient produits ou non par l'organisme.

Les antioxydants endogènes se retrouvent sous forme d'enzymes produites par l'organisme telle que le superoxyde dismutase, la catalase et la glutathion peroxydase, toutes trois dans le cytoplasme, le milieu extracellulaire et la mitochondrie. Ces enzymes jouent un rôle très important dans le maintien de la santé (Baba et McGrath, 2008).

Les antioxydants exogènes sont fournis par l'alimentation. On retrouve le bêta-carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E), le lycopène et les polyphénols. Il y a aussi divers minéraux tels le zinc, le sélénium, le cuivre, le manganèse et le fer.

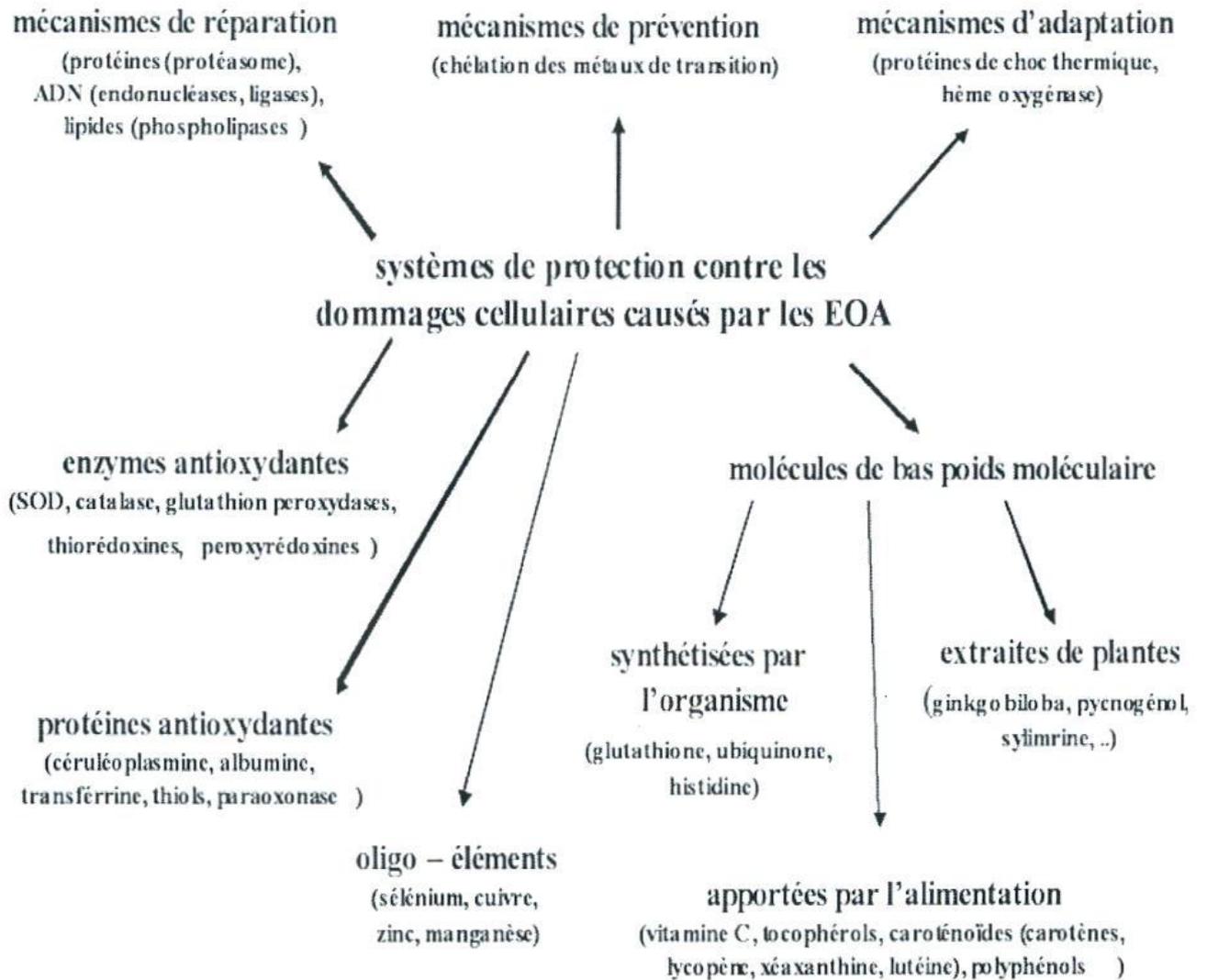


Figure 7. Réseau des antioxydants (Kohen et Nyska, 2002).

III.4.1. Système antioxydants enzymatique

III.4.1.1. Super oxydes dismutase (SOD)

La SOD est une métalloprotéine capable d'éliminer l'anion superoxyde par une action de dismutation. Cette réaction aboutit, à partir de deux molécules superoxydes, à la formation d'une molécule d'oxygène et d'une molécule de peroxyde d'hydrogène (Garrel *et al.*, 2007).



III.4.1.2. La catalase

La catalase est une enzyme tétramérique, chaque unité portant une molécule d'hème et une molécule de NADPH, Elles catabolisent les peroxydes d'hydrogènes en molécules d'eau pour prévenir la formation de radicaux hydroxyles (Mates *et al.*, 1999).



III.4.1.3. La glutathion peroxydase (GPX)

Les principales enzymes capables de détruire le peroxyde d'hydrogène sont les catalases a cofacteur fer et les glutathion peroxydases a cofacteur sélénium (Favier, 2003). La glutathion peroxydase (GPx) agit en synergie avec la SOD puisque son rôle est d'accélérer la dismutation du H_2O_2 en H_2O et O_2 . Lors de cette réaction deux molécules de glutathion réduit (GSH) sont oxydées en glutathion-disulfure (GSSG) (Mates *et al.*, 1999).



III.4.2. Système antioxydants non enzymatique

De nombreuses molécules issues de notre alimentation : vitamines, nutriments, composés naturels,...etc. sont considérés comme des antioxydants (les vitamines C, A, E).

III.4.2.1. Vitamine C (acide ascorbique)

La vitamine C est un antioxydant puissant. Elle participe dans les réactions avec la vitamine E et l'enzyme glutathion peroxydases pour neutralisation des radicaux libres (Cheick traore, 2006). La vitamine C agit principalement en piégeant directement les ROS (majoritairement $\text{l}'\text{O}_2^-$ et $\text{l}'\text{ONOO}^-$) (Belkheiri, 2010).

III.4.2.2. Vitamine E (Le tocophérol)

Le caractère hydrophobe de la vitamine E lui permet de s'insérer au sein des acides gras de la membrane cellulaire et des lipoprotéines où elle joue un rôle protecteur en empêchant la propagation de la peroxydation lipidique induite par un stress oxydant (El-Sohemy *et al.*, 2002).

III.4.2.3. Les oligoéléments

Le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le manganèse (Mn), le sélénium (Se) et le fer (Fe) sont des métaux essentiels dans la défense contre le stress oxydant.

III.4.2.4. Antioxydants d'origine végétale

Les caroténoïdes et les polyphénols constituent de familles de composés parmi lesquels se trouvent le β -carotène, l'acide caféique et la quercétine. Les caroténoïdes et les polyphénols sont généralement de bons capteurs de radicaux hydroxyles OH et peroxydes RO₂. Ils sont donc susceptibles d'inhiber les chaînes de peroxydation lipidique, mais d'une manière moins efficace que celle de α -tocophérol. En outre, les caroténoïdes ont un rôle spécifique de capture d'oxygène singulet ¹O₂, ce qui leur permet d'exercer une protection vis-à-vis des dommages induits par les rayons ultraviolets de la lumière solaire (Gardés-Albert *et al.*, 2003)

III.4.2.5. Les caroténoïdes

La plupart des caroténoïdes et vitamine A interagissent avec l'oxygène singulet et peuvent ainsi empêcher l'oxydation de plusieurs substrats biologiques dont les acides gras polyinsaturés (AGPI) (Center *et al.*, 2004).

Il existe plusieurs membres dans le groupe des caroténoïdes, mais le caroténoïde le plus connu et étudié est le β -carotène, qui est un puissant antioxydant capable d'éteindre rapidement l'oxygène singulet (Fusco *et al.*, 2007).

Le présent travail a pour objectif d'évaluer l'activité antioxydante de l'extrait polyphénolique des gousses de *Sophora japonica* L. Le travail devait être réalisé au niveau du laboratoire de BPO. Malheureusement avec la pandémie (covid 19) nous n'avons pas pu effectué une étude expérimentale.

I. Matériel

I.1. Matériel biologique

I.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des gousses de *Sophora japonica* L. récoltée dans la région de Boumerdes. Notre recherche bibliographique confirme que cette plante détient plusieurs avantages thérapeutiques, et son utilisation en médecine traditionnelle est très fréquente.

- **Récolte**

La plante a été récoltée au début du mois de Mars 2020. Cette collecte a été faite au niveau de la région centre de la willaya de Boumerdes.

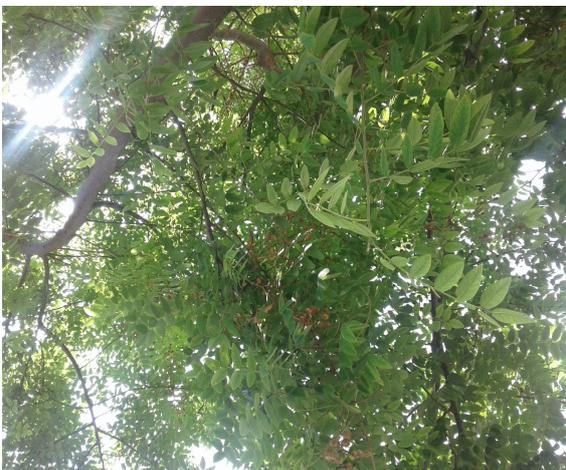


Figure 8. Plante *Sophora japonica* L. prise dans son milieu systématique (Boumerdes).

- **Séchage**

La matière végétale est séchée pendant une semaine à l'aire libre et à l'abri de la lumière dans le but de diminuer leur teneur en eau. Ce procédé empêche la réaction d'altération qui peuvent se produire et limite ainsi la prolifération des micro-organismes.

- **Broyage et conservation**

Les gousses séchées sont coupées en petits morceaux puis réduites en poudre fine à l'aide d'un broyeur électrique. La poudre obtenue est conservée à l'abri de l'air et l'humidité, dans des bocaux en verre hermétiquement fermés. Le broyat va constituer la matière sèche qui servira à l'extraction des polyphénols.



Figure 9. Poudre végétale de la plante *Sophora japonica* L.

I.2. Présentation de la région d'étude

Boumerdes est une ville d'Algérie située à 45 km à l'est d'Alger et 52 km à l'ouest de Tizi ouzou. Cette région appartient au climat méditerranéen, caractérisé par un hiver pluvieux et doux et un été chaud et humide. La figure représente la situation géographique de la willaya.

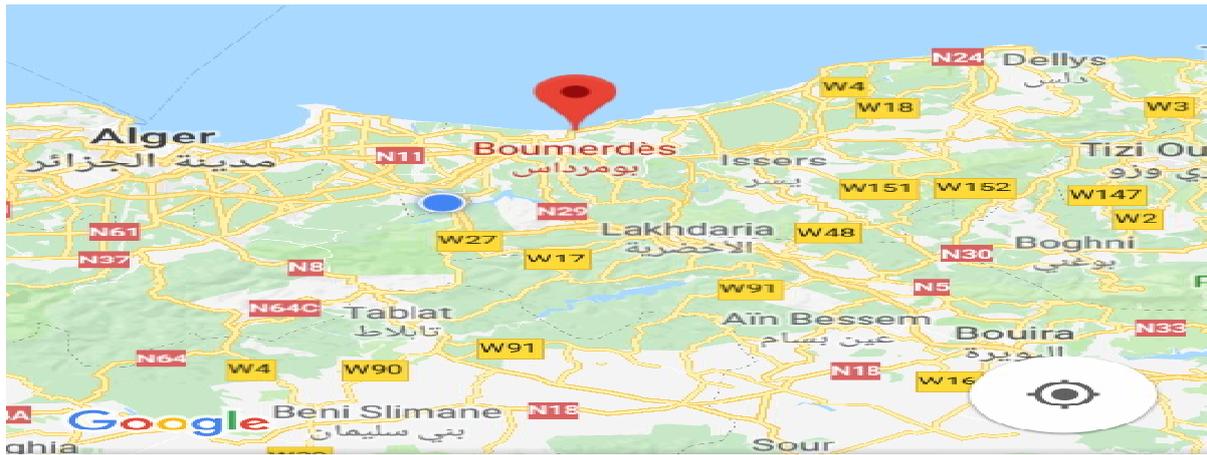


Figure 10. Carte géographique de la région de Boumerdes indiquant la zone de récolte.

II. Méthodes d'étude

Plusieurs méthodes sont utilisées pour extraire, caractériser et tester l'activité antioxydante des substances bioactives de la plante *sophora japonica* L. Les différentes étapes de ce travail sont résumées dans la figure 11.

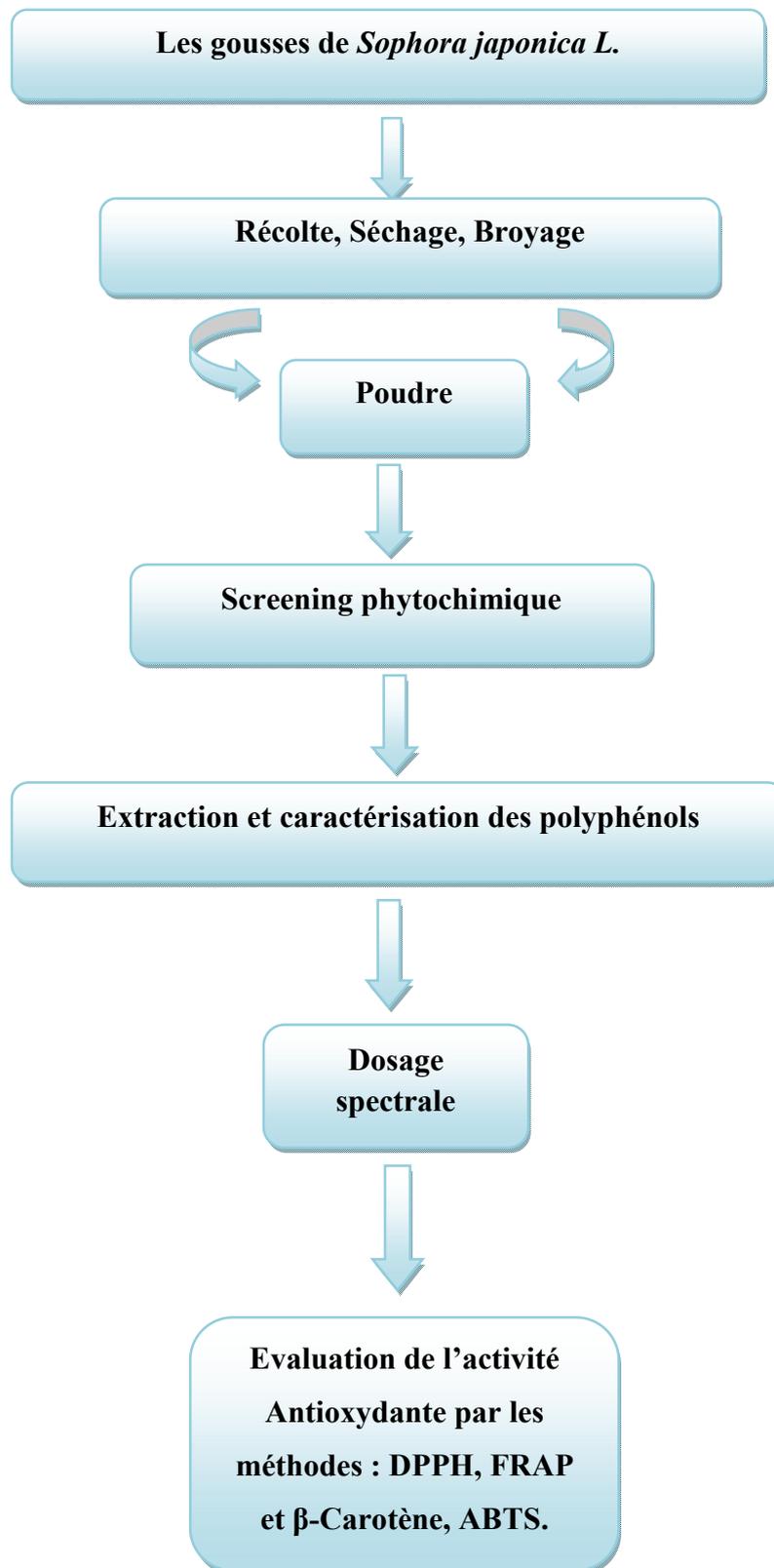


Figure 11. Schéma récapitulatif des différentes étapes de travail.

II.1. Caractérisation phytochimique

Les tests phytochimiques réalisés sur *Sophora japonica* L. ont pour objectif de chercher les substances bioactives (les métabolites primaires ou secondaires) existantes chez cette plante. Ils sont effectués soit sur la poudre de la plante, soit sur son infusé à 5%. Les méthodes d'identification utilisées dérivent de celles décrites par (Paris et Nothis, 1978).

II.1.1. Préparation de l'infusé à 5%

L'infusé à 5% des gousses du *Sophora japonica* L. est préparé par l'addition de 5g de la poudre végétale à 100 ml d'eau distillée bouillante. Après 15 min de temps, le mélange est filtré et le filtrat obtenu est ajusté à 100 ml par l'eau distillée.

II.1.2. Identification des tanins totaux

La présence des tanins est mise en évidence dans 1 ml d'infusé par l'addition de quelques gouttes de chlorure ferrique (FeCl_3) à 5%. La réaction au FeCl_3 provoque l'appariation d'une coloration bleu noir intense.

II.1.3. Identification des tanins galliques

La présence des tanins galliques se manifeste par une coloration bleu foncé. La méthode consiste à mélanger 2g d'acétate de sodium et quelques gouttes de FeCl_3 avec 5 ml d'infusé.

II.1.4. Identification des tanins catéchiques

Pour ce test, 15 ml de l'infusé sont additionnées à 7 ml de réactif de stiansy (annexe 3). La présence des tanins catéchiques se manifeste par l'apparition d'une coloration rouge.

II.1.5. Identification des anthocyanes

Les anthocyanes sont révélés par l'acide chlorhydrique. En effet, le protocole consiste à rajouter quelques gouttes d'acide chlorhydrique (HCl) à 1ml d'infusé, la présence des anthocyanes se manifeste par une coloration rouge.

II.1.6. Identification des flavonoïdes

La réaction de 5ml d'infusé avec de l'HCl, un copeau de Mg (0,2g) et 1ml d'alcool iso-amylque donne une coloration rouge orangée en présence des flavonoïdes.

II.1.7. Identification des saponosides

La présence des saponosides se manifeste par la formation d'un précipité blanc suite à l'addition de quelques gouttes d'acétate de plomb à 2ml d'infusé.

II.1.8. Identification des mucilages

Concernant les mucilages, on mélange 1ml d'infusé avec 5ml d'éthanol absolue pendant 10 min. la présence des mucilages se manifeste par l'apparition d'un précipité floconneux.

II.1.9. Identification de l'amidon

Le test effectué consiste à chauffer 5ml de l'extrait aqueux avec 10 ml d'une solution de NaCl saturée dans un bain marie jusqu'à ébullition puis ajouter la solution d'amidon. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleue violacée.

II.1.10. Identification des iridoïdes

La présence des iridoïdes se manifeste par l'apparition d'une coloration bleue, après avoir chauffé un mélange de quelques gouttes d'HCl et 2 ml d'infusé sur une plaque chauffante.

II.1.11. Identification des glucosides

Le protocole consiste à mettre quelques gouttes d'acide sulfurique (H₂SO₄) dans 2g de poudre végétale. La formation d'une coloration rouge brique indique la présence des glucosides.

II.1.12. Identification des coumarines

Pour ce test, 2g de la poudre végétale sont bouillis à reflux dans 20 ml d'alcool éthylique pendant 15 min, puis filtrés. Le filtrat obtenu est mélangé avec 5 gouttes d'Hydroxyde de potassium (KOH) à 10% et quelques gouttes d'HCl à 10%. La formation d'un trouble indique la présence des coumarines.

II.1.13. Identification des alcaloïdes

Pour ce test, 5g de la poudre végétale sont humectés avec l'ammoniaque 50 ensuite macérés dans 50 ml du mélange éther/chloroforme (3volume/1volume) pendant 24 heures. Après filtration, le filtrat récupéré est épuisé par HCl 2N, et enfin on ajoute quelques gouttes de réactif de Dragendroff. En présence d'alcaloïdes on obtient une coloration rouge.

II.1.14. Identification des quinones libres

2 g de la poudre végétale sont humectés avec 2ml d'HCl, puis on ajoute 20ml de chloroforme. Après 3 heures, le filtrat récupéré est agité avec 5ml d'ammoniaque 50%. La formation d'une coloration rouge est le résultat de la présence des quinones libres.

II.1.15. Identification des sénosides

Dans une fiole conique on introduit respectivement 2,5g de la poudre végétale, 50 ml d'eau distillée et 2ml d'HCl concentré. Le mélange obtenu est chauffé au bain marie pendant 15min. Après refroidissement le mélange est agité avec 40 ml d'éther qui sera par la suite séparé, séché avec le sulfate de sodium anhydre et évaporé à siccité. Au résidu refroidi sont ajoutés 5ml d'ammoniaque 50% générant une coloration jaune ou orange. Le chauffage de cette solution au bain marie pendant 2min donne une coloration violette indiquant la présence des sénosides.

II.2. Extraction des polyphénols

Afin d'assurer l'extraction des polyphénols par macération, nous avons optés pour le protocole décrit par Tadeg *et al.*, (2005). Pour cela, 10 g de la poudre des gousses du *Sophora japonica* L. sont agités vigoureusement dans 100 ml d'une solution méthanolique (80ml méthanol/20ml eau distillée) à l'aide d'un vortex pendant 48 heures à température ambiante. Après filtration du mélange hydro-alcoolique sous un tissu mousseline puis sur papier filtre, le méthanol est évaporé sous pression réduite (45 °C) dans un rotavapor et l'extrait récupéré est conservé à 4°C jusqu'à utilisation.

II.2.1. Détermination du rendement des extraits

Le rendement des extraits méthanolique est déterminé par le rapport du poids de l'extrait sec après évaporation sur le poids de la matière végétale sèche utilisée pour l'extraction (**Bekhechi-Benhabib, 2001**).

$$R\% = (m - m_0) \times 100 / mT$$

Tel que :

m : la masse du ballon après évaporation ;

m₀ : la masse du ballon vide ;

m – m₀ : la masse de l'extrait brut ;

m_T : la masse totale de la poudre végétale utilisée dans l'extraction.

II.2.2. Analyse quantitative des composés phénoliques

II.2.2.1. Principe

La teneur en polyphénols est estimée par la méthode de folin-ciocalteu selon Li *et al.*, (2007) est basée sur la réduction en milieu alcalin du réactif de folin par les groupements oxydables des composés phénoliques conduisant à la formation de produits de réduction dont leur couleur est bleue. Ces derniers présentent un maximum d'absorption à 760 nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon analysé (George *et al.*, 2005).

II.2.2.2. Mode opératoire

1ml de l'extrait méthanolique de la plante est mélangé avec 1ml de Folin-Ciocalteu (2M) dilué 10 fois et 1ml de carbonate de sodium (Na₂CO₃) à une concentration de 75g/L. L'absorbance est mesurée à 765nm, après incubation pendant 1 heure à température ambiante à l'obscurité. La courbe d'étalonnage est effectuée par l'acide gallique, en suivant les mêmes étapes du dosage.

II.2.3. Analyse quantitative des flavonoïdes

La quantification du contenu flavonoïque dans l'extrait polyphénolique de *Sophora japonica* L. est faite par la méthode d'AlCl₃, selon le protocole de (Kumaran et Karunakran, 2005).

II.2.3.1. Principe

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement CO, un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium. Les flavonoïdes donnent des complexes jaunâtres par chélation des métaux (Fer et aluminium). Ceci traduit le fait que le métal (AL) perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygènes de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons (Ribereau-Gayon *et al.*, 1972).

II.2.3.2. Mode opératoire

1ml de l'extrait de la plante est mélangé avec 1ml de la solution trichlorure d'aluminium (AlCl₃) (20 mg/ml) et une goutte d'acide acétique. L'absorbance est mesurée à 415 nm après incubation à température ambiante pendant 40 min.

La quantification des flavonoïdes s'est faite en fonction d'une courbe d'étalonnage réalisée par un flavonoïde standard, la quercétine (0,1 mg/ml). La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme équivalent de quercétine par gramme de poids sec de la plante (mg EQ/g Ps).

II.2.4. Analyse quantitative des tanins condensés

II.2.4.1. Principe

En présence d'acide sulfurique, les tanins condensés se dépolymérisent et par réaction avec la vanilline, se transforme en anthocyanidols de couleur rouge, mesurables par spectrophotomètre à 500 nm (Sun *et al.*, 1998).

II.2.4.2. Mode opératoire

Une prise de 50 µl d'extrait convenablement dilué est ajoutée à 3ml de vanilline à 4% et 1,5 ml d'acide sulfurique concentré (H₂SO₄). Après homogénéisation, le mélange est mis en incubation à température ambiante pendant 15 minutes. L'absorbance de cette préparation est mesurée à 500 nm. Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine à des concentrations de 0 à 400 µg/ml. Les teneurs en tanins condensés sont exprimées en milligramme équivalent catéchine par gramme de la matière végétale sèche (mg EC.g⁻¹ MS).

II.2.5. Analyse quantitative des caroténoïdes

II.2.5.1. Principe

L'estimation de la teneur en caroténoïdes totaux contenus dans les extraits est réalisée selon la méthode de Yolanda et ses collaborateurs, (2007).

II.2.5.2. Mode opératoire

2 g d'échantillon sont homogénéisés avec 20 ml du mélange de solvant suivant : (hexane/acétone/éthanol, 2:1:1). Après agitation pendant 30 min, la phase supérieure est récupérée et protégée de la lumière par du papier aluminium. 10 ml d'hexane sont ajoutés et une deuxième extraction est réalisée. Le mélange des deux extractions est centrifugé pendant 5min à 6500 rpm (Soto-Zamora *et al.*, 2005).

La teneur en caroténoïdes est déterminée par la mesure de l'absorbance de l'extrait hexanique à 420 nm. Les concentrations des caroténoïdes sont estimées en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant la β-carotène comme standard d'étalonnage. Les concentrations sont exprimées en mg équivalent de la β-carotène par 100g du PF (mg Eq β-carotène /100g du PF).

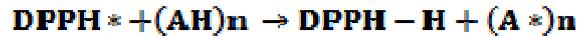
II.3. Evaluation de l'activité antioxydante

II.3.1. Pouvoir anti radicalaire par la méthode du DPPH

II.3.1.1. Principe

Le DPPH est un radical libre stable violet en solution, il présente une absorbance caractéristique dans un intervalle compris entre 512 et 517 nm, cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényle picrylhydrazine par un composé à propriété antiradicalaire, entraînant ainsi une décoloration. L'intensité de la couleur est

proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Sanchez-Moreno, 2002). On peut résumer la réaction sous la forme de l'équation:



(AH) représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH (violet) pour le transformer en diphényle picrylhydrazine (jaune) (Brand-William *et al.*, 1995). La figure suivante représente la molécule de DPPH en forme libre et réduit:

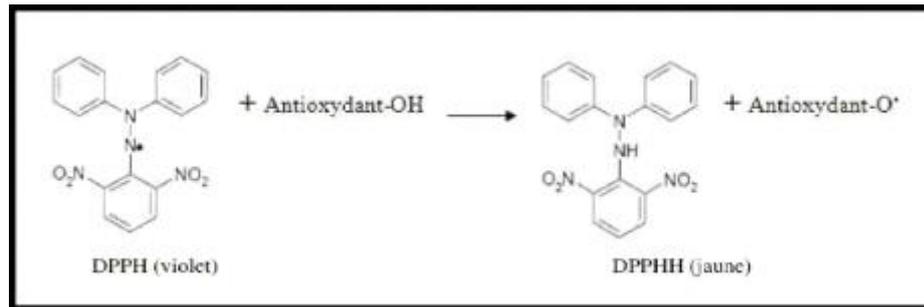


Figure 12. Mécanisme de la réaction du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) avec un antioxydant (Parijo *et al.*, 2002).

II.3.1.2. Mode opératoire

Préparation de la solution de DPPH : La solution de DPPH est préparée par solubilisation de 2,4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol.

Préparation des solutions de l'extrait phénolique : Des solutions de l'extrait phénolique de *S. japonica* à différentes concentrations sont préparées dans du méthanol absolu.

L'essai au DPPH : Dans des tubes secs et stériles, on introduit 25 µl des différentes solutions testées et on ajoute 975 µl de la solution de DPPH. Après agitation, les tubes sont placés à l'obscurité et à la température ambiante pendant 30 min pour chaque concentration. Le test est répété trois fois.

Lecture de l'absorbance : La lecture est effectuée par un spectrophotomètre à 517 nm. L'activité anti-radicalaire ou le pouvoir antioxydant est estimée selon l'équation ci-dessous:

$$\text{A\%} = (\text{A0} - \text{AT}) \times 100/\text{A0}$$

Tel que :

A% : Pourcentage de l'activité anti-radicalaire ;

A₀ : Absorbance du control négatif (DPPH dans le méthanol) ;

A_T : Absorbance de l'échantillon.

II.3.1.3. Calcule des IC₅₀

IC₅₀ ou concentration inhibitrice de 50% (aussi appelé EC₅₀ pour *Efficient concentration 50*), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% du radicale DPPH°. Les IC₅₀ sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés, pourcentage d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées (Bertoncelj *et al.*, 2007 ; Marxen *et al.*, 2007 ; Scherer *et al.*, 2009 ; Fabri *et al.*, 2009).

II.3.2. Méthode de la réduction du fer FRAP (Ferric reducing antioxidant power)

II.3.2.1. Principe

La capacité de l'extrait méthanolique à réduire le fer trivalent (Fe³⁺) en fer divalent (Fe²⁺) a été évalué par la méthode d'Oyaizu, (1986). Le mécanisme est connu comme étant un indicateur de l'activité donatrice d'électron, caractéristique de l'action antioxydant des flavonoïdes (Figure 13).

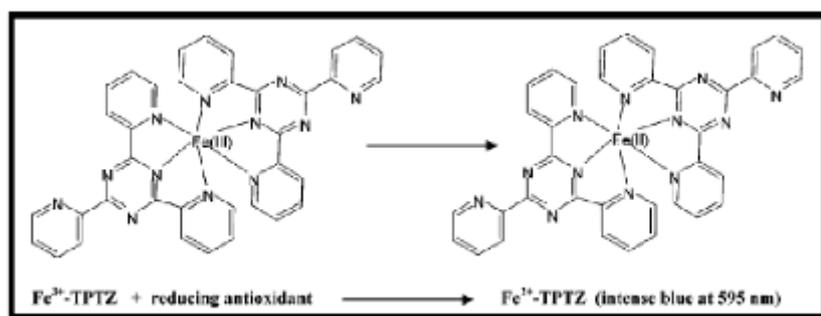


Figure 13. Mécanisme réactionnel du test FRAP (ferric reducing-antioxidant power)

(Prior *et al.*, 2006).

II.3.2.2. Mode opératoire

1 ml de l'extrait est mélangé avec 1ml d'une solution tampon phosphate (0,2 M, PH= 6,6) et 1ml d'une solution de ferricyanure de potassium K₃F(CN)₆ à 1%. L'ensemble est

incubé au bain marie à 50°C pendant 20 min ensuite 1 ml d'acide trichloroacétique à 10% est ajouté pour stopper la réaction ; Les tubes sont centrifugés à 3000 tour par minutes pendant 10 min, 2ml du surnageant sont mélangées à 2ml d'eau distillée et 0,4 ml d'une solution de chlorure ferrique à 0,1 %. La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700 nm (Oyaizu, 1986). Le contrôle positif est représenté par une solution d'antioxydants standards, la quercétine et la rutine dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que l'échantillon. L'effet séquestrant des échantillons vis-à-vis du fer est exprimé en pourcentage de chélation selon l'équation suivante:

$$\% \text{ Chélation} = \frac{[(\text{Abs } 700 \text{ controle} - \text{Abs } 700 \text{ échantillon}) / \text{Abs } 700 \text{ controle}] \times 100}{}$$

II.3.3. Test de blanchissement de la β -carotène

II.3.3.1. Principe

Le principe de cette méthode est la mesure de l'inhibition de la dégradation oxydative du β -carotène (décoloration) par les produits d'oxydation de l'acide linoléique.

II.3.3.2. Mode opératoire

La solution de β -carotène/acide linoléique est préparée par solubilisation de 0,5 mg de β -carotène dans 1ml du chloroforme. 25 μ l d'acide linoléique et 200 mg de Tween 40 solubles sont additionnés. Une fois que le chloroforme est complètement évaporé à 70 °C, 100 ml d'eau distillée saturée en oxygène sont ajoutés. À 2,5 ml de cette émulsion, 350 μ l de l'extrait méthanolique ou des antioxydants de référence (quercétine, rutine et BHT) solubilisés dans du méthanol (2mg/ml) sont additionnées (Kartal *et al.*, 2007).

La cinétique de décoloration de la solution en présence et en absence d'antioxydant (contrôle négatif dans lequel l'échantillon est remplacé par 350 μ l de méthanol) est suivie à 490 nm à des intervalles de temps réguliers pendant 48 heures.

II.3.4. Evaluation de l'activité antioxydante par la méthode d'ABTS : Réduction du radical- cation ABTS

II.3.4.1. Principe

Cette méthode est basée sur la réduction du radical libre ABTS^{•+} « 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) » pour évaluer l'activité antioxydante de l'échantillon. Ce radical cationique est facilement formé par oxydation en présence de persulfate de potassium pour donner une solution colorée en vert-bleue (Prouillac, 2006). L'addition d'un antioxydant à une solution de ce radical cationique entraîne la réduction de ce radical et une diminution de l'absorbance. Cette diminution dépend de l'activité antioxydante des composés testés, du temps et de la concentration (Re *et al.*, 1999).

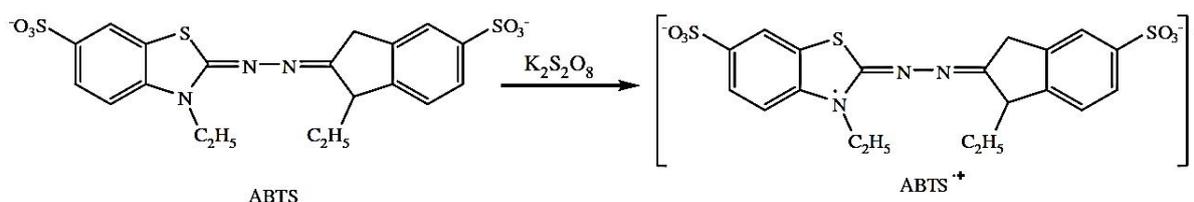


Figure 14. Oxydation de l'ABTS par le persulfate de potassium et génération de ABTS^{•+} (Gülçin, 2012).

II.3.4.2. Mode opératoire

Le piégeage du radical cationique ABTS^{•+} est réalisé par la méthode de (Djeridane *et al.*, 2006). La solution du radical cationique ABTS^{•+} a été préparée en mélangeant 2,45 mM d'ABTS avec 7 mM de persulfate de potassium (K₂S₂O₈). Après 16 heures d'incubation, la solution d'ABTS^{•+} a été diluée avec le méthanol. Un volume de 50 µl d'extrait est additionné à 1 ml de la solution d'ABTS fraîchement préparée (Djeridane *et al.*, 2006). L'absorbance est lue à 734 nm. L'activité scavenger d'ABTS est calculée par l'équation suivante:

$$\text{ABTS radical scavenging activity (\%)} = \left(A_0 - \frac{A}{A_0} \right) \times 100$$

Tel que:

A₀: absorbance du contrôle négatif

A: absorbance de l'échantillon

III. Analyse statistique

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne ± l'Erreur Standard à la Moyenne (M ± ESM). Après analyse de variance, la comparaison des moyennes est effectuée par le test *t* de

student pour des échantillons appariés. La valeur trouvée par le calcul du t peut affirmer que les populations sont différentes avec un risque d'erreur p tel que:

$p > 0,05$ = la différence n'est pas significative (ns);

$0,05 > p > 0,01$ = la différence est significative*;

$0,05 > p > 0,001$ = la différence est hautement significative**;

$p < 0,001$ = la différence est très hautement significative***.

Dans cette partie du travail, nous allons discuter les résultats relatifs au screening phytochimique, à l'extraction des polyphénols, à la caractérisation et à l'évaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques de l'extrait des gousses de *sophora japonica* L.

I. Screening phytochimique

Les résultats des analyses phytochimiques qualitatives réalisées par (Gherbi et Nehache, 2018) sur l'extrait de la poudre végétale des gousses de *sophora japonica* L. ont permis de mettre en évidence différents métabolites secondaires présents dans les gousses de *sophora japonica* L. par des réactions de coloration, de précipitation par des réactifs chimiques spécifiques, dans le but de détecter les classes des composés existants dans les gousses.

Selon les réactions de caractérisation phytochimique, la présence ou bien l'absence des principaux groupes phytochimiques au niveau des gousses de *sophora japonica* L. peuvent être mentionnés. Ces résultats suggèrent que les gousses de *sophora japonica* L. présentent une très forte teneur en flavonoïdes, tanins totaux, tanins galliques, tanins catéchiques, saponosides, glucosides et mucilages. Cependant, elles sont moyennement riches en coumarines. En revanche, une absence totale des anthocyanes, l'amidon, les alcaloïdes, et les sénosides est notée. Ces résultats suggèrent que la plante est d'une grande importance, elle est riche en composés phénoliques tels que les tanins, les flavonoïdes et les saponosides qui sont reconnus pour leurs propriétés antioxydantes (Hertog *et al.*, 1993).

II. extraction et caractérisation des composés phénoliques

II.1. Rendement de l'extraction

Le rendement désigne la masse de l'extrait déterminée après évaporation du solvant, il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale de la plante soumise à l'extraction. Le rendement d'extraction obtenu par (Gherbi et Nehache, 2018) sur les polyphénols de *Sophora japonica* est de 66,50%. Ces résultats sont supérieurs de ceux obtenus par (Khadri, 2019) où le rendement de l'extrait méthanolique de la plante *Cytisus triflorus* (Fabaceae) est de 21,33%.

Le rendement d'extraction dépend de plusieurs facteurs qui peuvent influencer les performances de l'extraction, tels que la taille des particules, la nature du solvant, la température, le temps d'extraction et le degré d'agitation. L'utilisation d'un mélange

hydroalcoolique comme solvant donne des résultats satisfaisants dans un processus d'extraction (Perva-Uzunalic *et al.*, 2006). Le rendement de l'extraction varie également en fonction de l'espèce végétale, l'organe utilisé dans l'extraction, les conditions de séchage, le contenu de chaque espèce en métabolite et de la nature du solvant utilisé dans l'extraction ou fractionnement et de sa polarité (Bruneton, 1993; Bennadja *et al.*, 2013).

II.2. Analyse quantitative de l'extrait méthanolique

II.2.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols a été réalisé selon la méthode de folin ciocalteu en utilisant comme standards l'acide gallique. La quantification des composés phénoliques est faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y=ax+b$) réalisé par une solution étalon (l'acide gallique) à différentes concentrations. La teneur en composés phénoliques de l'extrait est alors calculée à partir de la courbe d'étalonnage et exprimée en milligramme équivalent en acide gallique par gramme de la matière sèche (mg EAG/g d'extrait). La mesure de la densité optique est effectuée à la longueur d'onde 760 nm. La coloration bleue produite possède une absorption maximale aux environs de 760 nm. Elle est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'extrait.

Les polyphénols sont estimés par plusieurs méthodes, comme la méthode de bleu de Prusse (Graham, 1992), mais la plus utilisée est celle de Folin-Ciocalteu. La teneur en polyphénols de *S. japonica* obtenue par (Gherbi et Nehache, 2018) est de 0,011 mg EAG/g d'extrait. Ces résultats sont significativement inférieurs à ceux de (Habibou *et al.*, 2018) où la valeur de la teneur en polyphénols trouvée dans l'extrait méthanolique de la plante *Detarium microcarpum* Guill. est de $109,44 \pm 40,6$ mg EAG/g.

Cette différence serait due au fait que les méthodes d'extractions peuvent affecter la concentration en polyphénols du fait de la solubilité des composés phénoliques. En outre, (Alabri *et al.*, 2014) affirme que la méthode d'extraction liquide-liquide (par fractionnement) peut faire diluer ou au contraire augmenter les teneurs en composés phénoliques de l'extrait brut. Aussi, il est très important de souligner que la méthode de détermination du taux des polyphénols totaux n'est pas basée sur des mesures des quantités absolues, mais sur leurs capacités de réduction chimique par rapport à l'acide gallique (Hossain et Shah, 2015). De plus le matériel végétal a été récolté dans des régions différentes et la distribution des métabolites secondaires peut changer pendant le développement de la plante (Christian, 2010).

L'extraction des composés phénoliques est aussi influencée par le temps et la température d'extraction, ce qui reflète les actions paradoxales de la solubilisation et la dégradation par oxydation. Par conséquent, il est important de faire le bon choix de la procédure /méthode d'extraction afin de maintenir la stabilité des composés phénoliques (Turkmen *et al.*, 2007).

II.2.3. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode d' AlCl_3 en utilisant comme standard la quercétine. Sur la base des données qui représentent l'absorbance en fonction des différentes concentrations de la quercétine, une courbe d'étalonnage est établie. La teneur en flavonoïdes de l'extrait est alors calculée à partir de la courbe d'étalonnage et exprimée en milligramme équivalent en quercétine par gramme de la matière sèche. La mesure de la densité optique a été effectuée à la longueur d'onde de 415 nm.

Le résultat de la quantité des flavonoïdes obtenu par (Gherbi et Nehache, 2018) sur la plante *Sophora japonica* est de 15,65 mg EQ/g de matière végétale. Ces résultats suggèrent que la plante *S. japonica* est extrêmement riche en flavonoïdes. Ces résultats sont significativement supérieurs à ceux trouvés par (Rahmani, 2017) où la teneur en flavonoïdes de l'extrait de la plante *Trigonella foenum-graecum* L. (Fabaceae) est de $3,778 \pm 0,13$ mg EQ/g. Cette différence est peut être due au temps et aux saisons de la récolte, aux conditions climatiques ainsi que les conditions d'extraction et du dosage lui-même. Selon (Ravel *et al.*, 2005), les méthodes de conservation et d'exposition des plantes à la lumière peuvent affecter la teneur en flavonoïde.

II.2.4. Dosage des tanins condensés

La quantification des tanins est effectuée en utilisant la courbe d'étalonnage utilisant la catéchine comme contrôle positif. Les résultats sont exprimés en milligramme (mg) équivalent de la catéchine par gramme de la matière végétale sèche (mg EC/g).

Les résultats obtenus par (Nehache et Gherbi, 2018) montrent que le taux en tanins est de 0,038 mg ET/g de matière végétale.

Les tanins condensés sont des inhibiteurs des superoxydes dismutases. La teneur en tanin varie avec l'espèce végétale et ces variations peuvent être liées d'une part au degré de maturité et d'autre part au site de récolte (Bornner *et al.*, 1974).

II.2.5. Dosage des caroténoïdes

Le dosage des caroténoïdes nécessite préalablement l'établissement d'une courbe d'étalonnage en utilisant la β -carotène comme étalon et exprimé en milligramme équivalent de β -carotène par gramme d'extrait (mg EQ de β -carotène/g d'extrait). La teneur en caroténoïdes pour l'extrait des gousses du *sophora japonica* L. trouvée par (Gherbi et Nehache, 2018) est estimée à $1,333 \pm 0,026$ (mg E β -carotène/g d'extrait), cette valeur présente une importante teneur en caroténoïdes dans l'extrait.

III. Evaluation de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante de l'extrait est évaluée *in vitro* par quatre méthodes différentes. Il s'agit du piégeage du radical libre DPPH, le système de blanchissement de la β -carotène, le pouvoir réducteur du fer ferreux (FRAP) et Le piégeage du radical cationique ABTS⁺.

III.1. Méthode de piégeage du radical libre DPPH

L'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de *Sophora Japonica* vis-à-vis du radical DPPH est évaluée spectrophotométriquement en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à 517 nm (Maisuthiaskul, 2007). Dans le but de déterminer la concentration d'inhibition du radical DPPH la plus faible, Le test s'effectue à température ambiante, cela évitera toute dégradation thermique des molécules thermolabiles.

Les résultats du pourcentage d'inhibition (PI %) du DPPH obtenus pour l'extrait phénolique de *S. japonica* (Gherbi et Nehache, 2018) est de l'ordre $96,47 \pm 0,26$. Ces auteurs ont constaté que l'extrait méthanolique possède une activité anti-radicalaire supérieure à celle des standards (BHT et acide ascorbique). Ces résultats obtenus ont permis également de déterminer les valeurs d'IC₅₀, concentration en extrait nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH. Plus la valeur de l'IC₅₀ est petite, plus l'activité antioxydante de l'extrait testé est grande (Pokorny *et al.*, 2001). Le potentiel anti-radicalaire global de l'extrait testé est supérieur à celui de l'acide ascorbique et du BHT dont l'IC₅₀ est de $0,76 \pm 0,12$ mg/ml, suivie de l'acide ascorbique $0,46 \pm 0,11$ mg/ml ensuite le BHT $0,43 \pm 0,005$ mg/ml.

Ces résultats restent inférieurs à ceux obtenus par (Leena *et al.*, 2014) sur la plante *Trigonella foenum graecum L.* (Fabaceae) dont l'IC50 de l'extrait méthanolique est de 0,06896 mg/ml. Également, l'extrait méthanolique de *Genista quadriflora* (Fabaceae) avait présenté une activité antiradicalaire inférieure à celle de notre espèce avec une de 0,05897 mg/ml selon (Boukaabache *et al.*, 2013).

Plusieurs facteurs influent sur le potentiel antioxydant et la cinétique de la réduction, notamment les conditions de la réaction (temps, rapport Antioxydant/DPPH, type de solvants, pH) et le profil phénolique en particulier. Le mécanisme principal d'action des composés phénoliques est le piégeage des radicaux libres par le transfert de l'atome H sur le DPPH alors transformé en une molécule stable DPPH (Kahkonen *et al.*, 1999 ; Popovici *et al.*, 2010).

Les composés phénoliques semblent être de bons candidats pour leurs activités antioxydantes du fait de la présence de nombreux groupements fonctionnels hydroxyles, pouvant réagir avec les radicaux libres. La présence d'un groupement catéchol est le déterminant majeur de l'activité redox des polyphénols. Selon la littérature, il existe une relation entre la structure des polyphénols et leur capacité à piéger les radicaux libres. Il a été suggéré que les molécules polaires présentes dans les extraits végétaux contribuent à l'augmentation de l'activité antiradicalaire (Yang *et al.*, 2008 ; Roudsari *et al.*, 2009).

III.2. Chélation du fer ferreux

L'activité antioxydante de l'extrait méthanolique est également étudiée en utilisant la méthode de chélation des ions ferreux. Cette dernière est un essai simple, rapide et reproductible. Elle est universelle et peut être appliquée aussi bien chez les plantes que les plasmas et dans les extraits organiques et aqueux (Bougandoura & Bendimerad, 2012).

Les valeurs obtenues par (Gherbi et Nehache, 2018) montrent que la capacité de l'extrait qui a le pourcentage de chélation de $78,96\% \pm 0,01$ de réduire le Fer est largement supérieure à celle de la quercétine et de la rutine qui ont le pourcentage de chélation de l'ordre de $17,55\% \pm 0,02$ et $13,87\% \pm 0,015$ respectivement. Ces mêmes résultats peuvent expliquer que l'extrait méthanolique présente un pouvoir réducteur important, ce qui s'explique par le fait qu'il renferme des molécules ayant un potentiel réducteur donneur d'électron, tandis que la quercétine et la rutine ont montré un pouvoir réducteur moins fort.

La présence des réducteurs dans les extraits des plantes provoque la réduction de Fe^{3+}/Fe^{2+} Complexe ferricyanide à la forme ferreuse. Par conséquent, Fe^{2+} peut être évalué en

mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu dans le milieu réactionnel à 700 nm (Bougandoura et Bendimerad, 2012). Certaines publications ont indiquéesqu'il y a une relation directe entre les activités antioxydantes et la puissance de réduction des composants de quelques plantes (Bentabet *et al.*, 2014).

Le pouvoir réducteur des extraits de la plante est probablement dû à la présence degroupements hydroxyle dans les composés phénoliques qui peuvent servir comme donneurd'électron. Par conséquent, les antioxydants sont considérés comme des réducteurs etinactivateurs des oxydants (Bougandoura et Bendimerad, 2012). Les études menées par (Van Acker *et al.*,1998) sur la chélation des ions du fer par certains flavonoïdes ont mis en évidence les sites essentiels pour la chélation des ions métalliques:

- Les groupes 3'-hydroxy et 4'-hydroxy du cycle B (les fonctions catéchol),
- Les groupes 3-hydroxy et 4-oxo du cycle C.
- Les groupes 4-oxo et 5-hydroxy en position 3.

Ainsi, la quercétine qui combine tousces substituant est un complexant métallique particulièrement efficace (Ghedadbaet *al.*, 2015).Ce processus d'autoxydation dépend de multiples paramètres tels que la concentrationde l'ionmétallique et des polyphénols, la température, le pH, la présence d'agents complexant (Ghedadba *et al.*, 2015).Quelques études antérieures ont également montré que le pouvoir réducteur d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle (Bougandoura et Bendimerad, 2012).

III.3. Réduction du radical-cation ABTS

Le test ABTS est la méthode spectrophotométrique la plus populaire car elle est simple, rapide, sensible et reproductible. Sa réaction implique un processus de transfert d'atomes d'hydrogène et d'électrons (Re *et al.*, 1998).

L'activité anti-radicalaire est considérée comme étant la capacité des composés testés à diminuer directement la couleur du radical ABTS. Le contacte avec un donneur d'électron du radical ABTS $\bullet+$ conduit à la décoloration de la solution du bleu foncé en bleu vert (Lien *et al.*, 1999).

Les résultats de l'activité antiradicalaire par l'ABTS obtenus par (Gherbi et Nehache, 2018) ont montré que l'extrait polyphénolique présente un effet inhibiteur de $92,12 \pm 3,829$ mg/ml. Cette activité antioxydante est similaire à celle de Godevac *et al.*, (2008) qui ont trouvé un très bon potentiel antiradical (ABTS+•), avec une IC50 aux environs de $14.06 \pm 0,42$ µg/ml pour l'extrait méthanolique d'*Anthyllis aurea* (Fabaceae). Cependant, l'activité antioxydante de *S. japonica* est deux fois supérieure à celle de *Anthyllis vulneraria* 29.52 ± 0.81 µg/ml (Fabaceae) est sept fois supérieure à celle de *Coronilla emerus* 107.17 ± 2.43 µg/ml (Fabaceae) (Godevac *et al.*, 2008).

Certains travaux ont montré une bonne corrélation entre les IC50 et la teneur en polyphénols et en flavonoïdes (Athamena *et al.*, 2010 ; Ghedadba *et al.*, 2015). En effet, les composés phénoliques et plus particulièrement les flavonoïdes sont reconnus comme des substances potentiellement antioxydantes ayant la capacité de piéger les espèces radicalaires et les formes réactives de l'oxygène (Popovici *et al.*, 2010). L'effet scavenger des flavonoïdes est attribué à leur faible potentiel redox qui les rend thermodynamiquement capables de réduire les radicaux libres par un transfert d'atome d'hydrogène à partir des groupements hydroxyle (Siddhuraju et Becker, 2007 ; Ghedadba *et al.*, 2015).

III.4. Test de blanchissement de la β-carotène

La présence d'antioxydants pourrait neutraliser les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique et donc prévenir l'oxydation et le blanchissement du β-carotène. La cinétique de blanchissement du β-carotène en présence et en absence de l'extrait de *Sophora japonica* L., et des standards (quercétine, rutine et BHT) obtenu par (Gherbi et Nehache, 2018) montre l'oxydation (blanchissement) du β-carotène dans un temps de 48 heures. La diminution de l'absorbance est due à l'oxydation du β-carotène et l'acide linoléique. L'ajout de substance antioxydante, joue un rôle protecteur et empêche ou ralentit cette oxydation. Cet effet protecteur est mesuré par le taux d'inhibition du blanchissement du β-carotène à la fin de la durée d'incubation. D'après ces résultats, il est évident que l'extrait de *S. Japonica* et les standards testés sont capables d'inhiber l'oxydation couplée de l'acide linoléique et du β-carotène par rapport au contrôle négative qui représente une faible inhibition de blanchissement du β-carotène. Une corrélation linéaire remarquable et significative est trouvée entre l'AAR des extraits et la teneur en flavonoïdes ($p < 0,05$). Ces résultats sont probablement dus à la haute spécificité de l'essai du blanchissement du β-carotène pour les composés lipophiles (Gachkar *et al.*, 2007). En effet, un extrait qui inhibe ou retarde le blanchiment β-

carotène peut également être décrit comme un capteur de radicaux libres et comme un antioxydant primaire (Liyana-Pathirana *et al.*, 2006). L'inhibition de l'oxydation de l'acide linoléique couplée à celle du β -carotène semble très utile en tant que modèle mimétique de la peroxydation des lipides dans les membranes biologiques (Ferreria *et al.*, 2006).

Les radicaux peroxydes provenant du piégeage des atomes d'hydrogènes à partir des groupements méthylènes diallyliques de l'acide linoléique, attaquent le β -carotène hautement insaturé entraînant ainsi son oxydation et donc la disparition de la couleur orange (Amarowicz *et al.*, 2010). Cependant, la présence des antioxydants dans le mélange réactionnel pourrait inhiber relativement l'oxydation de β -carotène. Cette inhibition est due probablement, soit à l'inhibition de l'auto-oxydation de l'acide linoléique ou au piégeage des radicaux peroxydes formés durant leur oxydation (Tepe *et al.*, 2005).

CONCLUSION

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. La majorité des médicaments actuels sont des copies concentrées de remèdes végétaux, notamment les polyphénols qui sont les plus intéressants et les plus étudiés de nos jours.

Le présent travail avait pour objectif d'étudier théoriquement la phytochimie de *Sophora japonica* L. et l'évaluation de son potentiel antioxydant. Cette plante est particulièrement bien fournie en métabolites secondaires connus pour leurs diverses et intéressantes activités biologiques.

Les résultats de nos recherches bibliographiques confirment les propriétés antioxydantes liées certainement aux vertus thérapeutiques attribuées à *sophora japonica*, de la famille Fabaceae.

Cette étude ouvre des perspectives d'utilisation de cette plante pour différents usages et ne constitue qu'un début dans le domaine de la recherche des substances naturelles biologiquement actives. Des essais complémentaires seront nécessaires afin de pouvoir confirmer les activités mises en évidence.

« A »

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

Amallesh, S., Gouranga D., Sanjoy, K. D. (2011). Roles of flavonoids in plants. Vol-6, Issue-1, January-June-2011. ISSN: 0975-0525.

Amarowicz R., Pegg RB., Rahimi-Moghaddam P., Barl B. et Weil JA. (2004). Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. Food Chemistry **84**, p. 551–562.

Ambiga, S., Narayanan, R., Durga, G., Sukumar, D., Madhavan, S. (2007). Evaluation of wound healing activity of flavonoids from *Ipomoea carnea jacq.* Ancient Science of Life Vol: XXVI (3) January, February, March 2007.

Amiot, M.J., Riollet, C., Landrier, J.F. (2009). Polyphénols et syndrome métabolique Polyphenols and metabolic syndrome, Polyphénols et syndrome métabolique. Médecine Des Maladies Métaboliques, 3(5), 476–482.

Annie, S., Arun, S., Kuppusamy, R., and Punitha, I. S. (2006). In Vitro Antioxidant Studies on the Benzyl Tetra Isoquinoline Alkaloid Berberine, Biol. Pharm. Bull. 29(9) 1906-1910 (2006) Vol. 29, No. 9.

Aruoma, O.L. 1996. Assessment of potential prooxidant and antioxidant actions. Vol. 73, no. 12 (1996).

Athamena, S., Chalghem, I., Laouark, A., Laroui, S. and Khebri, S. (2010). Activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Cuminum Cyminum L.* Science Journal. 11(1) ,69-81.

Aubert, V. (2014). Conception et évaluation d'un pansement multicouche antibactérien pour le traitement des plaies chroniques. Thèse de doctorat Sciences physico-chimiques et technologies pharmaceutiques. Université du Droit et de la Santé de Lille.

Azwanida, N. (2015). A review on the extraction methods use in medicinal plants, Principle, Strength and Limitation NN1, Volume 4, 2015, 4: 3.

« B »

Balaban, S., Nemoto, S., Finkel, T. (2005). Mitochondria, oxidants and aging. *Cell*, 120, 483-49.

Belyagoubi, N. (2012). Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de doctorat en biologie. Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen.

Bénard, C. (2009). Etude de l'impact de la nutrition azotée et des conditions de culture sur le contenu en polyphénols chez la tomate. Thèse de Doctorat : Université de NANCY.

Berger, M. (2006). Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. *Nutrition clinique et métabolisme* 20 (2006) 48–53.

Bidie, A., Banga, B., Adou, F., Jean D., & Allico, J. (2011). Activités antioxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne, *Sciences & Nature* Vol. 8 N°1: 1 - 11 (2011).

Biozot, N., et Charpentier, J.P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composé phénolique des organes d'un arbre foustier. *Le cahier des techniques de l'Inra*, P79.82p.

Blokhina, O., Virolainen, E., and Fagerstedt, K. V. (2003). Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a Review. *Annals of Botany*, 91, 179-194.

Bougandoura, N., et Bendimerad, N., (2013). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq, *Revue « Nature & Technologie »*. B- Sciences Agronomiques et Biologiques, n° 09/Juin 2013. Pages 14 à 19.

Boukaabache, R., Boubekri, N., Boumaza, O., Mekkiou, R., Seghiri, R., Sarri, D., Zam, D., Benayache, F., Benayache, S. (2013). Phytochemical study of ethyl acetate extract and antioxidant activity of *Genista quadriflora* Munby (Fabaceae), *Der Pharmacia Lettre*, 5 (6): 56-59.

Bouley, M.M.H. (1882). Bulletin de la Société nationale d'acclimatation de France, Au Siège de la Société, 1882, Volume 9 à 29, page 474.

Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I., Goran, A., Igetic, R. (2008). Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae). *Food chemistry*, 111(4), 925-929.

Broughton, G., Janis, J.E., Attinger, C.E. (2006). The basic science of wound healing. *plastic and reconstructive surgery*, 117: 12S-34S.

Bruneton, J. (1993). Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants. Technique et Documentation Lavoisier. ISBN : [2743000287](https://www.isbn-international.org/product/2743000287).

«C »

Chaouche, T. M. (2014). Etude des activités antioxydantes et antimicrobiennes des extraits de quelques plantes médicinales. Analyse par HPLC-SM les extraits les plus actifs. Thèse Présentée pour obtenir le diplôme de Doctorat en Biologie. Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen.

Charles, M. (1893). Comptes rendus des séances de la Société de biologie et de ses filiales, année 1893, Volume 5 ; Volume 45 page 453.

Cheok, C. Y., Salman, H. A. K. & Sulaiman, R. (2014). Extraction and quantification of saponins: A review. *Food Research International*, 59, 16-40.

Cherif, A., (2016). Effets cicatrisants de produits à base d'huile de lentisque (*Pistacia lentiscus* L.) sur les brûlures expérimentales chez le rat. Thèse Présentée pour obtenir le diplôme de Doctorat Es science en sciences vétérinaires, Option : Pharmacologie. Constantine, Université des Frères Mentouri Constantine 1 Institut des Sciences vétérinaires, 210p, N° d'ordre : 02/DS/2016.

Christian, Z. (2010). Altitudinal variation of secondary metabolites in flowering heads of the asteraceae: trends and cause. *Phytochemistry Review*. 9.(2). pp. 197-203.

Cristina, P., Bartek, T., Ilanka, S.(2009). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH, *Revue de génie industriel* 2009, 4, 25-39.

Crozier, A., Clifford, M. N. & Ashihara, H. (2008). Plant secondary metabolites : Occurrence, structure and role in the human diet. *Edition John Wiley and Sons*, p 32.

« D »

Dai, J. & Mumper, R. J. (2010). Plant Phenolics : Extraction, Analysis and Their Antioxydant and Anticancer Propreties. *Molecules* 15(10), 7313-52.

Djaalab, H. (2014). Evaluation chimique et activite antidermatophyte de quelques plantes medicinales d'Algerie. Thèse présentée en vue de l'obtention du doctorat en Sciences Vétérinaires. Université de Constantine 1.

Djoko, E., Foutse, Y., Magne, K. S., Dimo, T. (2019).Activité cicatrisante d'une pommade à base des feuilles de *Kalanchoe crenata* (Andr.) Haw chez le rat. (Wound scarring of a kalanchoe crenata leaves ointment).International Journal of Research and Analytical Reviews 2019 IJRAR December 2019, Volume 6, Issue 4.

Droge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological reviews*, 2002, 82(1), 47-95.

Dujardin, B., Egasse, E. (1989). Les plantes médicinales indigènes et exotiques, Volume 8.

« E »

Elzayat, E.M., Auda, S.H., Alanazi, F.K., Al-Agamy, M.H. (2018).Evaluation of wound healing activity of henna, pomegranate and myrrh herbal ointment blend. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 26(5): 733-738.

Emerenciano, V.P., Barbosa, K.O., Scotti M. T., and Ferriro, M.J.P. (2007). Self organising maps in chemotaxonomic studies of Asteraceae: a classification of tribes usingflavonoid data *Journal of Brazilian chemical society*, 18(5), 891-899.

« F »

Favier, A. (1997). Le stress oxydant : intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes poses par le choix d'un marqueur. *Ann Biol Clin* 55, 9-16.

Favier, A. (2003). Le stress oxydant intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*. p108-115.

Favier, A. (2006). Stress Oxydant et pathologies humaines, *Annals of Pharmacotherapy SAGE Journal*, Vol 64, pp. 390-396.

Fei, P., Pei, X., Bing-Yi, Z., Min-Hua, Z., and Wen-Yong, L. (2018). The application of deep eutectic solvent on the extraction and in vitro antioxidant activity of rutin from *Sophora japonica* bud, Association of Food Scientists & Technologists (India) 2018.

Frémy, M.M., Soubeiran, R.L., Lefort, P., Riche, G. J. (1888).Journal de pharmacie et de chimie, Third series, contain Bulletin des travaux de la société d'émulation pour les sciences pharmaceutiques vol. 8-11.

Ferraq, Y. (2007). Développement d'un modèle de cicatrisation épidermique après une désépidermisation laser. Doctoral dissertation. Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier.

Fu-sheng, Z., Qian-yu, W., Ya-jie, P., Tong-yao, C., Xue-mei, Q., Jie, G. (2017), Identification of genes involved in flavonoid biosynthesis in *Sophora japonica* through transcriptome sequencing. 30 October 2017.

« G »

Gachkar L., Yadegari D., Rezaei MB., Taghizadeh M., Astaneh SA., Rasooli I. (2007). Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chemistry* 102, p. 898-904.

Gerard, M., Chaudiere,D. (1996). Metabolism and antioxidant function of glutathione. *Pathol Biol*. Vol 44: 77-85.

Ghasemzadeh, A. and Ghasemzadeh,N. (2011). Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human. *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 5(31), pp. 6697-6703, 23 December, 2011.

Ghedadba, N., Hambaba, L., Ayachi, M.C., Aberkane, H., Bousselsela, S.M., and Oueld, M. (2015).Polyphénols totaux, activités antioxydant et antimicrobienne des feuilles de *Marrubium deserti de Noé*. *Phytothérapie*. 13(2), 118 -129.

Ghedira, K. (2005). Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique, *Phytothérapie* (2005) Numéro 4: 162-169.

Gherbi, F., Nehache, I. (2018). Etude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante des gousses de la plante *Sophora japonica* L. (Fabaceae) de la région de Boumerdes. Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme de master en science biologique. Université M'hamed Bougara de Boumerdes.

Ghimi, W., Dicko, A., Khouja, M.L., El Ferchichi, O.H. (2014). Larvicidal activity, phytochemical composition, and antioxidant properties of different parts of five populations of *Ricinus communis* L. *Ind. Crop. Prod.* 56, 43-51.

Gironi, F., Vincenzo, P., and Capparucci, C. (2011). Temperature and solvent effects on polyphenol extraction process from chestnut tree wood in water solutions. *Chemical engineering research and design* 89 (2011) 857–862.

Godevac, D., Zdunić, G., Savikin, K., Vajs, V., Menoković N. (2008). Antioxidant activity of nine Fabaceae species growing in Serbia and Montenegro *Fitoterapia* 79: 185-187.

Goudable, J., et Favier, A. (1997). Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Journal of Nutrition Clinique Métabolique.* 11 :115 -20.

Gravot, A., Milesi, S., Gontier, E. (2001). Production of plant secondary metabolites: a historical perspective F. Bourgaud. *Plant Science* 161 (2001) 839–851).

Grinberg, N. (1990). Modern Thin-Layer Chromatography, CHROMATOGRAPHIC SCIENCE SERIES. volume 52.

Guillaume, D., and Charrouf, Z. (2005). Saponines et métabolites secondaires de l'arganier (*Argania spinosa*). *Cahiers Agricultures* 14(6): 509-516 (501).

« H »

Habibou, H.H., Moutari, S.k., Lawaly, M.M., Idrissa, M., Rabani, A., Ikhiri. K. (2018). Criblage phytochimique et dosage des polyphénols du *Detarium microcarpum* Guill. Et Perr. utilisé dans le traitement des maladies parasitaires au Niger. *Afrique Science* 14(5)(2018)390-399

Halliwell, B. (1994).Free radicals, antioxidant and human disease: curiosity, cause or consequence? *The Lancet*, 344 (8924): 721-724.

Halliwell, B., Whiteman, M. (2004). Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean. *British journal of pharmacology* .2004; 142(2), 231-255.

Hartmann, T. (2007). Fifty years research of plant secondary metabolism. From waste products to ecochemicals: *Phytochemistry*68: 2831 – 2846, 2007.

Hennebelle, T., Sahpaz, S., Bailleul, F. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 1: 3-6.

Heywood, V.H. (1996). *Flowering Plants of the World*. Oxford University Press. Oxford. pp. 141-145,149-152.

HOFFMANN, L. (2003). Etude du métabolisme des phénylpropanoïdes; analyse de l'interaction de la caféoyl-coenzyme A 3-O-méthyltransférase (CCoAOMT) avec son substrat et caractérisation fonctionnelle d'une nouvelle acyltransférase, l'HydroxyCinnamoyl-CoA : shikimate/quinate hydroxycinnamoyl Transférase (HCT). Thèse de Doctorat : Université de LOUIS PASTEUR-STRASBOURG I.

Hossain, M.A., Shah, D.M. (2015). A study on the total phenols content and antioxidant activity of essential oil and different solvent extracts of endemic plant *Merremia borneensis*. *Arabian journal of chemistry* vol 8, issue 1, January 2015.p 66-71.

Hutzler, P., Fishbach, R., Heller, W., Jungblut, T.P., Reuber, S., Schmitz, R., Veit, M., Weissenbock, G., Schnitzler, J.P.(1998).Tissue localization of phenolic compounds in plants by confocal laser scanning microscopy. *Journal of experimental botany*; 49 (323): 953-965.

« I »

Ilhami, G. (2012). Antioxidant activity of food constituents: An overview, *Arch Toxicol* (2012) 86:345–391.

Ivanova, D., Gerova, D., Chervenkov, T., Yankova, T. (2005).Polyphenols and antioxidant capacity of Bulgarian medicinal plants *Journal of Ethnopharmacology* 96 (2005) 145–150.

« J »

Jean-Jacques, M. (1996). Les composés phénoliques des végétaux: quelles perspectives à la fin du XXème siècle. Société botanique de France 1996 .143 (6), 473-479. ISSN 1253-8078.

Jin, D., and Russell, J. M. (2010). Plant Phenolic: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties .Vol (15), 7313-7352.

« K »

Kada, S. (2018). Recherche d'extraits de plantes médicinales doués d'activités biologiques. Thèse de doctorat en Sciences. Université Ferhat Abbas Sétif 1.

Kanitakis, J. (2002). Anatomy, histology and immunohistochemistry of normal human skin. 12 (4): 390-401.

Kartal N., Sokmen M., Tepe B., Daferera D., Polissiou M., Sokmen A. (2007). Investigation of the antioxidant properties of *Ferula orientalis* L. using a suitable extraction procedure. Food Chemistry, 100, p. 584-589.

Kelly, E., Heim, A.R.T., Dennis, J.B. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure- activity relationships. Journal of Nutritional Biochemistry 13 (2002) 572–584.

Kahkonen, M.P., Hopia, A. I., Vuorela, H.J., Rauha J.P., Pilaja, K., Kujala, T.S. and Heinonen, M. (1999). Antioxydant activity of plant extracts containing phenolic compounds. Journal of Agricultural and Food Chemistry.47:3954-3962.

Kocchilin-Ramotxo, C. (2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. Nutrition clinique et métabolisme. 20 : 165-177.

Kosalec, I., Bakmaz, M., Pepeljnjak, S., et Vladimir-Kneg, S. (2004). Quantitative analysis of the flavonoids in raw propolis from northern Croatia. Acta Pharm, 54:65-72p.

Kovacic, P., Pozos, R.S., Somanathan, R., Shangari, N., O'Brien, P.J. (2005). Mechanism of mitochondrial uncouplers, inhibitors, and toxins: focus on electron transfer, free radicals, and structure-activity relationships. Current Medicinal Chemistry, 2005, 12(22), 2601-262.

Kumaran R., Karunakaran J. (2006). Antioxidant Activities of the Methanol Extract of *Cardiospermum halicacabum*. *Pharmaceutical Biology* 44(2), p.146-151.

« L »

Lavallaz, P., Délétroz, R. (1994). *Chromatographie*, pp 1-14.

Leena, S., Priyanka, S., Sheema, B., Anupma, M., Pooja B. et Sunita, D., (2014). Free radical scavenging activity, phenolic contents and phytochemical analysis of seeds of *Trigonella Foenum Graecum*. *Asian Pac. J. Health Sci.* 1(3): 219-226.

Lien, E.J., Bui, H.H., Wang, R. (1999). Quantitative structure-activity relationship analysis of phenolic antioxidant. *Free Radical Biology and Medicine*, 26:285-294.

Lim, T. K. (1978). *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants: Volume 7, Flowers.*

Liyana-Pathirana CM, Shahidi F. (2006). Antioxydant proprieties of commercial soft and hard winter wheats (*Triticum aestivum* L.) and their milling fractions. *Journal of the Science and Food Agriculture* 86, p. 477-485.

« M »

Macheix, J.J., Fleuriet, A., Jay-Allemand, C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PUR Presses polytechnique. ISBN 2-88074-625-6.

Malviya, R., Bansal, V., Pal, O.P. and Sharma, P.K. (2010). High performance liquid chromatography: a short review. *Journal of Global Pharma Technology*, 2010; 2(5): 22-26.

Manach C., Scalbert A., Remesy C., Morand C. (2006). Consommation et disponibilité des polyphénols. In: *Les polyphénols en agroalimentaire*. P. Sarni-Manchado and V. Cheynier (Ed). Paris, Lavoisier. 361–380.

Manchado, P., et Cheynier, V. (2006). *Les polyphénols en agroalimentaire*. Tec et Doc, Paris, 398p. ISBN: 2-7430-0805-9.

Marius, L., Calixte, B., N'guéssan, B.Y.F., Goueh, G., Stéphanie, M. L., Hanane, A., Ahoua, Y., Guédé, N. Z., Adama, C., Abderrafia, H., et Mostafa, K. (2015). Analyse phytochimique et évaluation de la toxicité aiguë par voie orale chez des rats de l'extrait total aqueux des feuilles d'*Abrus precatorius Linn* (Fabaceae). *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 9(3): 1470-1476, June 2015.

Martinez-Cayuela, M. (1995). Oxygen free radicals and human disease. *Biochimie*, 77, 147-161.

Martine, R. and Chantal, S. (2011). Chimie avancée .préparation au bac et à la maturité. ISBN 978-2-88074-927-9.

Martin S, Andriantsitohaina R. Cellular mechanism of vasculo-protection induced by polyphenols on the endothelium. *Ann. Cardiol. Angéiol.* 2002, 51 (6): 304-15.

Mathilde, R. (2013). Etude des relations entre croissance, concentrations en métabolites primaires et secondaires et disponibilité en ressources chez la tomate avec ou sans bioagresseurs. Thèses de docteur de l'Université de Lorraine-INRA. En Sciences Agronomiques.

Mehinagic,E., Erwan, B., et Frédérique, J. (2011). Composés des fruits d'intérêt nutritionnel: impact des procédés de transformation sur les polyphénols, Ecole supérieure d'agriculture d'Angers, Vol. 43 (6): 364–368, 2011.

Miller, N., Paganga, G., Rice-Evans, C. (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. Review. Vol 2, ISSUE 2,p 152-159, April 01, 1997.

Mouillefert, p.(1892) Traité des arbres & arbrisseaux forestiers, industriels et d'ornement cultivés ou exploités en Europe et plus particulièrement en France, donnant la description et l'utilisation de plus de 2400 espèces et 2000 variétés, **P., Volumes 1 à 2 page 620 .**

Mortensen, A., Skibsted, L.H., Truscott, T.G. (2001). The interaction of dietary carotenoids with radical species, *Arch. Biochem. Biophys*, 385 (1) : 13–19.

« N »

Neuzil, J., Roland, S. (1993). Bilirubin attenuates radical-mediated damage to serum albumin. Published by Elsevier Science Publishers B. K. Volume 331, number 3, 281-284.

Nicole, C. (2001),Role of Flavonoids in Oxidative Stress,Current Topics in MedicinalChemistry 2001, 1, 569-590.

« O »

Occurrence, B., Kalyana, S., Samir, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity. Analytical, Nutritional and Clinical Methods, Food Chemistry 99 (2006) 191–203.

« P »

Palash, P., (2017).Green extraction methods of food polyphenols from vegetable materials.Current Opinion in Food Science 2017, 17:1–10.

Panaiva, L. (2006). Les techniques chromatographiques orientées sur les matériaux composites. Conférence Eurocopter, pp 2-24.

Panthati, M.K., Rao, K.N.V., Sandhya, S., David, B. (2012). Areview on phytochemical, ethnomedical and pharmacological studies on genus *Sophora*, Fabaceae.Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy 22(5): 1145-1154, Sep. /Oct. 2012.

Perva-Uzunalic, A., Skerget, M., Knez, Z., Weinreich, B., Otto, F. and Gruner, S. (2006). Extraction of active ingredients from green tea (*Camellia sinensis*): Extraction efficiency of major catechins and caffeine. Food Chemistry 96(4): 597-605.

Petrova, E., and Karin, S. (2017).High-Performance Liquid Chromatography (HPLC)-Based Detection and Quantitation of Cellular c-di-GMP Olga E.26 Nov2017. vol. 1657:33-43.

Pincemail, J., Heusele, C., Bonté, F., Limet, R., Defraigne, J. O. (2001). Stress oxydant, antioxydants nutritionnels et vieillissement. Act Med Int. 2001 ; 4, 18-23.

Pokorny, J., Yanishlieva, N. and Gordon, M. (2001). Antioxidants in food, practical applications. Wood head publishing limited. ISBN 1 85573 463 X.

Popovici, C., Saykova, I. et Tylkowski, B. (2010). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH, e-Revue de génie industriel. 4:1313-8871.

« R »

Rahmani, M. (2017). Etude physiologique et valorisation des plantes fourragères et médicinales dans la wilaya de Sidi Bel-Abbés, Algérie occidentale : Cas de Fenugrec (*Trigonella foenum-graecum* L.). Pour l'obtention du diplôme de Doctorat 3ème Cycle En Sciences de l'Environnement. Université Djillali Liabes de Sidi Bel-Abbés.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Yang, M and Rice-Evans, C. (1999). Antioxydant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radic Biol Med, 26:1231-1237.

Reneta, G., Gerassim, K., and Dessislava, I. (2007). Ontogenetic and Seasonal Variation in the Flavonoid Composition of *Sophora japonica*. Cultivated in Bulgaria. Pharmaceutical Biology 2007, Vol. 45, No. 2, pp. 149–155.

Rice, E., Catherine, A., Miller, N.J., Paganga, G. (1996). Structure–antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. Free Rad. Biol. Med, 20: 933–956.

Roudsari, M., Chang, P., Pegg, R., Robert, T. (2009). Antioxidant capacity of bioactives extracted from canola meal by subcritical water, ethanolic and hot water extraction. Food Chemistry. 114. pp. 717-726.

Rusznayk ST. & Szent-Györgyi A. (1936). Vitamin P: Flavonols as Vitamins. Nature. 138, 27.

« S »

- Sarma, A.D., Mallick, R.A., Ghosh, A.K. (2010).** Free Radicals and Their Role in Different Clinical Conditions/International Journal of Pharma Sciences ET Recherche (IJPSR). 2010; 1 (3):185- 192.
- Sayyah, M., Khodaparast, A., Yazdi, A., and Sardari, S. (2011)** .Screening of the anticonvulsant activity of someplants from Fabaceae family in experimental seizure models in mice; 19(4): 301–305.
- Sadasivam, S. & Thayumanavan, B. (2003).** Molecular host plant resistance to pests. Volume 96 de Books in soils, plants and the environment. *CRC Press*, p221.
- Shivananda, N.B., Sivachandra, R. S., Mathew, E., and Adash, R. (2009).** Evaluation of Wound Healing Activity of *Lantana camara L.* A Preclinical Study, *Phytother. Res.* 23, 241–245 (20 *Phytother. Res.* 23, 241–245 (2009).
- Siddhuraju, P., and Becker, K. (2007).** The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata (L.) Walp.*). Seed extracts. *Food Chemistry.* 101(1), 10-19.
- Singer, A. J., Clark, R. A. F. (1999).** Cutaneous Wound Healing. *New England Journal of Medicine*, 341(10): 738–746.
- Singleton, V.R., Orthifer, R. & Lamuela-Raventos, R.M. (1999).** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin- Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.
- Sofowera, A. (2010)** .Plantes médicinales et médecine traditionnelle d’Afrique. Karthala, Economie et Développement. Paris: 384.
- Sukhdev, S. H., Suman, P. S. K., Gennaro, L., Dev, D. R. (2008).**Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants.International Centre for Science and HIGH Technology Trieste, 2008.
- Sukon, A., and Paul, J. Z. (2013).** Development of Spectrophotometric Methods for the Analysis of Functional Groups in Oxidized Organic Aerosol. American Association for Aerosol Research, 2013.

Techer, S. (2013). Criblage d'activités biologiques de plantes endémiques ou indigènes de La Réunion - Recherche de molécules antivirales ciblant le virus du chikungunya. Thèse de doctorat en Science. Université de la Reunion - Ufr des Sciences et Technologies.

Tepe B., Daferera D., Sokmen A., Sokmen M., Polissou M. (2005).Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). Food Chemistry **90**, p. 333-340

Thraoui, A., Zafar, H.I, Badiaa, L. (2010).Acute and sub-chronic toxicity of a lyophilised aqueous extract of *Centaurium erythraea* in rodents. Journal of Ethnopharmacology 132 (2010) 48–55.

Turkmen, N., Velioglu, Y.S., Sari, F., Polat, G. (2007).Effect of extraction conditions on measured total polyphenol contents and antioxidant and antibacterial activities of black tea. Molecules. 12. pp. 484-496.

« V »

Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 2007, 39(1), 44-84.

Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M., Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chem. Biol Interact, 160: 1–40.

Verhoeyen, ME, Bovy, A., Collins, G., Muir, S., Robinson, S., De-Vos, C.H.R., Colliver, S.(2002).increasing antioxidant levels in tomatoes through modification of the flavonoid biosynthesis pathway.journal of experimental botany ;53(377) :209-210.

Van Acker S.A.B.E., Van Balen G.P., Van Den Berg D.-J., Bast A., Van Der Vijgh W.J.F. (1998). Influence of iron chelation on the antioxidant activity of flavonoids. Biochem. Pharmacol., 56, 935-943.

Vertuani, S., Angusti, A., and Manfredini, S. (2004).The antioxidants and pro-oxidants network: an overview. Current Pharmaceutical Design, 2004, 10, 1677-1694.

Vijayakumar, R., and Suresh, S.S.R. (2018). Secondary Metabolites Sources and Applications Edited. ISBN 978-1-78923-643-9.

Visioli, F., Borsani, L. & Galli, C. (2000). Diet and prevention of coronary heart disease: the potential role of Phytochemicals. *Cardiovascular Research* 47, 419–425.

Virginie, B. (1997). Etude de la production de métabolites secondaires par des cultures in vitro de Psoralées (Leguminosae). Thèse de doctorat en Sciences Agronomiques. Ecole Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires.

« U »

Urquiaga, I., and Leighton, F. (2000). Plant Polyphenol Antioxidants and Oxidative Stress. *Biological research*. Vol: 33(2):55-64.

« W »

Welbaum, G. E. (2015). Vegetable production and practices. ISBN-13:978-1-84593-802-4. P 390.

Witte, M. B. & Barbul, A. (1997). General principles of wound healing. *Surg Clin North Am*, 77 (3): 509-528.

Wojciechowski, M.F., Lavin, M., Sanderson, M.J.(2004). Phylogeny of Legumes (Leguminosae) based on analysis of the plastid MATK gene resolves many well-supported subclades within the family, *American Journal of Botany*, 2004, 11: 1846-2004.

« X »

Xirui, H., Yajun, B., Zefeng, Z., Xiaoxiao, W., Jiacheng, F, Linhong, H., Min, Z., Qiang, Z., Yajun, Z., Xiaohui, Z. (2016). Local and traditional uses, phytochemistry, and pharmacology of *Sophora japonica* L.: A review. 187 (2016) 160–182.).

« Y »

Yang, J., Guo, J., Yuan, J. (2008). In vitro antioxidant properties of rutin. *LWT*, 41. pp. 1060-1066.

« Z »

Zhihua, G., Xincheng, W., Xin, Z., Jitao, F., Xiang, L., Lijuan, W. (2019).An edible antioxidant film of *Artemisia sphaerocephala* Krasch gum with *sophora japonica* extract for oil packaging , *Food Packaging and Shelf Life* 24 (20219) 100460.

ملخص

المواد الطبيعية المشتقة من الكتلة الحيوية النباتية لها اهتمامات متعددة تستخدم في التكنولوجيا الحيوية في الصناعات الغذائية ومستحضرات التجميل والأدوية. من بين هذه المركبات ، نجد جزءاً كبيراً من المستقلبات الثانوية التي يتم توضيحها بشكل خاص في العلاج. دراسات المستقلبات الثانوية هي موضوع الكثير من البحث ، مثل المركبات الفينولية التي هي موضوع دراستنا. في *Sophora* هذا السياق ، يتعلق العمل الحالي بدراسة نظرية حول الكيمياء النباتية وإمكانات مضادات الأكسدة الناتجة عن نبات المستخدم تقليدياً لعلاج العديد من الأمراض. وفقاً للأبحاث البيولوجية المختلفة التي أجريت على توصيفها *Sophora japonica* غنية جداً بالبولىفينول والكاروتينات والعفص والفلافونيدات ، مما قد يفسر مزاياها *S. japonica* الكيميائي النباتي ، فإن العلاجية المختلفة. أتاحت التحليلات الإضافية إثبات القدرات المضادة للأكسدة ومضادات الجذور الحرة لهذه المستخلصات وفقاً أكد تحليل نتائج الدراسات البحثية المختلفة أن مستخلص النبات β -carotene و ABTS و FRAP و DPPH لطرق تشكل مصدرًا رئيسيًا *sophora japonica* المدروس له خصائص مضادة للأكسدة جيدة جداً. يتضح من هذه الدراسة أن قرون للمكونات النشطة التي تمتلك أنشطة بيولوجية مختلفة يمكن أن تلعب دوراً معترفاً به في طب الأعشاب.

الكلمات الأساسية: الإجهاد المؤكسد ، مضادات الأكسدة ، البولىفينول *Sophora japonica*

Résumé

Les substances naturelles issues de la biomasse des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans la biotechnologie tant dans l'industrie alimentaire, cosmétique que pharmaceutique. Parmi ces composés on retrouve une grande partie les métabolites secondaires qui se sont surtout illustrés en thérapie. Les études des métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches, c'est le cas notamment des composés phénoliques qui font l'objet de notre étude. Dans ce contexte, le présent travail porte sur une étude théorique sur la phytochimie et le potentiel antioxydant issue de la plante *Sophora japonica* utilisée traditionnellement pour traiter plusieurs maladies. Selon les différentes recherches bibliographiques effectuées sur sa caractérisation phytochimique, *S. japonica* est très riche en polyphénols, en caroténoïdes et en tanins et en flavonoïdes, ce qui pourrait expliquer ses différents vertus thérapeutiques. Les analyses complémentaires ont permis de mettre en évidence les capacités antioxydantes et antiradicalaires de ces extraits selon les méthodes de DPPH•, FRAP, ABTS, β -carotène. L'analyse des résultats de différents travaux de recherche ont permis d'affirmer que l'extrait de la plante étudié présente de très bonnes propriétés antioxydantes. Il ressort de cette étude que les gousses de *sophora japonica* constituent une source majeure de principes actifs possédant diverses activités biologiques qui pourraient jouer un rôle reconnu dans la phytothérapie.

Mots clés: *Sophora japonica*, Stress oxydant, antioxydants, polyphénols.

Abstract

Natural substances derived from plant biomass have multiple interests that are used in biotechnology in the food, cosmetics and pharmaceutical industries. Among these compounds, we find a large part of the secondary metabolites which are particularly illustrated in therapy. Studies of secondary metabolites are the subject of much research, such as phenolic compounds which are the subject of our study. In this context, the present work relates to a theoretical study on the phytochemistry and the antioxidant potential resulting from the plant *Sophora japonica* used traditionally to treat several diseases. According to the various bibliographical research carried out on its phytochemical characterization, *S. japonica* is very rich in polyphenols, carotenoids and tannins and flavonoids, which could explain its various therapeutic virtues. The additional analyzes made it possible to demonstrate the antioxidant and anti-free radical capacities of these extracts according to the methods of DPPH •, FRAP, ABTS, β -carotene. Analysis of the results of various research studies has confirmed that the extract of the plant studied has very good antioxidant properties. It emerges from this study that the pods of *sophora japonica* constitute a major source of active ingredients possessing various biological activities which could play a recognized role in herbal medicine

Keywords: *Sophora japonica*, Oxidant stress, antioxidants, polyphenols..