

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث 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

Mémoire de fin d'étude

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

Domaine: Science de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité: Biologie des Populations et des Organismes

Thème

**Evaluation de l'effet antioxydant et cicatrisant des extraits d'une plante
médicinale appartenant à la famille des Fabaceae.**

Présenté par :

- M^{elle}. Sadoudi Celia
- M^{elle}. Bournissa Malia

Soutenu publiquement, devant le jury composé de:

Mme BOUCHENAK-ARAB Ouahiba	MCA UMBB	Présidente
Mme BENHABYLES- BOUTTABA Narimen	MCB UMBB	Promotrice
Mme TOUBAL Souheyla	MAB UMBB	Examinatrice

Année universitaire 2019/2020

Remerciements

*Tout d'abord, nous remercions Dieu pour nous avoir donné la santé, le courage et la volonté pour achever ce travail. Ce mémoire a été réalisé sous l'encadrement de M^{me} **Benhabyles-Bouttaba Narimen** maître de conférences B à l'université de Boumerdes département de biologie, Nous tenons à lui exprimer toute notre gratitude pour nous avoir encadrés et veillés au bon déroulement de ce travail et de sa rigueur scientifique.*

*Merci d'avoir toujours été disponible et pour nous avoir guidé par vos conseils et orientations, nous remercions également tous les membres du jury M^{me} **Bouchenak Ouahiba** maître de conférences A à l'université de Boumerdes. Pour l'honneur qu'il nous fait pour avoir accepté la présidence du jury.*

*Nous remercions également M^{me} **Toubal Souheyla** maître assistant à l'université de Boumerdes. Pour l'honneur d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

Un grand merci de tout notre cœur tous les enseignants qui ont contribué à notre formation, plus précisément ceux de biologie des populations et des organismes tout au long de notre cursus. et pour l'ambiance conviviale qu'on a partagé durant les années de notre formation, merci À toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement, à la réalisation de ce travail.

Veillez trouver ici l'expression de notre respectueuse considération et notre profonde Admiration pour toutes vos qualités scientifiques et humaines.

Dédicace

*Je commence par rendre grâce à dieu tout puissant Qui m'a guidé sur le droit chemin
Tout au long du travail, pour la patience, la compétence et le courage qu'il m'a donné
pour arriver à ce but.*

*Je dédie ce modeste travail à Ma chère mère, pour son amour inestimable, sa
confiance, son soutien en toutes circonstances, ces sacrifices pour mon bonheur et ma
réussite, Puisse dieu, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur. Vous étiez
et vous serez à jamais ma Source d'inspiration, de joie, et d'affection.*

*A mon cher père rien ne peut exprimer l'amour, l'estime, et le respect que j'ai pour
vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon
bien être, A ma sœur à qui je souhaite un avenir radieux plein de réussite ; qui était
toujours là pour m'écouter, me reconforter et m'encourager dans les moments de doute.*

*A mon cher grand père, paix à son âme, et à ma chère grand-mère .une longue vie
inchallah merci pour avoir été toujours à mes côtés.*

*Santé et longue vie à mes chères tantes, à mes chères amies que j'ai vécues avec eux
des bons moments à l'université. , à tous mes camarades de la promotion de Master
BPO. Sans oublier ma chère binôme Malia et sa famille, votre amitié est un honneur
pour moi.*

*A tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à me remonter le moral et me soutenir
dans les moments difficiles. Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux et le fruit
de votre soutien infaillible. Merci d'être toujours là pour moi.*

Celia

Dédicace

A l'aide de dieu "Allah " tout puissant qui m'a tracé le chemin de ma vie,

Je dédie ce modeste travail à

Mon très cher père qui m'a toujours dirigeait vers le bon chemin, soutenu tout au long de ma vie, pour ses encouragements et tout l'effort qu'il a fourni depuis ma naissance jusqu'à aujourd'hui.

Ma douce et tendre mère qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite et toutes les valeurs qu'elle m'a inculqué.

*A la prunelle de mes yeux, mes chères frères **Khaled** et **Lotfi** qui étaient toujours là pour m'écouter, me reconforter et m'encourager dans les moments de doute.*

A mes adorables sœurs merci d'être toujours à mes côtés, merci pour votre présence et votre amour dévoué et tendresse, ainsi vous maris et vous enfants.

*A ma grand-mère, grand-père que dieu les protègent, une longue vie inchallah
J'adresse à toute ma famille chacun par son nom.*

*A ma très chère copine **Iness** qui ma toujours soutenue et encouragée.*

*Sans oublier ma chère binôme **Celia** et sa famille, votre amitié est un honneur pour moi. Je vous remercie pour les moments inoubliables que nous avons partagés ensemble que notre amitié soit éternelle.*

Un grand merci et une forte pensée à tous mes amis et mes collègues de promotion pour les moments sympathiques qu'on a partagés, merci pour ces merveilleuses années passées ensemble , je présente ma sincère affection.

A la fin le dédie très chaleureusement ce mémoire à tous personne qui compte pour moi.

Malia

Listes des figures

Figure 1. Distribution de <i>Sophora japonica</i> L. dans le monde.....	03
Figure 2. Photo de l'arbre prise dans son milieu de récolte.....	04
Figure 3. Représentation des voies de biosynthèse des polyphénols.....	12
Figure 4. Importance des composés phénoliques dans la vie de la plante.....	14
Figure 5. Structure des flavonoïdes.....	15
Figure 6. Balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants.....	21
Figure 7. Neutralisation d'un radical libre par un antioxydant.....	23
Figure 8. Sources de production des radicaux libres.....	24
Figure 9. Représentation 3D de la peau humaine avec les annexes.....	30
Figure 10. Phase inflammatoire.....	33
Figure 11. Phase proliférative.....	34
Figure 12. Gosses de la plante <i>Sophora japonica</i> L.....	36
Figure 13. Poudre végétale de la plante <i>Sophora japonica</i> L.....	37
Figure 14. Photo du rat Albino Wistar.....	38
Figure 15. Carte géographique de la région de Boumerdes indiquant la zone de récolte.....	38
Figure 16. Schéma illustrant la démarche expérimentale suivie dans cette étude.....	39
Figure 17. Evaporateur rotatif.....	40
Figure 18. Protocole d'extraction.....	40
Figure 19. Protocole récapitulant le dosage des polyphénols.....	42
Figure 20. Protocole récapitulation le dosage des flavonoïdes.....	42
Figure 21. Schéma de CCM.....	45
Figure 22. Schéma de préparation de plaque et dépôt des échantillons.....	45

Figure 23. Schéma de principe du fonctionnement de l'HPLC.....	47
Figure 24. Forme libre et réduite du DPPH.....	48
Figure 25. Protocole de test DPPH.....	49
Figure 26. Injection des rats.....	52
Figure 27. Rasage des dos des rats.....	52
Figure 28. Réalisation de la plaie.....	52

Liste des tableaux

Tableau I. Classification botanique de <i>Sophora japonica</i>	05
Tableau II. Les principales classes des composés phénoliques.....	10
Tableau III. Principales classes des flavonoïdes.....	16
Tableau IV. Les principaux radicaux libres.....	25

Liste des abréviations

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

AlCl₃ : Trichlorure d'aluminium.

BHT : Butyl-hydroxy-toluène.

CCM : Chromatographie sur Couche Mince.

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

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

EQ/g MS : Equivalent de Quercétine par gramme de Matière Sèche.

ERO : Espèces Réactives de l'oxygène.

HPLC : Chromatographie Liquide à Haute Performance.

IC₅₀ : Concentration Inhibitrice 50.

R : Rendement.

RF : Rapport Frontal.

RL : Radicaux Libres.

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire.

ROS: Reactive Oxygen Species.

SM : Spectrométrie de Masse.

UV: Ultra-violet.

Sommaire

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

Partie I : Synthèse bibliographique

Chapitre I : Présentation de l'espèce *Sophora japonica* L.

1. La famille des Fabaceae.....	03
2. Etymologie.....	03
3. Systématique et classification de la plante.....	04
4. Description botanique	05
5. Ecologie et conditions de plantation de <i>sophora</i>	06
6. Composition biochimique	06
7. Intérêt et utilisation de <i>sophora japonica</i> L.....	07

Chapitre II : Les métabolites secondaires

1. Généralités	08
2. Les Polyphénols	08
2.1. Localisation des Polyphénols au niveau de la plante	11
2.2. Biosynthèse des polyphénols	11
2.2.1. Voie de l'acide shikimique	11
2.2.2. Voie de l'acétate/malonate.....	12
2.3. Intérêt des polyphénols et leurs propriétés	13
3. Les flavonoïdes.....	15
3.1. Structure et classification des flavonoïdes.....	15
3.1.1. Structure.....	15
3.1.2. Classification.....	15
3.2. Localisation et distribution.....	17
3.3. Intérêt et propriétés des flavonoïdes.....	17
4. Intérêt biologique des métabolites secondaires.....	18
5. Principales méthodes d'études des métabolites secondaires.....	18
5.1. Procédés d'extraction.....	18
5.1.1. Infusion.....	18
5.1.2. Décoction.....	18
5.1.3. Macération.....	19
5.2. Procédés de purification et de caractérisation.....	19
5.2.1. Chromatographie sur couche mince(CCM).....	19

Sommaire

5.2.2. La chromatographie liquide à haute performance (HPLC).....	19
5.2.3. Les méthodes spectrophotométriques.....	20

Chapitre III : Stress oxydatif et activité antioxydante

1. Stress oxydatif	21
1.1. Origine du stress oxydatif.....	22
1.2. Mécanisme de Stress oxydatif.....	22
1.3. Maladies liées au stress oxydatif.....	23
2. Radicaux libres.....	23
2.1. Sources de production des radicaux libres.....	24
2.2. Les différents types des ROS.....	24
2.3. Rôle des radicaux libres.....	25
2.4. Inconvénients des radicaux libres.....	25
3. Activité antioxydante.....	26
3.1 Définition d'un antioxydant	26
3.2. Systèmes de défense antioxydante.....	26
3.2.1. Systèmes enzymatique.....	26
3.2.2. Systèmes non enzymatiques.....	27

Chapitre IV : Généralités sur la cicatrisation

1. Définition de la peau.....	30
2. Définition d'une plaie.....	31
3. Cicatrisation.....	32
3.1. Etapes de la cicatrisation.....	32
3.1.1. Phase d'inflammation.....	33
3.1.2. Phase proliférative.....	33
3.1.3. Phase de remodelage.....	34
3.2. Types de cicatrisation.....	35
3.2.1. Cicatrisation normale.....	35
3.2.2. Cicatrisation pathologique.....	35
3.3. Problèmes de cicatrisation.....	35

Partie II : Etude expérimentale

1. Matériel	36
1.1. Matériel biologique.....	36

Sommaire

1.1.1. Matériel végétal	36
1.1.2. Matériel animal.....	37
1.2. Présentation de la région d'étude.....	38
2. Méthodes d'étude	39
2.1. Procédure d'extraction des polyphénols.....	40
2.1.1. Détermination du rendement de l'extrait.....	41
2.1.2. Dosage des composés phénoliques.....	41
2.1.3. Dosage des flavonoïdes.....	42
2.1.4. Caractérisation chromatographique par CCM et HPLC.....	43
2.1.4.1. Chromatographie sur couche mince.....	43
2.1.4.2. Chromatographie par HPLC.....	45
2.2. Evaluation de l'activité antioxydante.....	47
2.2.1. Pouvoir anti radicalaire par la méthode du DPPH.....	48
2.2.2. Evaluation de l'activité antioxydante par la méthode d'ABTS.....	49
2.3. Evaluation de la toxicité aigüe de l'extrait végétal	50
2.4. Effet cicatrisant de l'extrait polyphénolique.....	51
2.4.1. Préparation de la crème de <i>sophora japonica</i> L.....	51
2.4.2. Evaluation de la cicatrisation de l'extrait végétal	51

Partie III : Discussion des résultats

1. Extraction et caractérisation des composés phénoliques.....	53
1.1. Rendement de l'extrait méthanolique.....	53
1.2. Dosage des polyphénols totaux.....	53
1.3. Dosage des flavonoïdes.....	54
2. La chromatographie sur couche mince (CCM).....	55
3. Chromatographie liquide à haute performance HPLC.....	55
4. Evaluation de l'activité antioxydante.....	55
4.1. Méthode de piégeage du radical libre DPPH.....	55
4.2. Réduction du radical-cation ABTS.....	57
4. Evaluation de la toxicité aigüe de l'extrait végétal.....	57
5. Effet cicatrisant de l'extrait polyphénolique.....	58
Conclusion et perspectives.....	59
Références bibliographiques.....	60



Introduction

Introduction

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité pour traiter toutes sortes de maladies (**Ivanova et al., 2005**). Leurs bienfaits sont dus à la présence de métabolites secondaires comme les phénols et les flavonoïdes qui représentent une source importante de produits pharmaceutiques actifs (**Gravot et al., 2001 ; Azwanida, 2015**).

Les polyphénols sont un groupe de substances chimiques présentes dans les plantes (**Gironi et al., 2011**). Ce sont des composés issus du métabolisme secondaire des végétaux et caractérisés par la présence d'un ou plusieurs groupements phénoliques dans leur structure. (**Amiot, 2009**).

Les flavonoïdes, en tant que principale classe de métabolites secondaires, sont largement distribués dans la nature et possèdent une variété d'activités biologiques à des concentrations non toxiques dans les organismes liées à leurs effets antioxydants (**Nicole, 2001 ; Zhenhua et al., 2003**).

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation (**Cristina et al., 2009**), qui représente une partie essentielle de la vie aérobie et de notre métabolisme (**Ilhami, 2012**). L'effet antioxydant a un intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires et cardiovasculaires (**Bougandoura et Bendimerad, 2013**), cependant des problèmes peuvent survenir en générant des radicaux libres, en augmentant le stress oxydatif, qui est un facteur déclenchant de nombreuses maladies, et en diminuant les défenses antioxydantes (**Bidie et al., 2011 ; Ilhami, 2012 ; Fei Peng et al., 2018**). Il y a un équilibre dynamique entre la quantité de radicaux libres générés dans le corps et les antioxydants pour protéger le corps contre leurs effets délétères (**Annie et al., 2006**).

La cicatrisation est le processus naturel de régénération du tissu dermique et épidermique. Lorsqu'une personne est blessée, un ensemble d'événements se produit de façon prévisible pour réparer les dommages. Le processus de cicatrisation comporte trois étapes: inflammation, prolifération et remodelage (**Shivananda, 2009**).

Les Chercheurs ont testé l'activité cicatrisante de nouveaux produits provenant de la médecine traditionnelle en expérimentant sur le modèle d'excision des plaies à partir de l'extrait de la plante (**Ambiga, 2007 ; Bensegueni et al., 2007**).

Sophora japonica L., est un genre de la famille des Fabaceae, couramment utilisé comme ingrédients pour la médecine traditionnelle chinoise (**Xirui et al., 2016 ; Fu-sheng**

Introduction

Zhang et al., 2017). Possédant diverses propriétés pharmacologiques/thérapeutiques, cette plante a été fréquemment utilisés pour traiter l'eczéma, les maux de gorge, l'asthme, l'hémorragie gastro- intestinale et la bronchite chronique (**Panthati et al., 2012 ; Zhihua et al., 2019**).

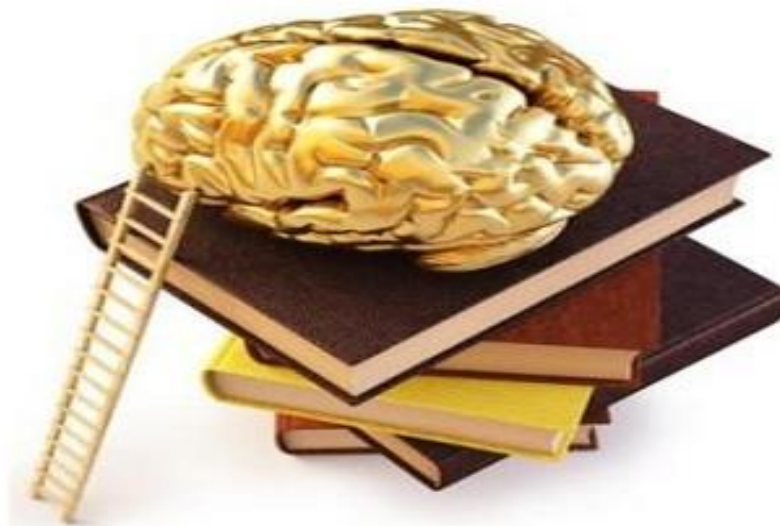
Cette plante est couramment utilisée en phytothérapie et cosmétologie, mais les données bibliographiques sont très limitées, donc d'autres recherches sont nécessaires pour évaluer l'activité antioxydante et à explorer les propriétés cicatrisantes de notre plante sur la plaie d'excision.

Pour atteindre ces objectifs, la présentation de nos travaux est répartie comme suit :

- 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. Malheureusement, la pandémie du COVID 19 nous a empêchées de le faire.
- La troisième partie on discute les résultats obtenus par d'autres chercheurs.

Et enfin une conclusion qui résumera l'ensemble du travail réalisé avec la liste des références.

Partie I
Synthèse Bibliographique



Synthèse bibliographique

Chapitre I : Présentation de l'espèce *Sophora japonica* L.

1. La famille des Fabaceae

Fabaceae est l'une des familles les plus importantes dans le règne végétal (Welbaum, 2015), des plantes à fleurs économiquement importantes, y compris la famille des pois ou la famille des haricots, avec 730 genres et plus de 19400 espèces (Sayyah *et al.*, 2011). La grande famille des Fabaceae (de faba, la fève) doit son unité à son fruit, appelé gousse ou légume, réparties aussi bien en milieu tempéré que tropical (Sayyah *et al.*, 2011).

La fixation de l'azote via la symbiose légumineuses-rhizobium permet aux plantes de cette famille d'obtenir des taux élevés en azote ammoniacal au niveau de leurs racines en fonction de la demande de leur métabolisme. Cette famille est composée de variétés horticoles et beaucoup d'espèces sont récoltées dans un but alimentaire, tant pour l'alimentation humaine (haricot, pois, fève, soja) qu'animale (trèfle, luzerne, sainfoin), pour leur huile (arachide, soja), leurs fibres, comme combustible, pour leur bois, Et aussi utilisées dans des applications médicinales (Wojciechowski, 2004).

2. Etymologie

Selon figure 1, *Sophora japonica* est originaire de Chine, et il a été naturalisé aux États-Unis, en Europe et autres parties du monde. Schott est le nom scientifique actuel selon les listes de plantes de l'International Plant Nutrition Institute, est également connu sous le nom d'arbre savant chinois (Xirui *et al.*, 2016).

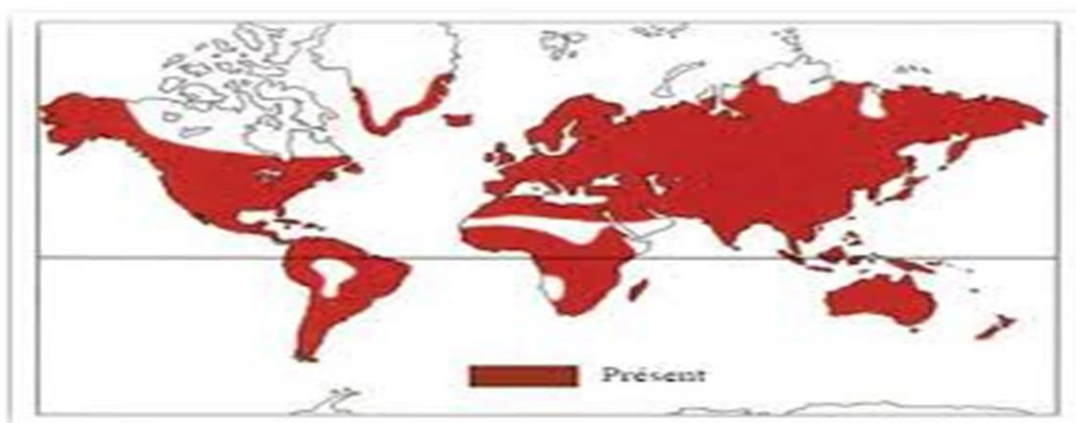


Figure 1. Distribution de *Sophora japonica* L. dans le monde d'après Heywood, (1996).

Synthèse bibliographique

3. Systématique et classification de la plante

Sophora japonica est une espèce d'arbuste appartenant à la sous-famille Fabioideae de la famille des pois Fabaceae, est un arbre d'ombrage qui pousse dans les zones tropicales (Xirui *et al.*, 2016). Il Contient environ 52 espèces, dix-neuf variétés et sept formes largement distribuées en Asie, en Océanie, et les îles du Pacifique. Ses deux sous-genres sont *Sophora* (fruits finalement déhiscent et incomplets mésocarpe) et *Styphnolobium* (fruit charnu indéhiscent et mésocarpe complet) (Panthati *et al.*, 2012). Figure 2 montres l'arbre dans son biotope.



Figure 2. Photo de l'arbre prise dans son biotope.

Synthèse bibliographique

La classification botanique de *Sophora* du japon selon Linné, (1830) est la suivante :

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

Classification phylogénique	
Règne	Plantae
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Fabales
Famille	Fabaceae
Sous-famille	Fabiodeae
Tribu	Sophoreae
Genre	<i>Styphnolobium</i>
Espèce	Japonicum
Rang	Espèce
Nom scientifique	<i>Styphnolobium japonicum</i>
Basionyme	<i>Sophora japonica</i>
Synonyme	<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) <i>Japanese pagodatree</i> (Anglais)

4. Description botanique

Sophora du japon est un arbre, arbustes ou herbes non venimeuse de petite à moyenne taille atteignant une hauteur de 15–25 m, au tronc court, rugueux, brun grisâtre, à l'écorce fissurée et aux branches dressées étalées et glabres, cylindrique (Charles, 1893 ; Xirui *et al.*, 2016 ; Lim, 1978). *Styphnolobium Japonicum* atteint de grandes dimensions; ses feuilles rondes sont de couleur vert olive; il donne en août des petites fleurs jaunes, les feuilles sont disposées en spirale, imparipennée 15-25 cm de long avec stipules caduques (Bouley, 1882 ; Lim, 1978).

Synthèse bibliographique

Les fleurs sont bisexuelles, papilionacées, légèrement parfumées, petites pentamères, calice campanulé, avec pétales blancs ou blanc verdâtre. Fruits et cosse (gousse) indéhiscente de 3 à 12 cm de diamètre (**Lim, 1978**), dont ces dernières sont glabres, perlées, de couleur brun foncé (**Xirui et al., 2016**).

Le bois est liant compacte d'une couleur jaune pâle d'un tissu uni serré. Le contenu en rutine a diminué à mesure que le bourgeon s'ouvre, aucune rutine n'a été trouvée dans la graine alors qu'elle trouve sa trace dans les feuilles (**Lim, 1978**).

5. Ecologie et conditions de plantation de *Sophora*

Sophora japonica pousse à peu près dans tous les terrains. Germination facile de graines semées au printemps. Le bois du *Sophora* est en forme de parfaites couches annuelles très distinctes par une zone claire, poreuse, toronnée de gros vaisseaux béants; la zone d'automne plus foncée présente dans sa masse des traques plus claires, sinueuses, formées de vaisseaux. Son accroissement est rapide, il se multiplie facilement de drageons et de graines, qu'il faut semer vers la fin d'Avril, en ayant la précaution de ne les couvrir que d'une légère couche de terre. On les dégage de leur enveloppe avant de les semer; cette opération facilite l'éruption du germe, et elles lèvent en plus grande abondance (**Mouillefert, 1892**).

6. Composition biochimique

La composition de la plante *sophora* du Japon comprend différents types de composés phytochimiques, ses principaux constituants chimiques sont les flavonoïdes, les saponines, les acides phénoliques, les acides gras, les tanins et les pigments. Les flavonoïdes comprenant la rutine, la quercétine, le kaempférol et l'isorhamnétine sont les principaux composants (**Fu-sheng et al., 2017**).

La composition chimique des graines de cette espèce est attribuée à un glucoside qui a été retiré de la plante et auquel on donna le nom de sophorine. Ce dernier en présence des acides dilués à l'ébullition, se dédouble en iso-dulcité et en sophorine, substance se rapprochant de la quercétine qui est responsable de la coloration des fleurs (**Dujardin et Egasse, 1889**).

La rutine donne avec les acides les mêmes produits de décomposition que le quercitrin, c'est-à-dire de la quercétine et de l'iso-dulcité, mais les quantités relatives des deux corps ne sont pas les mêmes. La rutine est dérivée de deux molécules de quercétine et de trois

Synthèse bibliographique

molécules d'iso-dulcité, et le quercitrin de deux molécules d'iso-dulcité pour une molécule de quercétine (Frémy *et al.*, 1888).

7. Intérêt et utilisation de *Sophora japonica* L.

L'utilisation ethno-pharmacologique traditionnelle de *Sophora japonica* L. est largement utilisée dans le traitement de nombreuses maladies et affections. Les principaux constituants bioactifs de ces médicaments traditionnels sont les alcaloïdes et autres molécules, qui se sont révélés présenter des activités sédatives, dépressives, analgésiques, hypothermiques, anti-tumorales, antipyrétiques et cardiotoniques (Panthati *et al.*, 2012). Chaque partie d'arbre, en particulier les fruits secs, les fleurs et les bourgeons, a une grande valeur médicinale en médecine indigène (Xirui *et al.*, 2016). Les médecins japonais se servent des racines, des tiges et des feuilles comme un remède astringent et styptique. Les feuilles fraîches mélangées à de la chaux et à de l'huile sont appliquées sous forme d'emplâtre, pour combattre les affections charbonneuses (Bouley, 1882). Les fleurs, sont employées pour teindre le coton et le papier. Les gousses sont aussi utilisées dans la teinture en jaune (Bouley, 1882). En bref, les fruits ont été utilisés comme agent hémostatique pour le traitement de différentes maladies hémorragiques, ainsi que les bourgeons. Il a été démontré que les flavonoïdes isolés de ces derniers sont des effets hémostatiques (Xirui *et al.*, 2016; Panthati *et al.*, 2012). Les feuilles de cet arbre sont utilisées pour arrêter le sang, diminuer la pression artérielle, réduire l'inflammation et utilisées comme succédané du thé (Xirui *et al.*, 2016). Les graines de ces plantes contiennent des phytoconstituants, phospholipides, des alcaloïdes, des acides aminés, des polysaccharides et des acides gras (Panthati *et al.*, 2012). Les racines et les graines étaient couramment utilisées pour le traitement de l'eczéma, de la colite, des infections pharyngolaryngées aiguës (Panthati *et al.*, 2012).

Le bois du *sophora japonica* est recherché en menuiseries en ébénisterie, on en fait des meubles et des manches d'outils, particulièrement pour faire des lattes, des membrures de meubles, des chaises et même du parquet pour les planches très secs (Bouley, 1882; Mouillefert, 1892). Ainsi d'autres vertus pour les racines qui sont traditionnellement utilisés comme insecticide, aussi connu pour éliminer la stase ainsi réduire l'enflure (Xirui *et al.*, 2016). Peut efficacement inhiber la réplication des cellules VIH-1 empêchant ainsi du virus et inactive la transcriptase du VIH-1 (Fu-sheng *et al.*, 2017).

Sophora japonica est aussi utilisée comme un bel arbre, on peut l'employer également pour la décoration des parcs (Mouillefert, 1892).

Synthèse bibliographique

Chapitre II : Les métabolites secondaires

1. Généralités

Les métabolites secondaires sont des composés biosynthétisés naturellement par les végétaux mais qui ne participent pas directement au métabolisme végétal, ne sont présents que de façon accidentelle (**Guillaume *et al.*, 2005**).

Les métabolites secondaires des plantes comprennent une vaste gamme de composés qui à ce jour, totalisent plus de 200 000 structures définies (**Hartmann, 2007**) qu'appartiennent à des groupes chimiques variés (composés phénoliques, terpènes, les alcaloïdes), le niveau d'accumulation peut quelque fois atteindre des valeurs élevées (**Macheix *et al.*, 2005**).

On remarque une difficulté d'attribuer à ces métabolites une fonction précise dans la physiologie même de la plante, et une répartition très inégale selon les végétaux, quelque fois entre des espèces ou variétés à l'intérieur d'une même espèce, une certaine « inertie biochimique » car ces substances sont rarement remobilisées dans la plante après qu'elles y ont été accumulées. Ils ont des structures chimiques souvent complexes, qui représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines de la pharmacologie ou de l'agroalimentaire (**Macheix *et al.*, 2005**).

Le métabolisme secondaire des plantes est lié au métabolisme primaire par cinq voies métaboliques principales : La voie de l'acide shikimique, de l'acide malonique, de l'acide mévalonique, des acides aminés, du glucose 3P via la voie des pentoses phosphate (**Virginie, 1997**).

Les plantes sont riches en une grande variété de métabolites secondaires, tels que les tanins, les terpénoïdes, les alcaloïdes et les flavonoïdes, qui se sont révélés avoir dans propriétés antimicrobiennes *in vitro* (**Vijayakumar *et al.*, 2018**).

2. Les Polyphénols

Les composés phénoliques ou les polyphénols sont des métabolites secondaires largement répartis dans tout le règne végétal (**Ghasemzadeh et Ghasemzadeh, 2011**). Ils sont synthétisés par l'ensemble des végétaux (**Bruneton, 1993**). Le terme « Polyphénols » est fréquemment utilisé pour désigner l'ensemble des composés phénoliques des végétaux (**Macheix *et al.*, 2005**).

Synthèse bibliographique


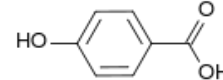
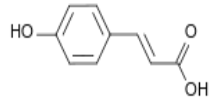
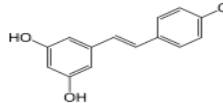
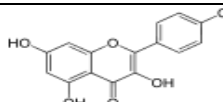
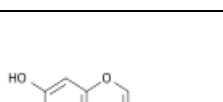
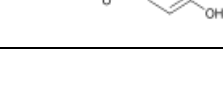
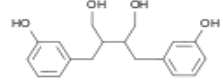
Plus de 8000 structures ont été identifiées allant de simples molécules comme les acides phénoliques (acide gallique) à des substances hautement polymérisées comme les tanins (**Jin et al., 2010**).

Les principaux éléments présents dans les fruits sont les acides-phénols (dérivés de l'acide benzoïque ou cinnamique), les stilbénoides et les flavonoïdes, dont les tanins condensés (**Mehinagic et al., 2011**). La plupart des principales classes de polyphénols végétaux sont répertoriées dans le tableau II, en fonction du nombre d'atomes de carbone du squelette de base (**Urquiaga et al., 2000**). Leurs structures et fonctions sont très diverses. Ils possèdent, au minimum un cycle aromatique portant un à plusieurs groupes hydroxyle (**Mehinagic et al., 2011**). Les composés phénoliques peuvent être classés en plusieurs classes. Parmi ceux-ci, les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tanins sont considérés comme les principaux aliments des composés phénoliques (**Occurrence et al., 2006**).

Le tableau II Regroupe les principales classes des composés phénoliques (**Manchado et Cheynier, 2006**).

Synthèse bibliographique

Tableau II. Les principales classes des composés phénoliques (Manchado et Cheynier, 2006).

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine	Structure
C ₆	Phénols simples	hydroquinone	Busserole	
C ₆ -C ₁	Acides hydroxybenzoïque	B-hydrox benzoïque	Épices, fraises	
C ₆ -C ₃	Acides hydroxycinnamique	Acide caféique Acide férulique	Pomme de terre Pomme	
C ₆ -C ₂ -C ₆	Silenes	trans-resvératrol	Raisin	
C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoïdes	kaempférol quercétine	Fruits, légumes	
	Isoflavonoïdes	daïdzéine	Graines de soja Fleurs, pois	
	Anthocyanes	dalphiniol	<i>Dalbergia sissoo</i> , petits fruits rouges	
(C ₆ -C ₃) ₂	Lignanes	pinorésinol	pin	
(C ₆ -C ₃) _n	Lignines	Vescalagine	Bois, fruits à noyau	
(C ₆ -C ₃ -C ₆) _n	Tanins condensés	aesculitanins	Raisins, kaki	

Synthèse bibliographique

2.1. Localisation des Polyphénols au niveau de la plante

Les composés phénoliques sont des substances toxiques pour la plante. On les retrouve dans des zones où leur accumulation est sans danger pour les cellules végétales qui les produisent. Ils sont sous formes inactive ou conjuguée avec des sucres ou des acides aminés (**Mathilde, 2013**).

A l'échelle de la cellule, les composés phénoliques sont principalement répartis dans deux compartiments : les vacuoles et la paroi. Dans les vacuoles, où sont présentés tous les composés hydrophiles les polyphénols sont conjugués, avec des sucres ou des acides organiques, ce qui permet d'augmenter leur solubilité et de limiter leur toxicité pour la cellule. Au niveau de la paroi, où se retrouvent la lignine et les différentes formes liées aux structures lipidiques (**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 métabolite. D'autres organites du cytoplasme, comme des vésicules golgiennes ou des chloroplastes, peuvent participer à la biosynthèse des composés phénoliques mais ce ne sont pas des lieux d'accumulation (**Macheix *et al.*, 2005**).

Leur localisation à l'échelle de la plante dépend essentiellement de leur fonction. Par exemple, les anthocyanes et les flavonols des feuilles sont répartis plutôt dans les épidermes, du fait de leur rôle de protection contre les UV (**Mathilde, 2013**).

2.2. Biosynthèse des polyphénols

Les composés phénoliques sont issus par deux grandes voies métaboliques

-Voie de l'acide shikimique.

-Voie de l'acétate / malonate

2.2.1. 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 aminés aromatiques. Ce sont des métabolites primaires qui servent de précurseurs pour de nombreux produits naturels tels que les flavonoïdes, les acides phénoliques, les coumarines, et les alcaloïdes (**Ghasemzadeh et Ghasemzadeh, 2011**).

Synthèse bibliographique

Dans cette voie, l'érythrose 4-phosphate et le phosphoénol pyruvate sont respectivement produits par les hydrates de carbones lors de leur dégradation par la voie des pentoses phosphate et la glycolyse ces derniers sont à l'origine des composés phénoliques. Aussi, il est intéressant de préciser que la tyrosine et la phénylalanine dérivent de cette voie métabolique. Ce sont des intermédiaires métaboliques entre l'acide shikimique et l'acide cinnamique (Chaouche, 2014).

2.2.2. Voie de l'acétate / malonate

La glycolyse et la β -oxydation aboutissent à la formation de l'acétyl CoA donnant le malonate. C'est à travers cette voie que s'effectue la cyclisation des chaînes polycétoniques (Figure.3), 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, 2011).

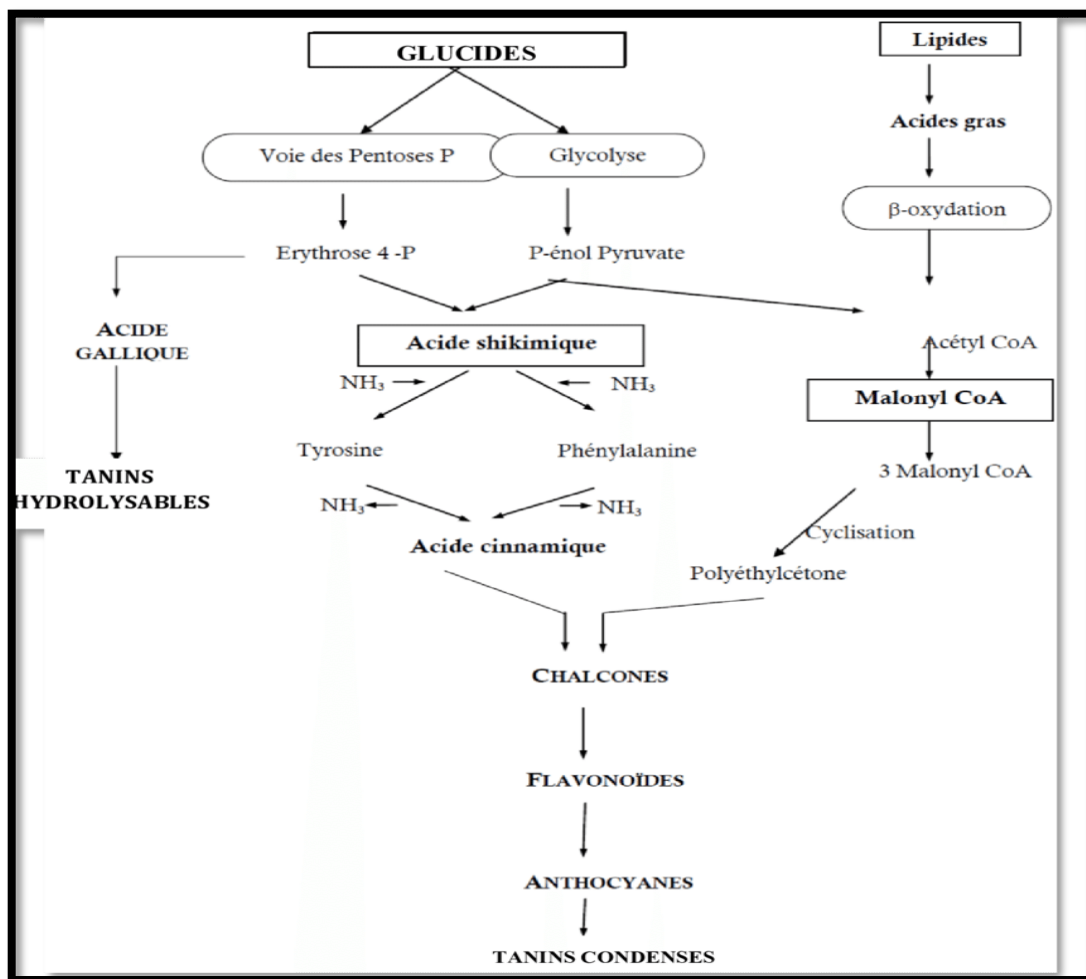


Figure 3. Représentation des voies de biosynthèse des polyphénols (Chaouche, 2014).

Synthèse bibliographique

2.3. Intérêt des polyphénols et leur propriété

Les composés phénoliques peuvent intervenir dans certains aspects de la physiologie de la plante (lignification, régulation de la croissance, interactions moléculaires avec certains microorganismes symbiotiques ou parasites..., et aussi dans les interactions des plantes avec leur environnement biologique et physique (relations avec les bactéries, les champignons, les insectes, résistance aux UV), soit directement dans la nature soit lors de la conservation après récolte de certains végétaux (**Macheix *et al.*, 2005**). Ces composés jouent un rôle dans la protection végétale et leur intérêt comme biopesticides (**Macheix *et al.*, 2005**). Face à différents stress biotiques (agents pathogènes, blessures, symbiose) ou abiotiques (lumière, faible température, carences). Ils contribuent également à l'évaluation sensorielle des aliments issus des végétaux (couleur, astringence, arôme, amertume) (**Bruneton, 1993**).

Dans les variations de certaines caractéristiques des végétaux lors des traitements technologiques (préparation des jus de fruits, des boissons fermentées...), (**Macheix *et al.*, 2005**).

Dans la protection de l'homme vis-à-vis de certaines maladies en raison de leur interaction possible avec de nombreuses enzymes (**Macheix *et al.*, 2005**).

Les effets bénéfiques des polyphénols intéressent particulièrement deux domaines: la phytothérapie et l'hygiène alimentaire. Les industriels commercialisent maintenant des aliments enrichis en polyphénols ou des suppléments alimentaires. De plus, leur activité antioxydante assure une meilleure conservation des denrées alimentaires en empêchant la peroxydation lipidique (**Hennebelle *et al.*, 2004**).

Dans l'industrie cosmétique, les composés phénoliques trouvent leur application pratique en luttant contre la production des radicaux libres néfastes dans la santé et la beauté de la peau (**Hennebelle *et al.*, 2004**).

En phytothérapie, chaque classe chimique semble être utilisée pour des bénéfices spécifiques même si certaines indications sont communes à plusieurs classes (les propriétés vasculoprotectrices, sont par exemple aussi bien attribuées aux flavonoïdes qu'aux anthocyanes) (**Hennebelle *et al.*, 2004**).

Synthèse bibliographique

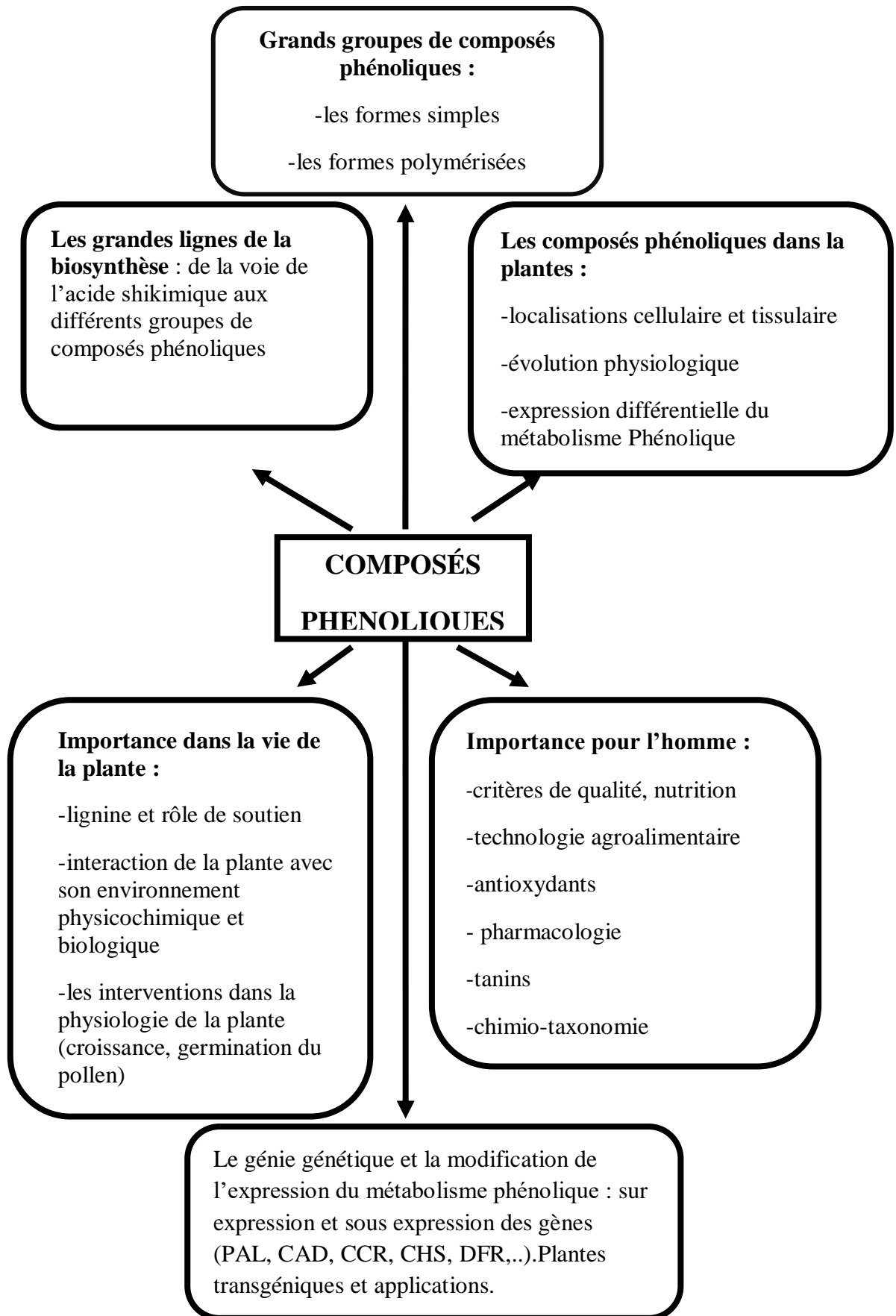


Figure 4. Importance des composés phénoliques dans la vie de la plante (Jean-Jacques, 1996).

3. Les flavonoïdes

Le nom flavonoïde est dérivé du mot « flavus » en latin qui signifie jaune. Constituent le plus grand groupe de classe phénolique de faible poids moléculaire, distribué dans le règne végétal vert (Amalesh *et al.*, 2011). Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux (Ghedira, 2005). Ils sont présentés dans toutes les parties des végétaux supérieurs : racines, tiges, feuilles, fruits, graines, bois, pollens. Ils peuvent aussi être rencontrés dans certains fourrages et boissons (Verhoeyen *et al.*, 2002), telles que le vin rouge, le thé, le café. Plus de 4 000 flavonoïdes ont été identifiés à ce jour (Ghedira, 2005).

3.1. Structure et classification des flavonoïdes

3.1.1. Structure

Les flavonoïdes ont tous la même structure chimique de base, ils possèdent un squelette carboné de quinze atomes de carbones constitué de deux cycles aromatiques (A) et (B) qui sont reliés entre eux par une chaîne en C3 en formant ainsi l'hétérocycle (C). Figure 5 illustre la structure des flavonoïdes est représentée selon le système C6-C3-C6 (Emerenciano *et al.*, 2007).

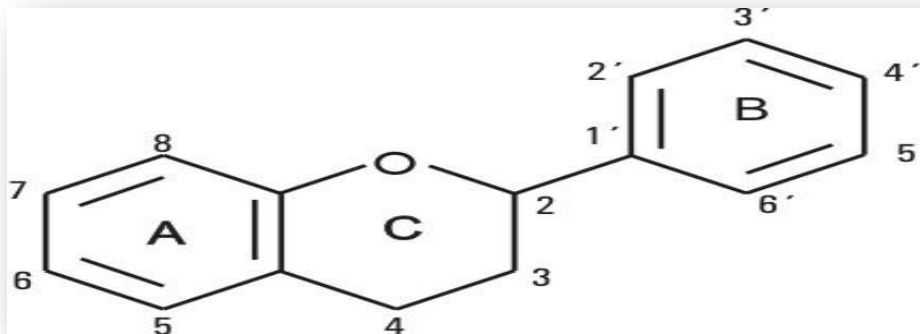


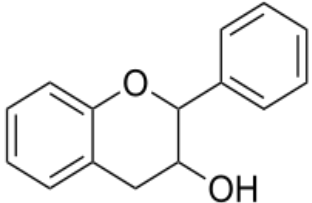
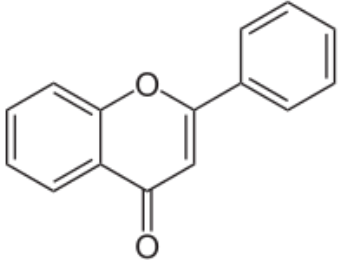
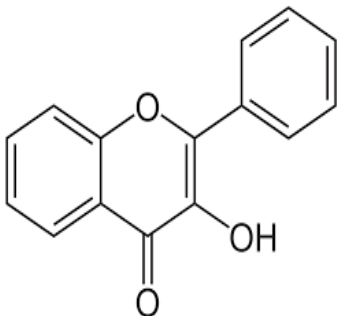
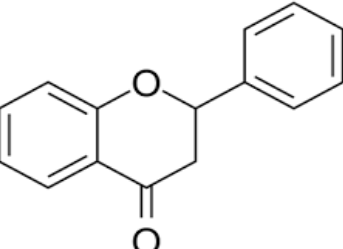
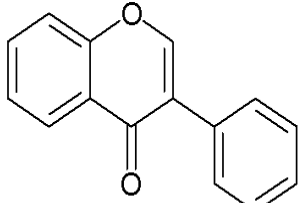
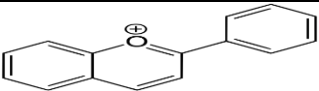
Figure 5. Structure des flavonoïdes selon (Ghedira, 2005)

3.1.2. Classification

Les flavonoïdes sont divisés en plusieurs sous-classes qui se distinguent par une diversité fonctionnelle au niveau des positions 2, 3 et 4 du cycle c. Selon l'état d'oxydation du cycle hétérocyclique, les flavonoïdes sont classés en flavones, flavanonols, flavonols, flavanones ou isoflavones, anthocyanidines (Kelly *et al.*, 2002).

Synthèse bibliographique

Tableau III : Principales classes des flavonoïdes (Heim *et al.*, 2002).

Classe	Structure générale	Flavonoïdes typique	Substituants
Flavanol		(+)-catéchine (-)-épicatéchine Epicatéchine gallate	3,5,7, 3', 4'-OH 3,5,7, 3', 4'-OH 3,5,7, 3', 4',5'-OH,3-gallate
Flavone		chrysin apigenin rutin iuteolin iutrolin glucosides	5,7-OH 5,7, 4'-OH 5,7,3',4'-OH,3-rutino se 5,7, 3', 4'-OH 5,7, 3',-OH, 4'-glucose 5, 4'-OH, 4',7-glucose
Flavonol		kaempférol quercétine myricétine tamarixetin	3,5,7, 4'-OH 3,5,7, 3', 4'-OH 3,5,7, 3', 4', 5'-OH 3,5,7, 3'-OH, 4'-OMe
Flavanone dihydroflavon		naringin naringenin taxifolin eriodictyol hesperidins'	5, 4'-OH,7-rhamnoglucose 5,7, 4'-OH 3,5,7, 3', 4'-OH 5,7, 3', 4'-OH 3,5, 3'-OH, 4'-OMe,7-rutino se
Isoflavone		genistin genistein daidzin daidzein	5, 4'-OH,7-glucose 5,7, 4'-OH 4'-OH,7-glucose 7,4'-OH
Anthocyanidin		Apigenidin cyanidin	5,7,4'-OH 3,5,7,4'-OH,3,5-OMe

Synthèse bibliographique

3.2. Localisation et distribution

Les flavonoïdes sont impliqués dans de nombreuses interactions des plantes avec les conditions biotiques et abiotiques de leurs environnements, ces substances sont accumulées dans différentes parties cellulaires et tissulaires de la plante durant l'organogénèse et sous l'influence de plusieurs facteurs stimulants (**Hutzeln et al., 1998**).

Sur le plan cellulaire, les flavonoïdes sont synthétisés dans les chloroplastes puis migrent et se dissolvent dans les vacuoles. Certaines classes de flavonoïdes sont présentées exclusivement chez certains végétaux, on trouvera par exemple, les flavonoïdes dans les agrumes, les isoflavones dans le soja, les anthocyanes et les flavonols ont eux une large distribution dans les fruits et les légumes, tandis que les chalcones se retrouvent plus fréquemment dans les pétales de fleurs. Ils sont considérés comme des pigments naturels au même titre que les chlorophylles et les caroténoïdes (**Hutzeln et al., 1998**).

3.3. Intérêt et propriétés des flavonoïdes

Chez les plantes, ces composés offrent une protection contre les rayons ultraviolets, les agents pathogènes et les herbivores. Les flavonoïdes protègent les plantes contre différents stress biotiques et abiotiques et agissent comme un filtre UV unique. Ils fonctionnent comme des molécules de signal, allélopathiques composés, phytoalexines, agents détoxifiants, composés défensifs antimicrobiens (**Amalesh et al., 2011**).

Ces composés peuvent empêcher les dommages oxydatifs par différents mécanismes d'actions : soit par capture des radicaux hydroxyles, soit par chélation des métaux (le fer et le cuivre), ou soit l'inhibition des enzymes responsables de la génération des radicaux libres (**Belyagoubi, 2012**).

Ils jouent un rôle très important dans le traitement du diabète (inhibant l'aldose réductase), de la goutte (inhibant la xanthine oxydase), des inflammations, des hépatites, des tumeurs, de l'hypertension (quercétine), des thromboses (flavonols). Mais, on attribue également aux flavonoïdes des propriétés neurosédatives, antispasmodiques, diurétiques, anti-œstrogènes (isoflavones), contre la sénescence cérébrale et ses conséquences telle l'altération de la mémoire et la confusion (**Belyagoubi, 2012**).

4. intérêt biologique des métabolites secondaires

Les fonctions physiologiques précises des métabolites secondaires sont très discutées. Ceux sont des molécules d'intérêt pharmacologique, agronomique et cosmétique. On leur attribue des propriétés d'attraction, de défense contre des agents pathogènes, ou encore contre des facteurs de contrainte liées à leur environnement direct : UV, température. Ces métabolites jouent ainsi un rôle des médiateurs chimiques pour la compréhension des interactions entre les organismes vivants dans les écosystèmes et ils participent à la régulation de la croissance.

Les métabolites secondaires ont été envisagés comme des molécules transductrices de signaux cellulaires. La nature chimique très variée des métabolites secondaires est à l'origine de leurs propriétés odoriférantes ou colorantes, ainsi que de leurs vertus thérapeutiques connues depuis des temps reculés. L'homme les utilise entre autres comme arômes, colorants, additifs alimentaires et comme matières actives dans de nombreux médicaments (**Virginie, 1997**).

5. Principales méthodes d'études des métabolites secondaires

5.1. Procédés d'extraction

L'extraction est une étape très importante dans l'isolement et la récupération des composés phénolique présents dans les matières végétales, elle est influencée par plusieurs facteurs notamment la méthode utilisée et la présence de substances interférentes (**Palash, 2017**).

5.1.1. Infusion

Une infusion est préparée en versant de l'eau bouillante sur une quantité spécifique de matière végétale, en laissant reposer la mixture pendant 10-15 minutes. Ce procédé s'applique aux feuilles, aux fleurs et aux parties aérienne, mais également à certaines parties corticales et aux racines fragmentés (**Sofowera, 2010**).

5.1.2. Décoction

La décoction est une préparation à base d'eau pour extraire les composés actifs des matières végétales médicinales. Dans ce processus, la préparation liquide se fait en faisant bouillir le matériel végétal avec de l'eau chauffée à ébullition pendant une durée de 15 à 30

Synthèse bibliographique

min. Elle s'applique le plus souvent aux parties les plus dures des plantes : graines, écorce, bois, racines (*Sukhdev et al., 2008*).

5.1.3. Macération

La macération est une extraction solide-liquide dans lequel le composé bioactif (soluté) à l'intérieur de la matière végétale est extrait par un solvant spécifique pendant une période de temps bien déterminée. L'efficacité du processus de macération est déterminée par deux facteurs principaux la solubilité et la diffusion (*Cheok et al., 2014*).

La macération est le choix le plus fréquent des chercheurs vu la simplicité de la mise d'un système d'extraction par macération. L'inconvénient de la macération est la longue durée d'extraction réduite toutefois par agitation (*Cheok et al., 2014*).

5.2. Procédés de purification et de caractérisation

5.2.1. Chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince (CCM) constitue une excellente technique moderne d'analyse qualitative. Elle a pour but de séparer les produits d'un mélange et permet d'identifier un composé, vérifier sa pureté ou de suivre l'avancement d'une réaction qui offre également une bonne sélectivité et une grande variété d'interactions possibles à l'aide de deux phases, l'une stationnaire, l'autre mobile (*Grinberg, 1990*).

La chromatographie sur couche mince à l'avantage d'effectuer facilement une séparation en un minimum de temps avec un minimum de produits chimiques (*Grinberg, 1990*).

5.2.2. La chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

La chromatographie liquide à haute performance est une technique analytique de la séparation d'un ou plusieurs composés d'un mélange pour leur identification et leur quantification. Généralement utilisée pour l'estimation d'échantillons pharmaceutiques et biologique. Il s'agit de la technique chromatographique la plus polyvalente, la plus sûre, la plus fiable et la plus rapide pour le contrôle de la qualité des composants médicamenteux (*Malviya et al., 2010*). L'HPLC est une forme de chromatographie sur colonne qui pompe à haute pression un échantillon (analyte) dissous dans un solvant (phase mobile) à travers une

Synthèse bibliographique

colonne avec un matériau de remplissage chromatographique immobilisé (phase stationnaire) **(Petrova et Karin, 2017)**.

5.2.3. Les méthodes spectrophotométriques

La spectrophotométrie est le domaine qui étudie la mesure de l'énergie transportée par les rayonnements électromagnétiques dans le domaine de la lumière visible pour quantifier les groupes carbonyle, hydroxyle, carboxyle et ester dans des échantillons dont la composition est typique d'un aérosol organique atmosphérique oxydé **(Sukon et Paul, 2013)**.

La spectrométrie ou spectroscopie est une méthode d'analyse qualitative et quantitative qui repose sur l'observation et l'interaction entre les radiations et les molécules, cette méthode a l'avantage d'être rapide et de ne nécessiter qu'une très petite quantité de matière à analyser. On distingue plusieurs domaines : la spectroscopie infrarouge (IR), la spectroscopie ultraviolette (UV), la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN) et la spectrométrie de masse (MS) **(Martine et Chantal, 2012)**.

Synthèse bibliographique

Chapitre III : Stress oxydatif et activité antioxydant

1. Stress oxydatif

Les stress oxydatif se définit par l'incapacité de l'organisme à se défendre contre l'agression des espèces réactives de l'oxygène (ERO) à cause de l'existence d'un déséquilibre profond de la balance entre les pro-oxydants (ERO) et les antioxydants (**Halliwell et al., 2004**).

En outre le stress oxydatif est définit comme une rupture de l'équilibre entre les systèmes produisant des radicaux libres et les systèmes permettant leur élimination (la capacité de l'organisme à neutraliser leur action par les systèmes antioxydants) (**Favier, 2003**).

Ce déséquilibre qui est expliqué dans la figure ci-dessous, peut endommager certaines macromolécules (acides nucléiques, lipides et protéines), conduisant à l'apparition des diverses maladies et des dégâts cellulaires et tissulaires souvent irréversibles. (**Kada, 2018 ; Halliwell et al., 2004**).

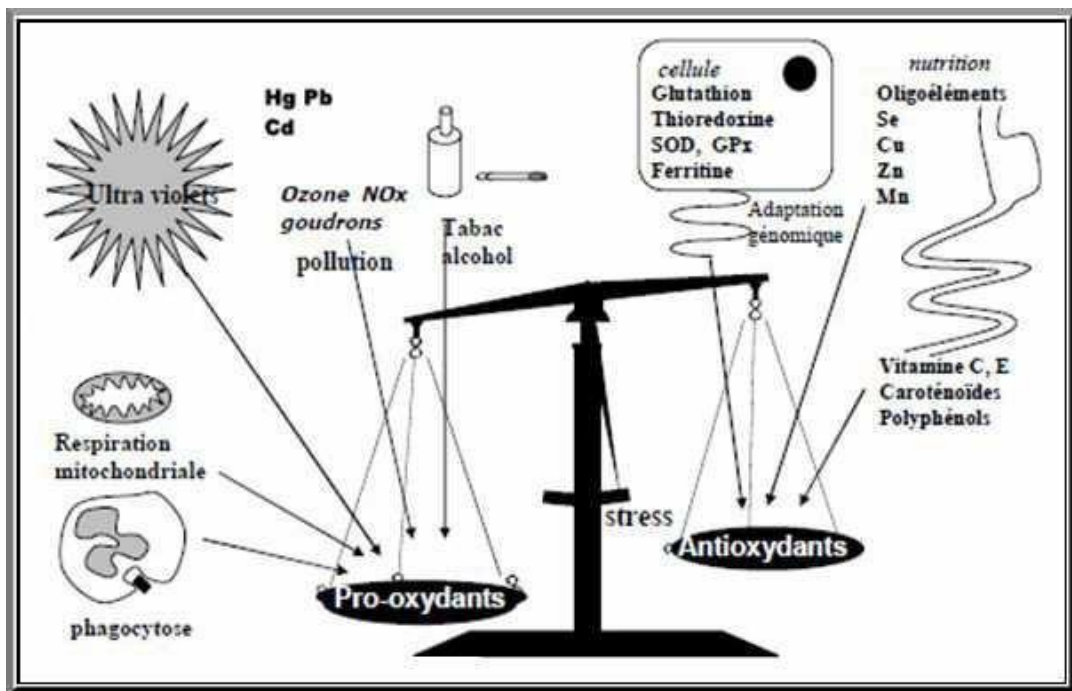


Figure 6. Balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants (**Favier, 2006**).

Synthèse bibliographique

1.1. Origine du stress oxydatif

La rupture de l'équilibre antioxydant-pro oxydant, peut avoir de multiples origines (**Favier, 2003**). En effet, le stress oxydant peut provenir soit :

-D'une production endogène massive des radicaux libres par activation de macrophages, de polynucléaires, des cellules endothéliales et de la mitochondrie, ou par une exposition à des générateurs environnementaux (soleil, radioactivité, pollution atmosphérique, tabac, alcool, médicaments) (**Favier, 2006**).

-D'une défaillance du système antioxydant provoquée, d'une part, par un affaiblissement des défenses enzymatiques dû à une carence en cofacteur oligoélément ou à une anomalie génétique ou acquise touchant leurs gènes correspondants. D'une part, cette déficience antioxydante peut aussi être causée par une carence en molécules non enzymatiques antioxydantes surtout celles apportées par la nutrition (**Favier, 2006**).

Le stress oxydant est impliqué dans le développement de plus de 200 pathologies (**Pincemail et al., 2001**).

1.2. Mécanisme du Stress oxydatif

L'énergie nécessaire au fonctionnement d'une cellule est fournie lors de la respiration cellulaire où l'ATP (adénosine triphosphate), molécule à fort potentiel énergétique, est produite. Au cours de cette respiration cellulaire et plus précisément dans la chaîne respiratoire de la mitochondrie, des réactions d'oxydo-réduction ont lieu, des électrons sont transportés jusqu'à un accepteur final, l'oxygène, qui est réduit en molécule d'eau. Une partie de cet oxygène (1 à 3 %) n'est cependant pas réduite en molécule d'eau mais convertie en Espèces Réactives de l'Oxygène(ERO) ou radicaux libres (**Kovacic et al., 2005**).

Dans des conditions normales, ces radicaux libres sont physiologiquement en équilibre avec des composés antioxydants (**Droge, 2002**). Dans certaines conditions, au cours d'une inflammation ou en réponse à certains facteurs environnementaux comme les irradiations (UV ou rayons X), les carences nutritionnelles (en vitamines et oligo-éléments), le tabac, la pollution ou les intoxications aux métaux lourds (mercure, plomb, cadmium), la production de ces radicaux libres augmente générant un déséquilibre en faveur des entités oxydantes appelé « stress oxydatif » (**Favier, 2003**).

Synthèse bibliographique

1.3. Maladies liées au stress oxydatif

Le stress oxydatif est impliqué dans de très nombreuses pathologies telles que le cancer, sclérose latérale amyotrophique, vieillissement accéléré. Il est un des facteurs de genèse de maladies plurifactorielles telles que la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (**Favier, 1997**).

2. Radicaux libres

Les radicaux libres (RL) sont des espèces chimiques, atomiques ou moléculaires, contenant un ou plusieurs électron(s) libre(s) non apparié(s) sur leurs couches externes. Cet état leur confère une instabilité et une grande réactivité. Ils apparaissent soit au cours de la rupture d'une liaison covalente, pendant laquelle chaque atome conserve son électron, soit au cours d'une réaction redox avec perte ou gain d'un électron avec à partir d'un composé non radical (**Kocchilin-Ramotxo, 2006**).

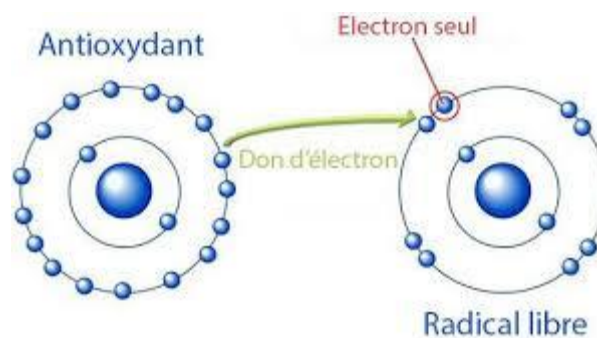


Figure 7. Neutralisation d'un radical libre par un antioxydant.

Ils sont produits naturellement par notre organisme, principalement par nos cellules, lors de la transformation des nutriments en énergie (métabolisme), mais ils peuvent aussi provenir de sources extérieures comme le tabac, l'exposition aux UV, la pollution, le stress, etc. Ces fameux radicaux libres agressent nos cellules en se combinant à elles. A plus grande échelle, ils attaquent notre peau, nos organes et notre ADN et seraient responsables du vieillissement de notre organisme, de l'affaiblissement de notre système immunitaire et d'un certain nombre de maladies graves (**Baudion, 2010**). Les radicaux libres de l'oxygène et leurs précurseurs forment une famille de composés chimiques souvent réactifs appelés espèces réactives de l'oxygène. Les êtres vivants utilisent cette réactivité dans des mécanismes de défense ou de signalisation à l'intérieur ou entre des cellules (**Favier, 2003**).

Synthèse bibliographique

2.1. Sources de production des radicaux libres

Les radicaux libres nocifs sont produits dans l'organisme au cours du métabolisme normal (Figure.8). Cette production augmente en rapport avec l'élévation de la consommation (Belyagoubi, 2012). 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 Il existe 2 sources : endogène et exogène (Favier, 2006).



Figure 8. Sources de production des radicaux libres (Favier, 2006).

2.2. 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.

Synthèse bibliographique

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 (Favier, 2006).

Oxygène	O_2
Oxygène singulet	1O_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}

2.3. Rôle des radicaux libres

Les radicaux libres exercent de nombreuses fonctions essentielles dans l'organisme, ils contrôlent le flux sanguin dans les artères pour lutter contre l'infection. Certains radicaux libres tels que NO^{\bullet} et 1O_2 sont produits en très grandes quantités par les cellules immunitaires pour détruire les virus et les bactéries et tuent les cellules cancéreuses (Sarma *et al.*, 2010).

Les espèces réactives de l'oxygène ont des fonctions biologiques. D'une part, ils préviennent les maladies en aidant le système immunitaire par la médiation de la signalisation cellulaire et en jouant un rôle essentiel dans l'apoptose. D'autre part, ils peuvent endommager des macromolécules importantes dans les cellules (Kada, 2018).

2.4. Inconvénients des radicaux libres

Dans des conditions normales, les radicaux libres sont donc des composés très utiles pour l'organisme mais à fortes doses, paradoxalement, ils causent des dommages cellulaires importants. Leurs cibles principales sont les acides gras polyinsaturés, les acides nucléiques et les protéines.

Synthèse bibliographique

Les acides gras polyinsaturés présents au sein des membranes cellulaires sont particulièrement sensibles au phénomène de dégradation oxydative. En raison de leurs nombreuses doubles liaisons, ils peuvent être dégradés par un mécanisme en chaîne appelé peroxydation lipidique (**Techer, 2013**).

L'ADN les radicaux libres peuvent intervenir de différentes façons sur l'ADN. Ils peuvent modifier les bases, provoquer des coupures de chaîne, etc. Ces altérations du matériel génétique, si elles ne sont réparées, peuvent engendrer la mutagenèse, la carcinogenèse ainsi que le vieillissement (**Favier, 2003**).

Les protéines les radicaux libres peuvent provoquer différents types de dégradation sur une protéine pouvant conduire à la perte de son activité : fragmentation au niveau des liaisons peptidiques, oxydation des chaînes latérales, formation de liaisons intra ou interprotéines (**Valko et al., 2007**).

3. Activité antioxydante

3.1 Définition d'un antioxydant

Un antioxydant est toute molécule endogène ou exogène présente en faible concentration qui est capable de prévenir, de retarder et de réduire l'ampleur de la destruction oxydante des biomolécules et ainsi régule l'équilibre redox cellulaire (**Halliwell, 1994 ; Aruoma, 1996**). En outre sa sert à contrôler le niveau des espèces réactives pour les neutraliser et minimiser les dommages oxydatifs (**Kada, 2018**). Notre organisme est équipé de tout un système complexe de défenses antioxydantes enzymatiques et non enzymatiques, localisé dans les compartiments intra- et extracellulaire (**Berger, 2006**).

3.2. Systèmes de défense antioxydante

3.2.1. Systèmes enzymatique

Ces enzymes sont le principal système de protection car elles détruisent non seulement le H_2O_2 , mais aussi les peroxydes organiques toxiques formés par l'oxydation des acides gras ou du cholestérol. Cependant, d'autres enzymes antioxydantes sont impliquées dans la défense antioxydante de l'organisme (**Favier, 2003**). Les principales enzymes antioxydantes sont le superoxyde dismutases, la catalase, les glutathion peroxydase et réductase.

Synthèse bibliographique

Les superoxydes dismutases (SODs) : sont une classe d'enzymes apparentées qui catalysent la dégradation de l'anion superoxyde en O_2 et H_2O_2 . Les cellules humaines possèdent une enzyme SOD mitochondriale ayant le manganèse dans son site actif (MnSOD) ainsi qu'une enzyme SOD cytosolique et une SOD extracellulaire ayant le cuivre et le zinc (Cu-ZnSOD) comme coenzymes. Due à sa relative stabilité, le H_2O_2 produit par les SODs est régulé enzymatiquement par les catalases et les peroxydases (**Favier, 2003 ; Blokhina et al., 2003**).

Catalase : Cette enzyme est localisée essentiellement dans les peroxysomes. Elle permet de convertir deux molécules de H_2O_2 en H_2O et O_2 (**Valko et al., 2006**).

Glutathion peroxydase : Une enzyme à cofacteur de sélénium se localise dans le cytosol et la matrice mitochondriale. Elle a pour activité la dégradation des peroxydes organiques (ROOH) et du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (**Valko et al., 2006**).

La glutathion réductase (GR) : permet de régénérer le GSH à partir du GSSG en utilisant un cofacteur, le NADPH. Ce cofacteur est oxydé en NADP + puis réduit à son tour par une autre enzyme, le G6PD (glucose-6-phosphate-déshydrogénase) (**Techer, 2013**).

3.2.2. Systèmes non enzymatiques

Cette classe regroupe des composés endogènes de faible poids moléculaire qui peuvent être soit des produits de synthèse (glutathion, histidine dipeptide) ou issus du métabolisme cellulaire (acide urique). Des protéines telles que la ferritine, la ceruloplasmine et l'albumine contribuent à leur tour dans la défense antioxydante secondaire en chélatant les métaux de transition permettant de prévenir la formation du radical hydroxyle (**Martinez-Cayuela, 2005**).

De tous ces composés endogènes synthétisés par les cellules, le plus important est sans doute le glutathion réduit (thiol majeur au niveau intracellulaire). D'autres substances exogènes apportées par l'alimentation, telles que les vitamines, nutriments, composés naturels,...etc. sont considérés comme des antioxydants (**Favier, 2003**).

Les antioxydants non enzymatiques sont apportés par l'alimentation. Ils agissent en piégeant les radicaux libres ou en captant leurs électrons célibataires pour les transformer en molécules ou ions stables (**Techer, 2013**).

Synthèse bibliographique

Le glutathion : Est un tripeptide très abondant dans le cytosol, dans les noyaux et dans les mitochondries, sa forme oxydée est GSSG, glutathion disulfure. Leurs propriétés réductrices et nucléophiles jouent un rôle majeur dans la protection contre les altérations oxydantes des lipides, des protéines et des acides nucléiques. En situation de stress oxydant, son rôle protecteur et détoxifiant réside principalement dans sa fonction de co-substrat des glutathion peroxydases. Mais il fait aussi l'objet d'interactions synergiques avec d'autres composants du système de protection antioxydante tels que la vitamine C, la vitamine E et les superoxydes dismutases (**Gerard-Monnier et Chaudiere, 1996**).

La bilirubine : est un composé non hydrosoluble, elle se lie à l'albumine, ce qui empêche sa pénétration dans des tissus riches en lipides tels que le cerveau. La bilirubine est capable de piéger des radicaux libres (**Neuzil et Roland, 1993**).

Les vitamines : ne sont pas synthétisées par l'organisme, leur présence dans le corps est essentiellement due à l'apport des aliments végétaux (**Techer, 2013**).

La vitamine C (acide ascorbique) : Ses propriétés antioxydantes sont attribuées à sa capacité d'être réduit en radical ascorbyle après la perte d'un électron ou d'un proton. Ce radical peut facilement s'oxyder en captant l'anion superoxyde et certaines espèces radicalaires (perhydroxyles et peroxyles). C'est l'un des principaux antioxydants hydrosolubles présent dans les fluides intra- et extracellulaires. La vit C peut directement réagir avec des espèces réactives de l'oxygène comme HO• ou O₂•. Elle peut recycler l'α tocophérol pour aider à prévenir l'oxydation des lipides (**Valko et al., 2006 ; Vertuani et al., 2004**).

La Vitamine E (acide tocophérol): Elle agit *in vivo* et *in vitro* en neutralisant les radicaux libres, devenant elle-même un radical non toxique. La réduction de la vitamine E oxydée est assurée par la vitamine C. Les concentrations de ces deux vitamines sont donc nécessairement liées pour la protection contre la peroxydation lipidique. La vitamine E est l'antioxydant liposoluble qui a la plus grande concentration molaire cellulaire (**Goudable et Favier, 1997**).

Les caroténoïdes : L'activité antioxydante de ces molécules repose principalement sur la présence de nombreuses doubles liaisons conjuguées au sein de leur structure. Généralement, elles interagissent avec les radicaux libres (**Mortensen et al., 2001**).

Synthèse bibliographique

Les Composés phénoliques : Ces substances sont très utilisées dans la médecine traditionnelle et moderne pour leurs activités antioxydantes, les polyphénols agissent comme des agents réducteurs, donneur d'hydrogène en piégeant les radicaux libres et en chélatant les ions (**Rice-Evans *et al.*, 1996**).

Synthèse bibliographique

Chapitre IV : Généralités sur la cicatrisation

1. La peau

La peau est définie comme étant l'organe de revêtement extérieur du corps de l'homme et des animaux (**Ferraq, 2007**). Son poids totalise environ 15 % du poids total du corps d'un adulte, ce qui lui vaut le titre du plus grand et du plus important organe du corps humain (**Kanitakis, 2002**).

La peau est constituée de trois couches (figure 9): l'épiderme, le derme et selon les auteurs, l'hypoderme. Il s'agit d'une structure hétérogène dans laquelle on retrouve des cellules épithéliales, mais aussi, des cellules conjonctives, musculaires, vasculaires et nerveuses (**Cherif, 2006**).

L'épiderme est la couche la plus superficielle de la peau. Il est constitué d'un épithélium pavimenteux, stratifié et kératinisé (**Ferraq, 2007**).

Le derme, tissu conjonctif de 1 à 2 mm d'épaisseur, en plus de la fonction sensitive, le derme assure la fonction de nutrition grâce à sa vascularisation importante, la fonction de thermorégulation et également un rôle dans la cicatrisation (**Aubert-Viard, 2014**).

L'hypoderme est un tissu adipeux vascularisé, assure un rôle de protection thermique (isolation) et mécanique (amortissement des chocs) (**Aubert-Viard, 2014**).

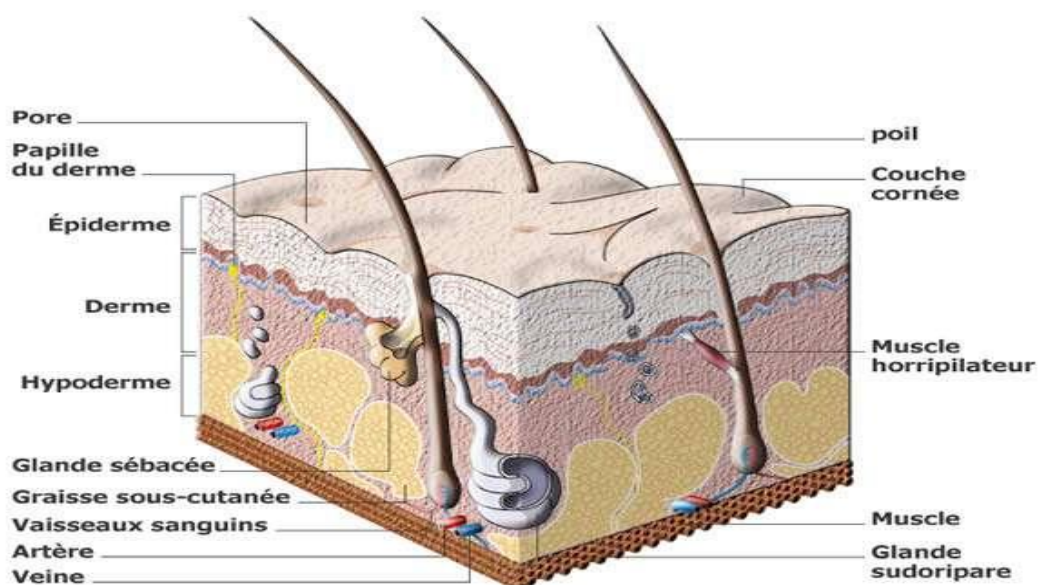


Figure 9. Représentation 3D de la peau humaine avec les annexes (**Ferraq, 2007**).

Synthèse bibliographique

La peau et les épithéliums sont en général les seuls tissus humains capables de se régénérer. Cette régénération est normalement active pour renouveler et maintenir la fonction barrière, ou exceptionnellement active lors de la réparation suite à une lésion ou plaie cutanée (**Ferraq, 2007**). L'épaisseur de la peau varie selon le sexe, l'âge et la région du corps (**Ferraq, 2007**). La peau possède de nombreuses fonctions impliquées principalement dans le maintien de l'homéostasie de l'organisme, et notamment dans la thermorégulation, la défense contre les agressions extérieures et les agents exogènes. Elle joue également un rôle dans les fonctions sensorielles et métaboliques tel que la synthèse de vitamine D (**Ferraq, 2007**).

2. La plaie

Une plaie est définie comme une interruption dans la continuité d'un tissu du corps, une rupture de la barrière cutanée (**Djoko et al., 2019**). Ce qui provoque une perturbation de ses structures cellulaires et anatomiques et affecte sa fonctionnalité (**Elzayat et al., 2018**).

La guérison d'une plaie cutanée est un processus dynamique coordonné qui implique la multiplication cellulaire, la migration cellulaire active et la production de matrice extracellulaire (**Djoko et al., 2019**). Les causes d'apparition des plaies sont de diverses natures telles que les agressions extérieures (éraflures, plaies..), l'apparition spontanée (escarres) ou postopératoire (incisions réalisées au scalpel). En fonction de ces causes, les plaies sont réparties en 4 groupes : les plaies traumatiques, les plaies post-opératoires, les brûlures et les dermabrasions (**Aubert-Viard, 2014**).

Selon l'importance de la blessure, les plaies de la peau sont hiérarchisées en fonction de la profondeur des couches atteintes. Les blessures du 1er degré concernent uniquement l'épiderme. Les blessures du 2ème degré concernent les plaies dont l'épiderme est détruit (superficiel) ainsi qu'une partie du derme sous-jacent (profond). Une dégradation totale de l'épiderme et du derme définit une blessure du 3ème degré (**Aubert-Viard, 2014**).

Les plaies peuvent être classées par plusieurs méthodes; leur localisation, étiologie, présentant des symptômes ou type de blessure, la profondeur de la plaie et la perte de tissu ou l'apparence clinique de la plaie (**Elzayat et al., 2018**).

3. La cicatrisation

Le processus cicatriciel est un phénomène biologique qui est automatiquement et immédiatement mis en œuvre par l'organisme dès qu'il y a un dommage physique de quelque tissu que ce soit à l'exception des cellules nerveuses (**Bensegueni et al., 2007**).

Il existe de nombreux produits cicatrisants dont l'efficacité est largement reconnue mais il ya parfois des échecs thérapeutiques, on évalue les propriétés cicatrisantes sur des plaies d'excision chez les rats (**Bensegueni et al., 2007**).

Lorsqu'une personne est blessée, un ensemble d'événements se produit de façon prévisible pour réparer les dommages. Après une blessure, une réaction inflammatoire se produit et les cellules sous le derme commencent à augmenter la production de collagène (**Shivananda et al., 2007**).

La réparation des lésions est un alignement complexe de différents processus dynamiques, qui ne sont pas encore complètement compris. Ce phénomène naturel inclut plusieurs aspects et événements moléculaire et cellulaire (**Ferraq, 2007**).

3.1. Etapes de la cicatrisation

Comme la plupart des tissus vivants, la peau a besoin d'être vascularisée et renouvelée qui est concernée principalement par l'épiderme constamment (**Aubert-viard, 2014**).

Cette protection peut être endommagée de façon plus ou moins importante, on parle alors de plaie (**Aubert-viard, 2014**). La dégradation plus ou moins sévère de la peau déclenche le processus de cicatrisation (**Aubert-viard, 2014**). La cicatrisation cutanée est un mécanisme complexe qui implique différentes étapes et plusieurs acteurs cellulaires (**Aubert-viard, 2014**).

Le déroulement de la cicatrisation est divisé en trois phases : phase inflammatoire, phase de prolifération (Figure .11), et formation de tissu et enfin la phase de remodelage tissulaire. On peut avoir un chevauchement partiel de ces phases, par exemple la formation tissulaire commence alors que l'inflammation est installée (**Ferraq, 2007**). Lorsqu'elles ne sont ni trop profondes, ni trop étendues, la plupart des plaies ou brûlures cutanées cicatrisent rapidement en quelques semaines (**Ferraq, 2007**).

Synthèse bibliographique

3.1.1. Phase I ou Phase d'inflammation (réponse vasculaire, hémostase) (0 à 3 jours)

La cicatrisation commence par l'apparition de phénomènes inflammatoires précoces (durée de 24 à 48 h) est une phase essentielle de cicatrisation, caractérisée par une réaction vasculaire et cellulaire qui permet d'éliminer les substances étrangères qui pourraient infecter la plaie. Pendant cette étape, il y a formation d'un caillot de sang qui réunit lâchement les bords de la plaie (**Witte et Barbul, 1997**).

Ce caillot est formé lorsque des vaisseaux sanguins sont endommagés. Des plaquettes entrent alors en contact avec le collagène subendothélial, ce qui déclenche la cascade de coagulation. Ces mêmes plaquettes activées relâchent des médiateurs biochimiques qui causent une vasoconstriction afin de réduire la perte sanguine. Le caillot servira de matrice sur laquelle les cellules pourront migrer durant les phases subséquentes (**Witte et Barbul, 1997**).

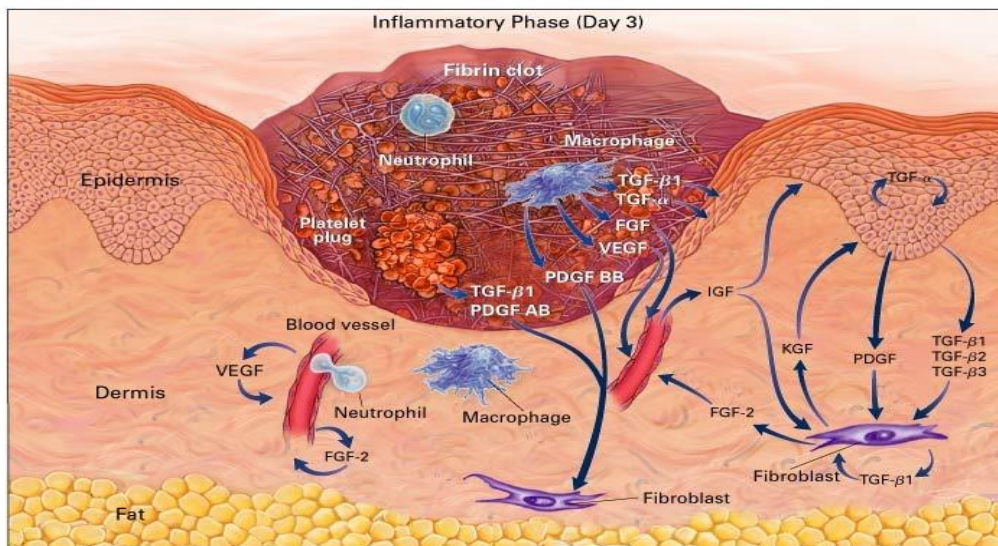


Figure 10. Phase inflammatoire (Singer et Clark, 1999).

3.1.2. La phase II ou Phase proliférative (inflammation, prolifération cellulaire) (3 à 12 jours)

Les cellules épithéliales situées sur le bord de la peau commencent à proliférer et à envoyer des projections afin de rétablir une barrière protectrice contre les pertes de liquide et les invasions bactériennes. Les stimuli pour la prolifération épithéliale et la chimiotaxie sont EGF (Epidermal growth factor) et TGF-alfa (Transforming growth factor) produites par les plaquettes et les macrophages (**Broughton et al., 2006**).

Synthèse bibliographique

À leur tour, les fibroblastes synthétisent et sécrètent les facteurs de croissance des kératinocytes (KGF) -1, KGF-2 et IL-6 (Interleukine) (figure 11), qui simulent la migration de ces cellules voisines dans la zone de la plaie, leur prolifération et leur différenciation s'effectue au niveau de l'épiderme (**Broughton *et al.*, 2006**).

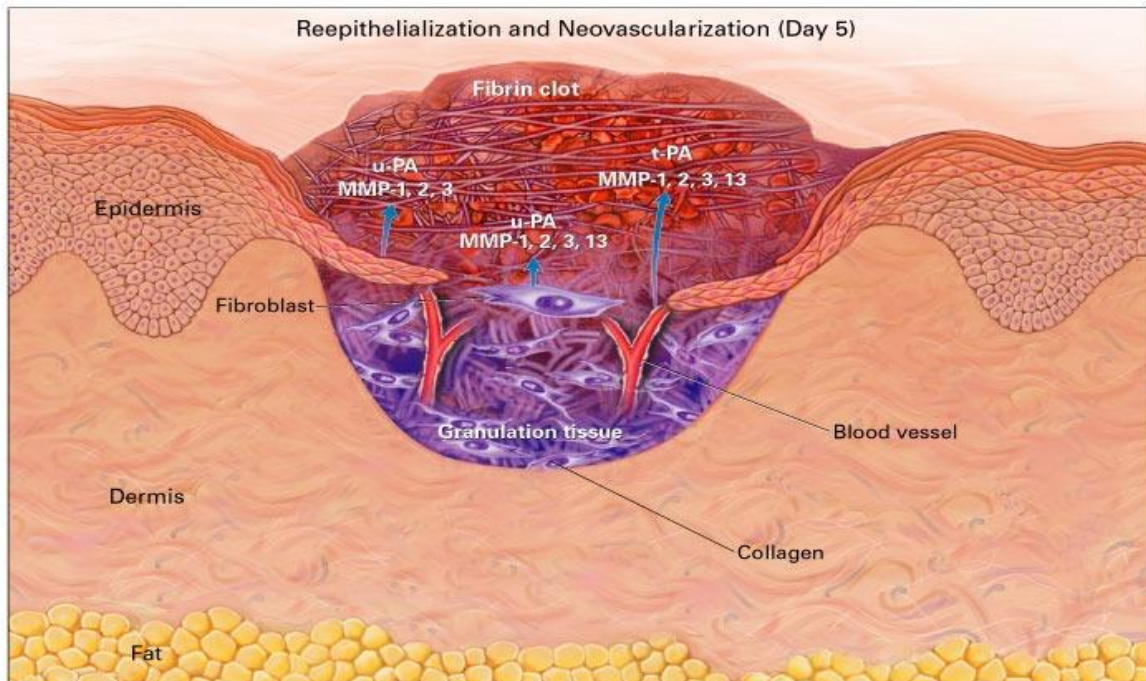


Figure 11. Phase proliférative (**Singer et Clark, 1999**).

3.1.3. La phase III ou Phase de remodelage (épidémisation, contraction) (3 à 6 mois)

Après la réparation de toutes les couches cutanées, la cicatrice continue d'être remodelée pour augmenter sa résistance et ses qualités au cours du processus de maturation. Ce dernier est dominé par le remodelage du tissu conjonctif néoformé associé à des modifications touchant l'épiderme et les annexes épidermiques avec restauration de la vascularisation et de l'innervation (**Cherif, 2016**).

Une accumulation continue de collagène et une prolifération de fibroblastes. Il y a une réduction marquée de l'infiltration de leucocytes et de l'œdème. La phase implique la synthèse de fibres de collagène, entraînant une augmentation de la résistance à la traction de la peau (**Elzayat *et al.*, 2018**).

3.2. Les types de cicatrisation

3.2.1. La cicatrisation normale

Les tissus humains et animaux sont capables de réparer des lésions localisées par des processus de réparation et de régénération qui leurs sont propres (**Ferraq, 2007**).

3.2.2. La cicatrisation pathologique

Le déroulement anormal des mécanismes de la cicatrisation, peut conduire à des cicatrices pathologiques qui se présentant sous différentes formes, résultent respectivement d'un retard, d'une altération et d'un excès de ce processus de cicatrisation (**Ferraq, 2007**).

3.3. Problèmes de cicatrisation

La cicatrisation peut être parfois retardée pour diverses raisons. Ce retard peut dépendre de l'état de santé de la personne et de l'état de la plaie (**Aubert-viard, 2014**).

Dans le premier cas, ce retard peut être dû à une pathologie associée, de l'état général du patient (diabétique, immunodéprimé, dénutrition,...), de son âge ou de son sexe. Le retard dans la cicatrisation peut également intervenir en fonction de la profondeur, de la surface et de la localisation de la plaie (**Aubert-viard, 2014**).

La cicatrisation spontanée dans ce cas, peut ne plus suffire pour permettre une guérison convenable de la plaie. Un traitement adapté en fonction de la catégorie et du degré de la plaie sera donc nécessaire (**Aubert-viard, 2014**).

Partie II

Etude Expérimentale



Etude expérimentale

Ce présent travail a pour objectif de réaliser une étude phytochimique et d'évaluer l'activité antioxydante et cicatrisante de l'extrait polyphénolique des gousses de *Sophora japonica* L.

1. Matériel

1.1. Matériel biologique

1.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans notre travail est composé 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 et très fréquente afin de compléter les données sur les propriétés pharmaceutiques de cette plante.

• Récolte

La récolte de la plante médicinale *Sophora japonica* L. a eu lieu au début du mois de Mars 2020. Cette collecte a été faite au niveau de la région centre de la wilaya de Boumerdes.



Figure 12. Gousses de la plante *Sophora japonica* L. (Sadoudi et Bournissa, 2020).

Etude expérimentale

• Séchage

La matière végétale est séchée pendant quinze jours à l'air 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 peut 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 fin 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 fermé (Figure .13).



Figure 13. Poudre végétale de la plante *Sophora japonica* L. (Sadoudi et Bournissa, 2020).

1.1.2. Matériel animal

Le matériel animal est constitué de 20 rats mâles de race Wistar, ayant un poids allant de 210 et 270 g, procurées auprès de l'Institut Pasteur d'Alger. Les animaux sont placés dans des cages recouvertes d'une grille en acier inoxydable avec une couche de sciure déposée au fond. Les animaux ont accès libre à l'eau et à l'alimentation avec un cycle normal de lumière et d'obscurité.

Etude expérimentale



Figure14. Photo du rat Albino Wistar.

1.2. 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 ousou. 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 15. Carte géographique de la région de Boumerdes indiquant la zone de récolte.

Etude expérimentale

2. Méthodes d'étude

Le présent travail appartient aux données bibliographiques, vue la pandémie du COVID 19 qui nous à empêchées de la faire. Plusieurs méthodes sont utilisées pour extraire, caractériser et tester l'activité antioxydante et cicatrisante des substances bioactives de la plante *sophora japonica* L. Les différentes étapes de ce travail sont résumées dans la figure 16.

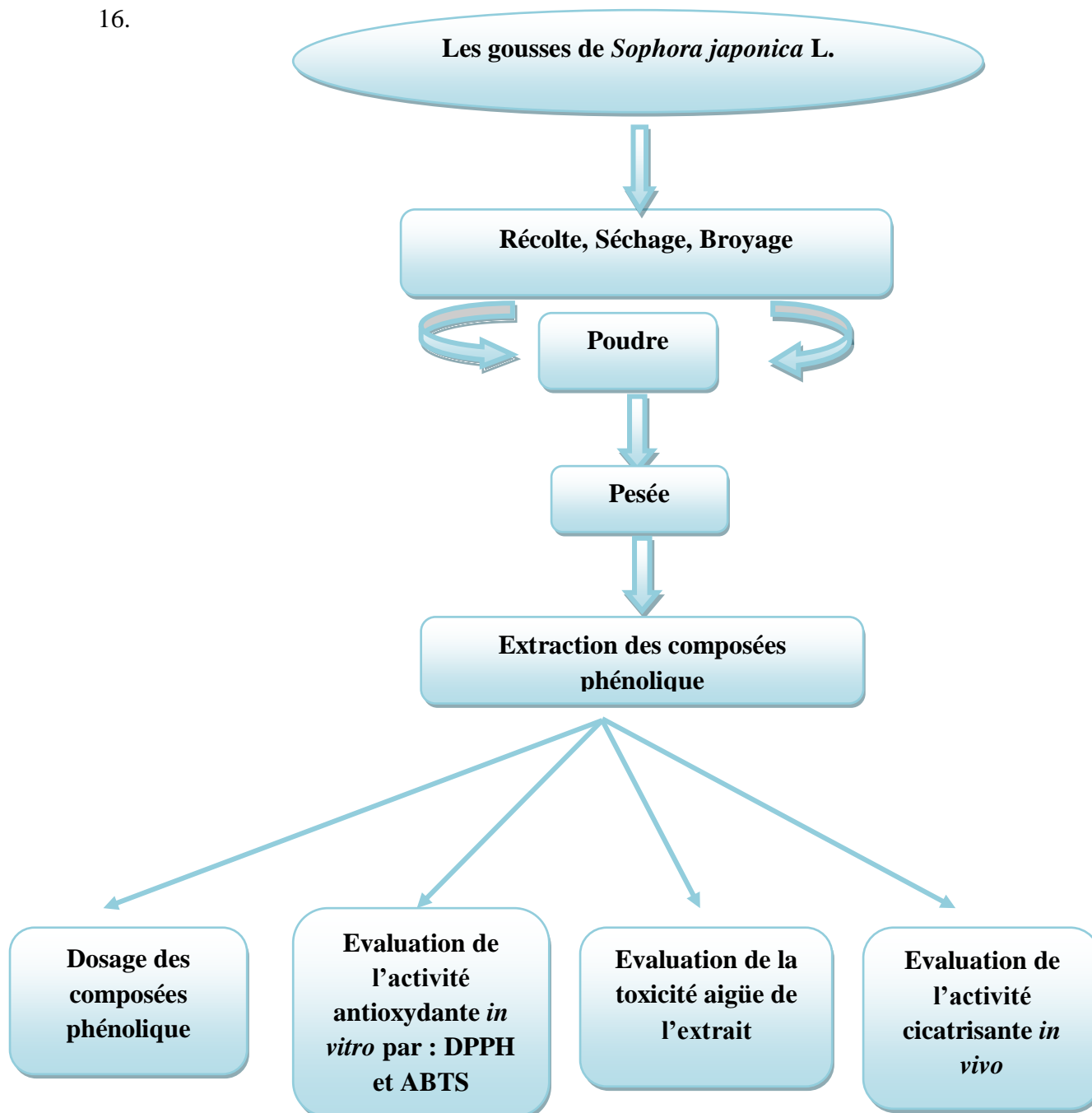


Figure 16. Schéma illustrant la démarche expérimentale suivie dans cette étude.

Etude expérimentale

2.1. Procédure d'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. Les différentes étapes sont résumées dans la figure 18.



Figure 17. Evaporateur rotatif.

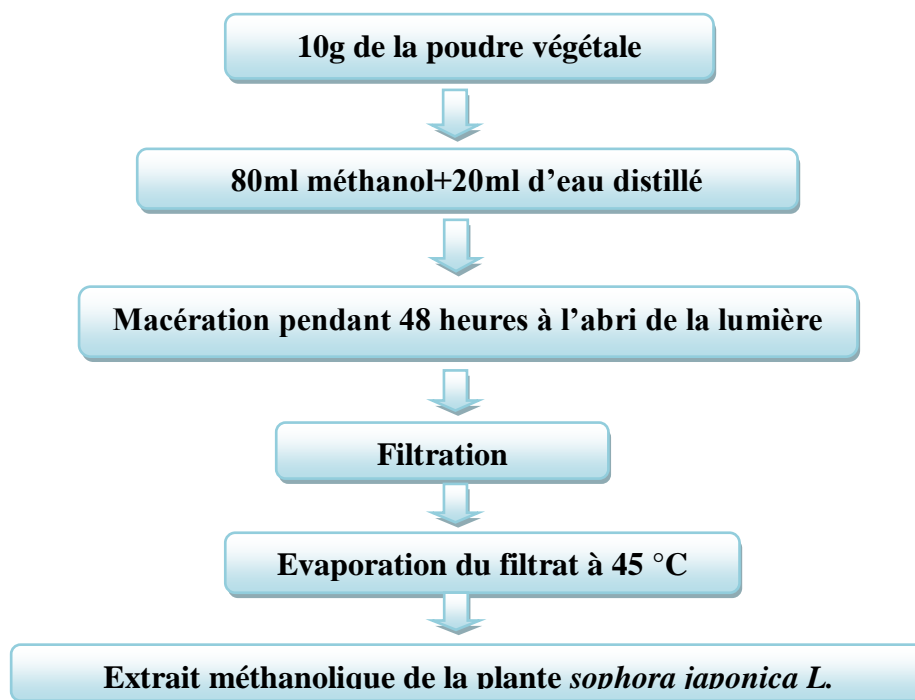


Figure 18. Protocole d'extraction.

Etude expérimentale

2.1.1. Détermination du rendement de l'extrait

Le rendement de l'extraction est calculé en pourcentage du rapport de la masse de l'extrait obtenu sur la masse totale de la poudre végétale utilisée dans l'extraction (**Mahmoudi et al., 2012**). La formule de calcul est la suivante:

$$R\% = \frac{(M-M_0)}{M_T} \times 100$$

Tel que :

R%: Rendement de la matière extraite ;

M: Masse du ballon contenant l'extrait ;

M₀: masse du ballon vide ;

M_T: masse végétale totale utilisée dans l'extraction.

2.1.2. Dosage des composés phénoliques

2.1.2.1. Principe

Les polyphénols sont déterminés par spectrométrie selon la méthode de Folin-Ciocalteu (**Singleton et al., 1999**).

Ce réactif de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H₃ PW₁₂ O₄₀) et l'acide phosphomolybdique (H₃ PMo₈ O₄₀). Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif Folin-Ciocalteu en un complexe ayant une couleur constituée d'oxyde de tungstène (W₈ O₂₃) et de molybdène (Mo₈ O₂₃), l'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés, en présence de ces composés en donnant une coloration bleue dont l'intensité est estimée par spectrophotomètre à une longueur d'onde de 765 nm (**Biozot et Charpentier, 2006**).

2.1.2.2. 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.

Etude expérimentale

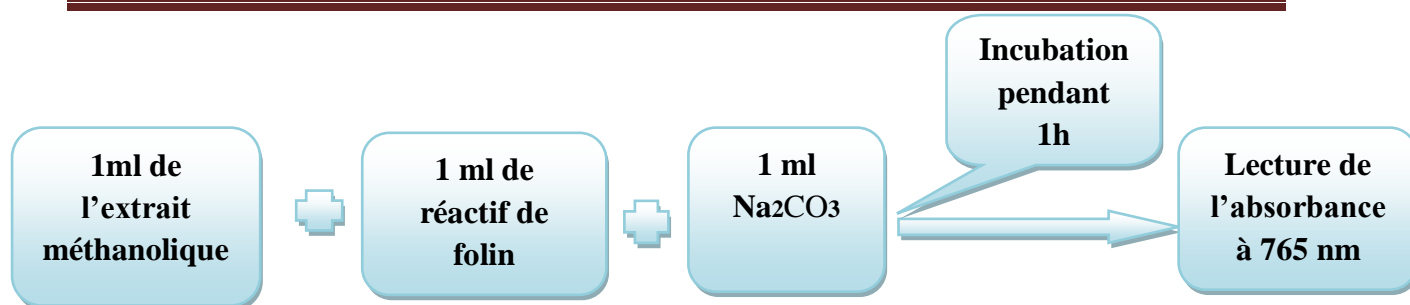


Figure 19. Protocole récapitulant le dosage des polyphénols.

2.1.3. Dosage des flavonoïdes

2.1.3.1. Principe

Le dosage des flavonoïdes est réalisé selon la méthode décrite par (Kosalec *et al.*, 2004). C'est une méthode spectrophotométrique utilisant le trichlorure d'aluminium (AlCl₃) qu'a été adoptée pour quantifier les flavonoïdes dans l'extrait de la poudre végétal. Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec les flavonoïdes absorbé dans le visible à 415nm. Le diagramme ci-dessous montre les différentes étapes respectées pour doser les flavonoïdes (Kosalec *et al.*, 2004).

2.2.3.2. 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).

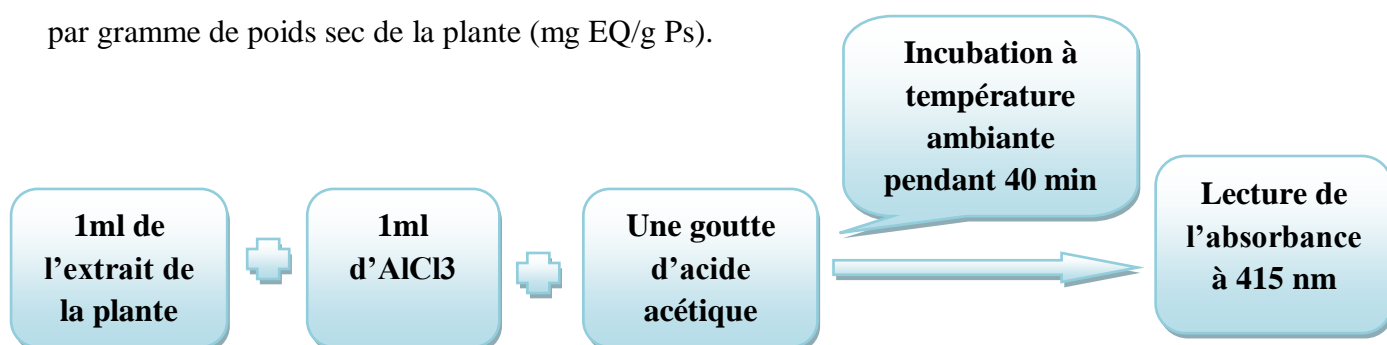


Figure 20. Protocole récapitulation le dosage des flavonoïdes.

Etude expérimentale

2.1.4. Caractérisation chromatographique par CCM et HPLC

2.1.4.1. Chromatographie sur couche mince

2.1.4.1.1. Principe

La chromatographie sur couche mince (CCM) est une technique analytique rapide, simple et peu coûteuse. Elle repose principalement sur des phénomènes d'adsorption qui constituent deux phases, une phase stationnaire ou fixe et une phase mobile (**Lavallaz et Déléroz, 1994**).

Elle se base sur la séparation des différents constituants d'un extrait selon leur force de migration dans la phase mobile qui est en générale un mélange de solvant ; adapté au type de séparation recherché et leur affinité vis-à-vis de la phase stationnaire qui peut être gel de polyamide ou gel de silice. Il y a donc une distribution ou partition des composants du mélange plus ou moins rapide entre ces deux phases.

2.1.4.1.2. Mode opératoire

A/ préparation de la phase stationnaire

Les analyses ont été effectuées sur une plaque ; prête à l'emploi ; en gel de silice de type G60 fixée sur une plaque en verre avec les dimensions 20×20cm.

B/ Préparation de la phase mobile

Le solvant de migration (la phase mobile) utilisé dans cette identification est composé d'un mélange de Chloroforme (CHCl₃) – méthanol (CH₃OH) - ammoniac (NH₄OH) avec les proportions suivantes : (85 :14 :1) V/V/V.

C/ le dépôt

Les échantillons à séparer sont solubilisés dans un minimum de méthanol. Puis ils sont déposés sur la plaque à l'aide d'une micropipette d'une façon perpendiculaire et linéaire sous forme de traits.

Etude expérimentale

D/ Développement de la plaque

La plaque est déposée dans une cuve de chromatographie dont l'atmosphère est saturée préalablement pendant 2 heures par la présence de l'éluant (système solvant). La chromatographie est arrêtée lorsque le front du solvant est distant de 1 à 2 cm du bord supérieur des plaques. Celle-ci est séchée à l'aide d'un séchoir après migration.

E/ Révélation

Révélation par des méthodes chimiques : ces méthodes consistent à mettre en contact de la plaque, un réactif plus ou moins spécifique qui donne un produit coloré par réaction chimique avec les substances à révéler.

F/ Le calcul du rapport frontal

Le rapport frontal (Rf) est déterminé pour chaque constituant par la formule mentionnée par **Denny, (1982)** comme suit:

$$R_f = d/D$$

Tel que :

d : Distance parcourue par le constituant ;

D : Distance parcourue par le front de l'éluant ;

Le Rf est caractéristique d'une substance donnée pour un éluant déterminé sur un support « phase stationnaire » donné. Il ne dépend pas de la concentration du constituant dans le mélange (**Lagnika, 2005**).

Etude expérimentale

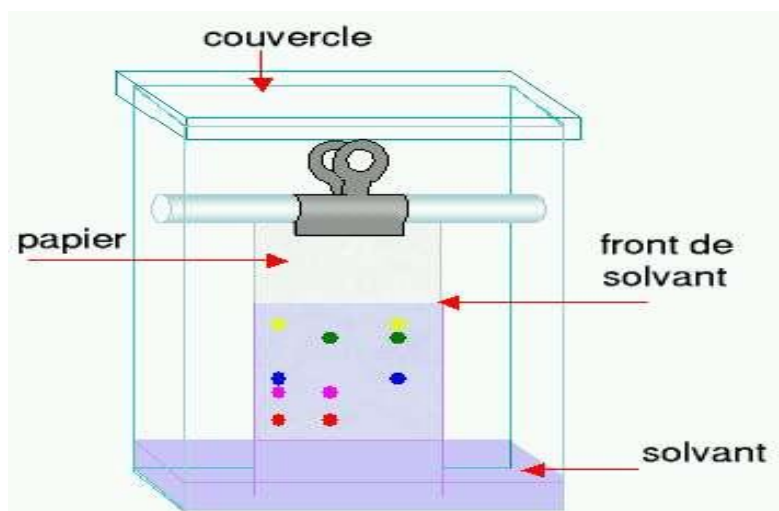


Figure 21. Schéma de CCM (Gobbi et Khebbaz, 2014).

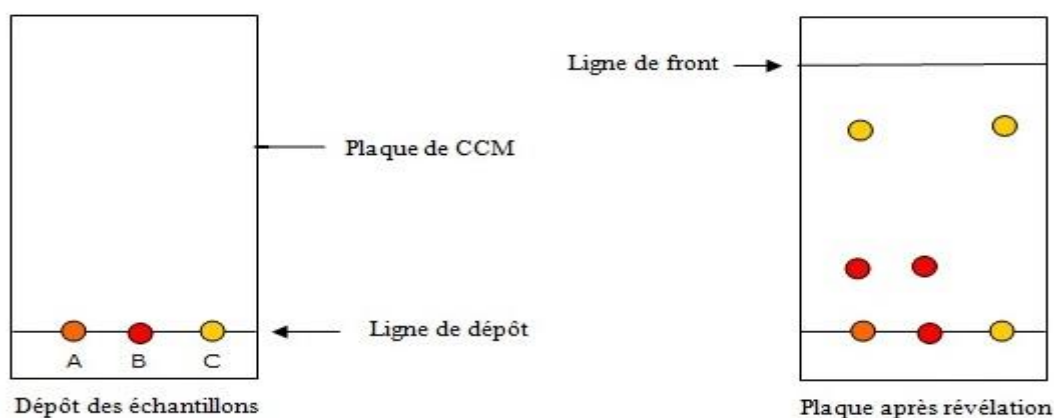


Figure 22. Schéma de préparation de plaque et dépôt des échantillons (Gobbi et Khebbaz, 2014).

2.1.4.2. Chromatographie par HPLC

2.1.4.2.1. Principe

Les séparations sont basées sur les polarités respectives des phases stationnaires utilisées, du solvant d'éluion et des composés phénoliques concernés. Le degré initial de purification de l'extrait végétal, les conditions chromatographiques elles-mêmes et le type de détection utilisé en sortie de la colonne orientent fréquemment une analyse CLHP vers une classe de composés phénoliques (acides phénoliques, flavonols, anthocyanes, coumarines...) (Ghnimi *et al.*, 2014).

Etude expérimentale

La chromatographie liquide à haute performance consiste à exploiter les interactions des solutés avec deux phases l'une mobile et l'autre stationnaire sous haute pression. Les solutés sont séparés en fonction de plusieurs paramètres tels que l'affinité du soluté dans l'éluant, la polarité ou la charge électrique. Après leur séparation, les solutés sont identifiés et dosés à l'aide d'un détecteur couplé à la colonne chromatographique. Le mode de fonctionnement de la HPLC est largement décrit. Ainsi, à un instant donné, le mélange à séparer est injecté à l'entrée de la colonne, et se trouve entraîné par la phase mobile. Les constituants du mélange sont ensuite recueillis et identifiés en fonction de leurs vitesses d'adsorption et de désorption. La chromatographie aboutit à un tracé représentatif de constituant (pic) en fonction de leur temps de rétention à la sortie de la colonne : c'est un chromatogramme (**Panaiva, 2006**).

Selon (**Panaiva, 2006**), la HPLC est composée des éléments suivants :

-La colonne : généralement c'est un tube en acier de 5 à 15 cm de longueur et de diamètre de 5 mm qui contient une phase stationnaire. Il existe plusieurs types de phases stationnaires parmi les quelles on trouve principalement.

- Les silices non greffées, Les silices greffées par des groupements polaires, Les silices greffées par des groupements apolaires (chaines carbonées linaires plus ou moins longues), (pour les quelles l'éluant utilisé est polaire).

-Injecteur : il est constitué d'une vanne haute pression appelé vanne rhéodyne et d'une boucle d'échantillonnage d'une capacité comprise entre 10 et 50 μ l.

-La pompe : elle permet d'introduire la phase mobile dans l'appareil sous un débit constant et à forte pression.

-Détecteur : il existe plusieurs types de détecteurs. Parmi les quels, des détecteurs à absorptiomètre dans l'UV-Visible, des réfractomètres différentiels ou des détecteurs électrochimiques.

Etude expérimentale

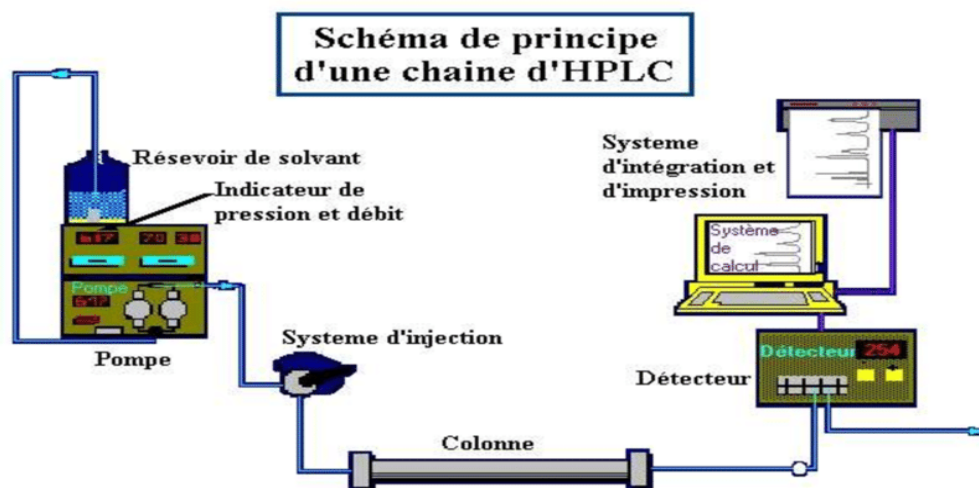


Figure 23. Schéma de principe du fonctionnement de l'HPLC.

2.1.4.2.2. Mode opératoire

La chromatographie liquide à haute performance (HPLC) est effectuée à l'aide d'un chromatographe liquide Agilent 1100. La phase stationnaire utilisée est l'Hypersil BDS-C18 (5 μm , 250 \times 4,6 mm) thermostaté à 30 ° C.

La phase mobile se compose de: eau acidifiée avec de l'acide acétique (à pH 3,1) et de l'acétonitrile. Le débit de la pompe est réglé à 1 ml / min tout au long de l'analyse. Un échantillonneur automatique à température contrôlée (échantillonneur automatique AS 100) est utilisé. Les données obtenues sont traitées par le logiciel UV Chromera Flexar pour l'analyse et l'intégration des pics. Les flavonoïdes sont identifiés en comparant leurs temps de rétention par rapport aux flavonoïdes correspondants, quercétine, rutine, lutéoline glucuronide, apigénine glucuronide, lutéoline acétyl glucuronide, hispiduline glucuronide.

2.2. Evaluation de l'activité antioxydante

Le pouvoir antioxydant ne peut être mesuré qu'indirectement à partir de ses effets. La plupart des méthodes de mesure de l'activité antioxydante sont basées sur l'utilisation de systèmes générant des radicaux très variés. Compte tenu de la complexité des processus d'oxydation, il n'existe pas de méthode unique qui permettrait de refléter le profil antioxydant d'un échantillon. C'est pourquoi, on effectue différents tests de mesure de pouvoir antioxydant par le DPPH et la réduction du radical-cation ABTS.

Etude expérimentale

2.2.1. Pouvoir anti radicalaire par la méthode du DPPH

2.2.1.1. Principe

Le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle), généralement le substrat le plus utilisé pour l'évaluation de l'activité antioxydante, est un radical stable qui absorbe dans le visible à une longueur d'onde de 515 à 520 nm (Bozin *et al.*, 2008).

La méthode au DPPH présente plusieurs avantages du fait qu'elle soit indépendante, simple et rapide. Dans ce test les antioxydants réduisent le DPPH (diphénylpicrylhydrazyle) ayant une couleur violette en un composé jaune, le DPPH-H (diphénylpicryl-hydrazine) (Figure 24), dont l'intensité de la coloration est inversement proportionnelle à la concentration des antioxydants présents dans le milieu.



1,1-diphényl 2-picrylhydrazyl (violet)

1,1-diphényl 2-picrylhydrazine (jaune)

Figure 24. Forme libre et réduite du DPPH (Pereira *et al.*, 2012).

2.2.1.2. 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.

Etude expérimentale

L'activité anti-radicalaire ou le pouvoir antioxydant est estimée selon l'équation ci-dessous :

$$A\% = \frac{A_0 - A_T}{A_0} \times 100$$

Tel que :

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

A 0 : Absorbance du control négatif (DPPH dans le méthanol) ;

A T : Absorbance de l'échantillon ;

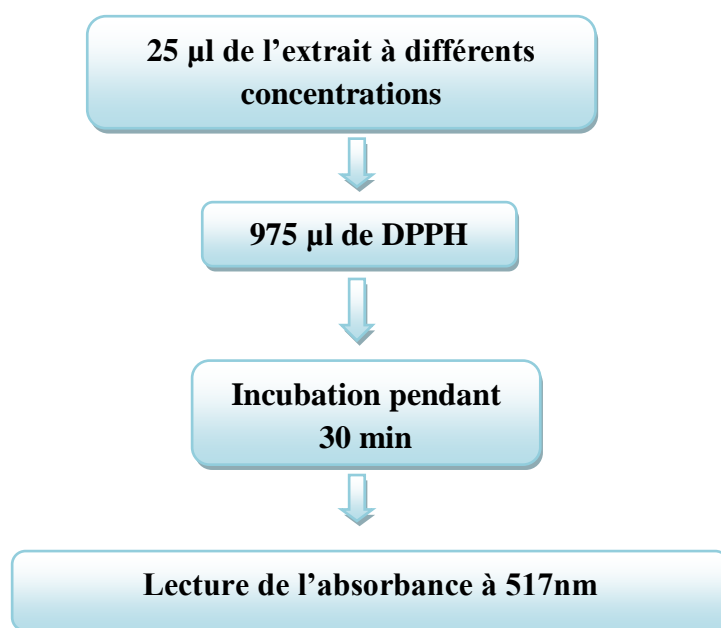


Figure 25. Protocole de test DPPH

2.2.2. Evaluation de l'activité antioxydante par la méthode d'ABTS

2.2.2.1. Principe

La méthode de radicale ABTS est l'un des tests les plus utilisés pour la détermination de la concentration des radicaux libres.

Ce test est basé sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique ABTS●+ (sel d'ammonium de l'acide 2, 2'- azino bis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) de coloration bleu verdâtre .L'obtention du radical cation résulte du contact de l'ABTS avec une enzyme de peroxydation (peroxydase metmyoglobine) ou (horseradishperoxydase) en présence de H₂O₂ ou d'un oxydant (dioxyde de manganèse) ou persulfate de potassium; Le

Etude expérimentale

radical ABTS•+, en contact avec un donneur de H• conduit à l'ABTS+ et à la décoloration à 734 nm de la solution (Miller *et al.*, 1997; Lien *et al.*, 1999 ; Benavente *et al.*, 2000).

2.2.2.2. 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 50µl 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;

2.3. Evaluation de la toxicité aigüe de l'extrait végétal

La toxicité aigüe de l'extrait de *sophora japonica* L. est estimée en utilisant la méthode décrite par (Tahraoui *et al.*, 2010). Cette méthode consiste à répartir les 15 rats en 5 lots contenant 3 individu chacun. L'un des lots servant de contrôle reçoit la solution physiologique, alors que les quatre lots sont traités chacun par une dose unique de l'extrait de *sophora japonica* L. l'administration a été effectuée par gavage orale aux doses suivantes (250, 500, 1000, 2000 mg/kg). Après l'administration de l'extrait les animaux ainsi traités sont soumis à une observation continue durant 7 jours en vue de relever le nombre de morts et les signes cliniques observés pour chaque lot et en notant les profils suivants :

1- Le profil comportemental (la vigilance, l'agitation, l'irritabilité) ;

2- Le profil autonome (défécation et miction) ;

3- La létalité ;

Etude expérimentale

2.4. Effet cicatrisant de l'extrait polyphénolique

Malgré l'existence d'une multitude de produits cicatrisants dont l'efficacité est établie, il n'en demeure pas moins que de nombreux auteurs testent l'activité cicatrisante de nouveaux produits conventionnels qu'ils soient d'un usage large ou réduit, le plus souvent choisis dans les patrimoines éthno-pharmaceutiques (**Bensegueni et al., 2007**). De nombreuses plantes ont révélé posséder un potentiel thérapeutique en tant que promoteurs de cicatrisation des plaies. Et on va essayer de démontrer la capacité cicatrisante de la plante *Sophora japonica* L.

2.4.1. Préparation de la crème de *Sophora japonica* L. en suivant la méthode traditionnelle

30 g de la poudre végétale de la plante *S. japonica* sont mélangés à 150 ml d'eau distillée et chauffés à reflux pendant 2h. Le contenu est solide (formation d'une crème).

2.4.2. Evaluation de la cicatrisation de l'extrait végétal

Trois lots de 5 rats chacun placés dans des cages individuelles sont utilisés. Deux cercles sur chacun ont été épilés avec un rasoir. Les animaux ont été observés de près pour toute infection, ceux qui montraient des signes d'infection ont été séparés et exclus de l'étude. Après avoir pesé les rats, les deux zones ont été anesthésiées localement par l'éther de pétrole (**Ambiga et al., 2007**).

Une plaie d'incision circulaire de 2 cm de diamètre était faite à l'aide d'une lame stérile à partir du secteur rasé, dans la région dorso-omoplate de chaque rat anesthésié à l'éther. Sans atteindre le derme. Les animaux sont ensuite placés dans des cages individuelles avec des litières propres. Les plaies ainsi réalisées sont traitées par application topique directe, avec la solution de NaCl 0,9 % à 10 ml/kg, de madécassol en pommade et de l'extrait de *S. japonica* à 200 mg/kg. Le traitement et les mesures du diamètre des plaies ont été faits tous les 02 jours pendant 28 jours à l'aide d'une règle graduée. Tous les animaux ont été suivis régulièrement jusqu'à la cicatrisation complète des plaies et ont eu accès à la nourriture et à l'eau à volonté. Les plaies des animaux étaient désinfectées tous les jours durant la période de l'expérimentation avec de l'alcool à 95°. On note par la suite que le diamètre des plaies se réduit considérablement au fil des jours jusqu'à ce que la plaie se cicatrise complètement. (Figure.28).

Etude expérimentale



Figure 26. Injection des rats.



Figure 27. Rasage des dos des rats.



Figure 28. Réalisation de la plaie.

Discussion des résultats



Discussion des résultats

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

1. Extraction et caractérisation des composés phénoliques

L'objectif de cette partie du travail est d'étudier les effets de différents paramètres opératoires sur l'extraction des polyphénols de *Sophora japonica* L. par macération à froid dans la solution méthanolique.

1.1. Rendement de l'extrait méthanolique

Le rendement de l'extrait polyphénolique brut est calculé à partir de la masse de l'extrait avant et après évaporation par rapport à 10g de la poudre végétale sec. Il est exprimé en pourcentage.

Le rendement d'extraction obtenu par (Gherbi et Nehache, 2018) sur les polyphénols de *Sophora japonica* est de 66,55%. 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).

1.2. Dosage des polyphénols totaux

L'estimation quantitative des polyphénols totaux de l'extrait de la plante *Sophora japonica* est réalisée par la méthode de folin Ciocalteu. L'acide gallique est utilisé à différentes concentrations comme standard pour tracer une courbe d'étalonnage linéaire ($y=ax+b$). 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).

Discussion des résultats

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±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**).

1.3. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode d'AlCl₃ 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

Discussion des résultats

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.

2. La chromatographie sur couche mince (CCM)

L'analyse chromatographique des polyphénols de *Sophora japonica* est réalisée avec le système solvant (chloroforme-méthanol-ammoniaque ; 85 :14 :1, (v/v/v). Cette méthode donne une bonne séparation des composants des extraits et révèle la présence de nombreuses tâches fluorescentes sous la lampe UV. Le système solvant permet d'avoir une bonne séparation des constituants du dépôt et une visibilité acceptable des spots sous lampe UV à 365nm. Chaque constituant est caractérisé par son facteur de rétention (Rf). Les Rf différents sont dus à la polarité des composés vis-à-vis du système solvant de migration et la phase stationnaire (**Djaalab Hadria, 2014**).

3. Chromatographie liquide à haute performance HPLC

Une tentative d'identification des composés phénoliques contenus dans l'extrait par séparation chromatographique est réalisée par HPLC en comparaison des temps de rétentions des pics obtenus avec ceux des standards. Cette démarche nous donne une appréciation qualitative sur la composition phénolique des extraits de cette partie végétale.

Les résultats du travail obtenus de (**Reneta et al., 2007**) de l'analyse par HPLC sur le fruit de *Sophora japonica* ont permis d'obtenir différents polyphénols qui sont la génistine, la sophorabioside, la rutine, le kaempférol 3-rutinoside.

4. Evaluation de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante de l'extrait méthanolique est évaluée in vitro par deux méthodes différentes. Il s'agit du piégeage du radical libre DPPH et le piégeage du radical cationique ABTS+.

4.1. 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

Discussion des résultats

(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).

Discussion des résultats

4.2. 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^{•+} 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**).

4. Evaluation de la toxicité aiguë de l'extrait végétal

L'étude de la toxicité aiguë chez les rats à des doses de 250, 500, 1000, 2000 mg/kg réalisée par (**Marius et al., 2015**) sur la toxicité aiguë par voie orale chez les rats de l'extrait méthanolique des feuilles d'*Abrus precatorius* Linn (Fabaceae) n'a montré aucun mort et aucun signe clinique d'une toxicité, selon le système général Harmonisé de classification et d'étiquetage des produits chimiques (SGH, 2003).

Discussion des résultats

5. Effet cicatrisant de l'extrait polyphénolique

L'évaluation de l'activité cicatrisante in vivo de la crème dermique est réalisée sur des rats Wistar. Elle a pour but l'appréciation de la potentialité accélératrice de la néoformation des tissus dermiques.

La comparaison est faite avec un groupe d'animaux recevant une crème de référence de madécassol en pommade et un groupe témoin traité par la solution de NaCl 0,9 % à 10 ml/kg. Le processus de guérison s'est passé par plusieurs phases; une disparition progressive de l'inflammation (plaies devenant moins rouges), une phase de contraction (les plaies devenaient dures et se couvraient de croûtes un peu noirâtres) et enfin la phase de guérison. Le traitement a permis d'obtenir une guérison complète des plaies.

La cicatrisation est caractérisée par d'importantes modifications de la matrice extracellulaire dans lesquelles interviennent la fibronectine, le fibrinogène et les intégrines (**Suriyamoorthy et al., 2014**). L'application topique de l'extrait de *S. japonica* à 200 mg/kg a induit une diminution des diamètres des plaies, cette diminution est importante que celle utilisée comme standard. L'effet cicatrisant de l'extrait peut être attribué à la présence des polyphénols et les flavonoïdes ayant la capacité d'accélérer le processus de régénération tissulaire par stimulation de la production du collagène et de la fibronectine (**Lopes-Lutz et al., 2008 ; Suriyamoorthy et al., 2014**). Les travaux réalisés par (**Khadri et al., 2018**) sur la plante *Cytisus Triflorus* (Fabaceae) affirment que l'extrait méthanolique est très puissant sur la cicatrisation des plaies. Ces auteurs ont remarqué un puissant effet sur la croissance des poils du rat albinos qui ont entièrement récupéré leurs poils contrairement aux lots témoins négatifs qui ne présentaient aucun cas de repousse de poils durant les 28 jours de traitement. Il est probable que l'effet de la promotion de la croissance des poils est dû à une stimulation hormonale de l'extrait brut de *S. japonica*.



***Conclusion et
perspectives***

Conclusion et perspectives

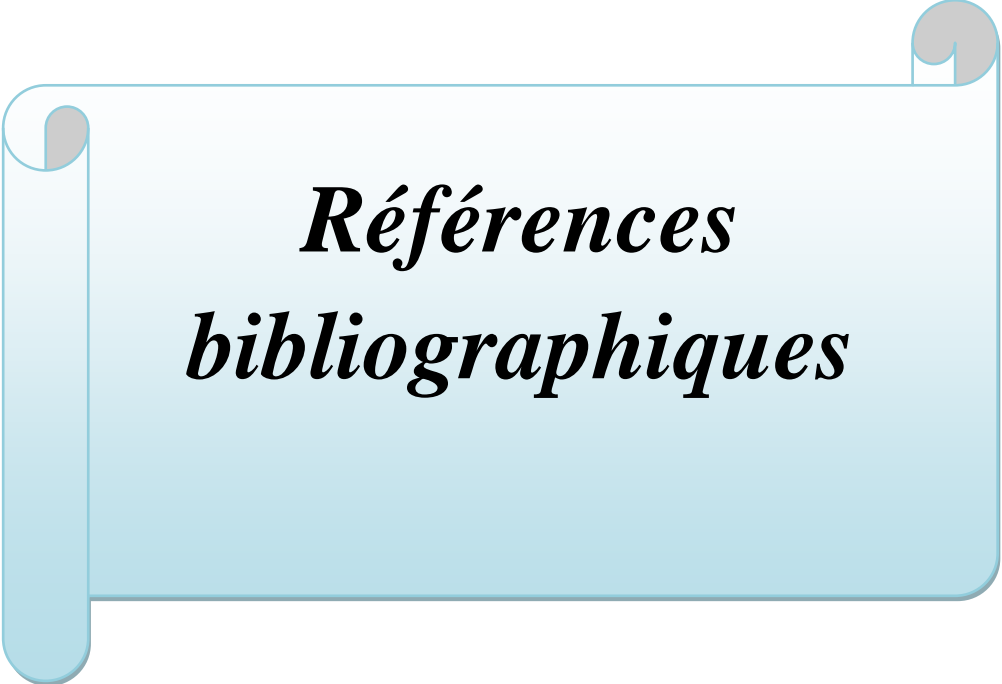
En Algérie, la médecine traditionnelle trouve sa place au sein de la population. Le besoin humain d'utiliser des molécules bioactives synthétisées par la plante ne cesse d'augmenter, ce qui a conduit les chercheurs à approfondir et développer la recherche, C'est dans ce contexte que nous avons entrepris notre étude qui vise à l'évaluation de l'activité antioxydante et cicatrisante de notre plante médicinale *sophora japonica*.

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

Les résultats obtenus à travers ce travail sont très favorables pour la valorisation des activités antioxydantes et cicatrisantes de notre plante, vu sa richesse en molécules bioactives. Mais des études complémentaires sont nécessaires pour comprendre les mécanismes moléculaires et cellulaires de ces effets et ouvrent ainsi de nombreuses autres voies d'études intéressantes à explorer.

Pour la poursuite de nos investigations, nous pensons nous intéresser d'avantage à la même plante qui jusqu'à présent, n'a pas fait l'objet de beaucoup d'études phytochimiques et pharmacologiques. Cela nous permettra peut-être d'isoler les métabolites secondaires participant à la bio-activité de cette plante, notamment l'identification et la purification des autres molécules qui n'ont pas été à ce jour isolées et comparer éventuellement leurs activités biologiques. Il sera judicieux d'effectuer d'autres études, telles que : la confirmation et élucidation du mécanisme derrière l'activité cicatrisante et de tester ces molécules purifiées sur des modèles biologiques, in vivo, afin de concrétiser leur usage thérapeutique et industriel.

Enfin, nous espérons que ce travail apportera une modeste contribution au développement de la recherche sur les plantes médicinales qui sont encore à explorer.



***Références
bibliographiques***

Référence bibliographique

« A »

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

Alabri, A. T.H., Hamood, A., Al Musalami, S., Amzad, M., Weli, M., and Al-Riyami, Q. (2014). Comparative study of phytochemical screening, antioxidant and antimicrobial capacities of fresh and dry leaves crude plant extracts of *Datura metel* L. *Science*, 26: 237-243.

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

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). Activiteantioxydante 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.

Référence bibliographique

« B »

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

Baudion Philippe (2010). Radicaux libres et antioxydants. Éd, Sport passion. A. Michel.

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.

Benavente, G.O., Gastillo, J., Lorente, J., Ortuno, A., Del-Rio, J.A. (2000) .Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves. *Food chemistry* vol 68, issue 4, pages 475-462.

Bensegueni, A., Belkhiri, A., Boulemda, N., Keck, G. (2007). Evaluation de l'activité cicatrisante d'un onguent traditionnel de la région de Constantine sur les plaies d'excision chez le rat, *Sciences & Technologie C-N°26*, décembre (2007), pp.83.87.

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

Référence bibliographique

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., Igc, 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: 12SR34S.

Bruneton, J. (1993). Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants. *Technique et Documentation Lavoisier*. ISBN : 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.

Référence bibliographique

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.

« D »

Denny, R.C. (1982). A dictionary of chromatography, and edn, Macmillan, London p161.

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

Djeridane, A., Yousif, M., Nadjemi B., Boutassouna, Stocher, P., et Vidal N., (2006).Antioxydant of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compound. Food Chemistry 97: 654-660.

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 using flavonoid data Journal of Brazilian chemical society, 18(5), 891-899.

Référence bibliographique

« F »

Favier, A. (1997). Le stress oxydant : intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés 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 »

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.

Référence bibliographique

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.

Ghnimi, 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.

Gobbi, R., Khebbaz, W., (2014). Traçabilité de l'identification des métabolites secondaires végétaux. Université d'Ouargla.

Godevac, D., Zdunié, 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.

Graham, H.D. (1992). Stabilisation of the Prussian blue colour in the determination of polyphenols. *J. Agric. Food Chem.* 40:801-805.

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.

Référence bibliographique

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: Phytochemistry68: 2831 – 2846, 2007.

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

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.

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.

Référence bibliographique

« 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. *Journal of Cutaneous Medicine and Surgery* 12 (4): 390-401.

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.

Khadri, S. (2019). Evaluation de l'activité antibactérienne, anti-oxydante et cicatrisante des brûlures thermiques des composés phénoliques extraits de la plante médicinale *Cytisus triflorus* de l'Est Algérien. Thèse de doctorat en Sciences Biologique. Université Badji Mokhtar – Annaba.

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

Référence bibliographique

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.

« L »

Laginika, L. (2005) .Etude photochimique et activité biologique de substances naturelle isolée de béninoise thèse de doctorat en science pharmaceutique. Université Lonis Pasteur Strasbourg, 267p.

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

Leena, S., Priyanka, S., Sheema, B., Anupma, M., Pooja B. and 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 Medecine*, 26:285-294.

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

Linné, H. (1830). Plante *Styphnolobium japonicum* : *Sophora japonica*, *Sophora* du Japon.

Lopes-Lutz, D., Alviano, D.S., and Kolodziejczyk, P.P. (2008). Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils. *Phytochemistry*. 69(8), 1732-1738.

« 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.

Référence bibliographique

Mahmoudi, S., Khali, M., et Mahmoudi, N. (2012). Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus L.*). Revue « Nature & Technologie ». B- Sciences Agronomiques et Biologiques, n° 09/ 22 Juillet 2012.

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.

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. (2012). Chimie avancée .préparation au bac et à la maturité. ISBN 978-2-88074-927-9.

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 .

Référence bibliographique

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 Medicinal Chemistry* 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). A review 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.

Pereira, N.X., Souza, S.F., Alneida, J.R.G. (2012). Biological oxidations and antioxidant activity of natural products. In *phytochemicals as nutraceuticals global approaches to their role in nutrition and health*. 1ère édition Venketeshwer Rao. pp 1-120.

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.

Référence bibliographique

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.

Référence bibliographique

« 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 some plants from Fabaceae family in experimental seizure models in mice; 19(4): 301–305.
- 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.

Référence bibliographique

« T »

Tadeg, H., Endris, M., Kaleab, A., Tsige, G.M. (2005). Antimicrobial activities of some selected traditional Ethiopian medicinal plants used in the treatment of skin disorders. *Journal of Ethnopharmacology* 100 (2005) 168–175.

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.

Thraoui, A., Zafar, H.I, Badiia, 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, M.E, 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.

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.

Référence bibliographique

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

الهدف من هذا العمل هو إجراء دراسة نظرية للأنشطة المضادة للأكسدة و خصائص الشفاء لفصوص الصفرية اليابانية. حسب الدراسات المختلفة للإعمال البيولوجية المتعلقة بوصفه الكيميائي النباتي، فإن الصفرية اليابانية غنية بدرجة معتدلة من البوليفينول و غنية جدا بالفلافونويد مما قد يفسر فضائل علاجية مختلفة. وفقا للمصادر نفسها ، الكروماتوغرافيا للطبقة الرقيقة و الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء أكدت ثراء النبات بالفلافونويد. تحليل العمل على تقييم القوة المضادة للأكسدة من قبل طريقة قياس الألوان DPPH و ABTS الكاتيوني أن مستخلص البوليفينول لنبات المدروس يحتوي على قوة عالية من مضادات الأكسدة. بالإضافة إلى ذلك، هذا البحث نفسه اثبت أن الاستخلاص الذي تم فحصه أظهر خصائص الشفاء من خلال تقليل جروح الفران. يتضح من هذه الدراسة أن فصوص الصفرية اليابانية تشكل مصدرا رئيسا للمكونات النشطة التي تتضمن أنشطة بيولوجية مختلفة يمكن أن تلعب دور معترف به في الطب الأعشاب.

الكلمات المفتاحية : الصفرية اليابانية /البوليفينول/ مضاد الأكسدة/نشاط الشفاء.

Résumé

L'objectif de ce travail est de mener une étude théorique de l'activité antioxydante et cicatrisante des gousses de *sophora japonica* L. Selon les différentes recherches bibliographiques effectuées sur sa caractérisation phytochimique, *S. japonica* est moyennement riche en polyphénols et très riche en flavonoïdes ce qui pourrait expliquer ses différents vertus thérapeutiques. Selon les mêmes sources, la chromatographie sur couche mince (CCM) ainsi que l'HPLC ont permis de confirmer la richesse de cette plante en flavonoïdes. Les travaux analysés sur l'évaluation du pouvoir antioxydant par la méthode colorimétrique DPPH et ABTS cationique ont montré que l'extrait polyphénolique de la plante étudiée est doté d'un pouvoir antioxydant élevé. De plus, ces mêmes recherches ont prouvé que l'extrait étudié a montré des propriétés cicatrisantes en réduisant les plaies d'excision faites chez des rats Wistar. 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*, polyphénols, Antioxydants, cicatrisation.

Abstract

The objective of this work is to carry out a theoretical study of the antioxidant and healing activity of the pods of *Sophora japonica* L. According to the various bibliographic research carried out on its phytochemical characterization, *S. japonica* is moderately rich in polyphenols and very rich in flavonoids which could explain its various therapeutic virtues. According to the same sources, thin layer chromatography (TLC) and HPLC have confirmed the richness of this plant in flavonoids. The work analyzed on the evaluation of antioxidant power by the DPPH and cationic ABTS colorimetric method showed that the polyphenolic extract of the plant studied has a high antioxidant power. In addition, this same research showed that the studied extract showed healing properties by reducing excisional wounds made in Wistar rats. It emerges from this study that the pods of *sophora japonica* constitute a major source of active ingredients possessing various biological activities that could play a recognized role in phytotherapy.

Key words: *Sophora japonica*, polyphenols, antioxidant, healing.