

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE CONSTANTINE 3



FACULTE DE GENIE DES PROCEDES

DEPARTEMENT DE GENIE PHARMACEUTIQUE

N° d'ordre :... ..

Série :... ..

Mémoire de Master

Filière : Génie des procédés

Spécialité : Génie pharmaceutique

**Contribution à l'identification des polyphénols contenus dans
l'espèce *Retama sphaerocarpa* et évaluation de leur activité
antioxydante**

Dirigé par:

Dr. Mme A. BENAÏSSA-KASSEM CHAOUICHE

Présenté par :

Amel MENDI

Inès HADDAD

Yasser OUATTAR

Année Universitaire 2015/2016.

Session : juin

Table des matières

Introduction	1
--------------------	---

Chapitre 01 : Synthèse bibliographique

1 Généralité	4
2 L'espèce <i>Retama sphaerocarpa</i> (L.) Boisse	4
2.1 Systématique.....	4
2.2 La famille des Fabaceae	6
2.3 Description de l'espèce <i>Retama sphaerocarpa</i>	6
2.4 Ecologie de l'espèce.....	7
2.5 Utilisation	9
2.6 Données phytochimiques.....	9
2.7 Données pharmacologiques	10
3 Généralités sur les polyphénols	11
3.1 Définition des polyphénols.....	11
3.2 Classification des polyphénols	12
3.2.1 Les acides phénols	12
3.2.2 Les flavonoïdes	13
3.2.3 Les anthocyanes	14
3.2.4 Les flavanes	14
3.2.5. Les tannins	15
3.2.5.1 Les tannins hydrolysables	15
3.2.5.2 Les tannins condensés.....	16
3.4 Intérêts thérapeutiques des polyphénols	17
3.4.1 Activité anticancéreuse.....	17
3.4.2 Prévention contre les maladies cardiovasculaires	18

3.4.3 Action gastro-protectrice des polyphénols	18
3.5 Les radicaux libres et les antioxydants	18
3.5.1 Les radicaux libres	19
3.5.1.1 Dommages liés aux radicaux libres	19
3.5.2 Les antioxydants	20

Chapitre 02 : Matériel et méthodes

Matériel et méthodes	21
1 Matériel	21
1.1 Matériel végétal	21
1.2 Préparation des extraits de <i>Retama sphaerocarpa</i>	21
1.3 Appareillage.....	21
1.4 Réactifs et produits chimiques.....	22
2 Méthodes	24
2.1 Extraction de biomolécules à partir d'une source végétale (extraction solide-liquide)..	24
2.1.1 Principe et mécanisme de l'extraction solide- liquide	24
2.1.2 Préparation des extraits méthanoïques bruts de <i>Rétama sphaerocarpa</i>	25
2.1.2.1 La Macération	25
2.1.2.2 Extraction solide –liquide (méthode du Soxhlet) :.....	26
2.1.3 Calcul du rendement	28
2.2 Screening phytochimique des extraits	29
2.2.1 Objectif	29
2.2.2 Principe	29
2.2.3 Application.....	30
2.3 Extraction liquide –liquide	32
2.3.1 Affrontement: partition entre solvants	32
3 Méthodes et techniques d'identification	36
3.1 Analyses par spectrophotométrie (UV-visible)	36

3.1.1	Domaine UV-visible de la spectrophotométrie.....	36
3.1.2	Protocole expérimental	37
3.1.3	Analyses qualitatives.....	38
3.1.4	Analyses quantitatives	38
3.2	Analyse par chromatographie liquide à haute performance (HPLC)	39
3.2.1	Analyses qualitatives.....	40
3.3	Dosage des polyphénols totaux	42
3.4	Evaluation de l'activité antioxydant par le diphényl-picryl-hydrazyl (DPPH)	44
3.4.1	Test de piégeage du radical libre DPPH	45

Chapitre 03 : Résultats et discussions

1	Evaluation des techniques d'extraction.....	47
1.1	Calcul des rendements des extractions	47
1.1.1	Extraction solide –liquide (Extraits bruts)	47
1.1.2	Extraction liquide-liquide	48
2	Screening phytochimique des extraits méthanoliques bruts :	50
3	Dosage des polyphénols totaux.....	55
4	Analyse chromatographique par HPLC.....	59
4.1	Chromatogrammes des étalons	59
4.2	Chromatogrammes des différents extraits	60
4.2.1	Chromatogramme des différents extraits obtenus par macération.....	60
4.2.1.1	Extrait aqueux brut.....	61
4.2.1.2	Extrait chloroformique.....	62
4.2.1.3	Extrait d'acétate d'éthyle	63
4.2.1.4	Extrait du n-butanol	64
4.2.1.5	Extrait de la phase aqueuse restante.....	65
4.2.2	Chromatogramme des différents extraits obtenus au soxhlet	65
4.2.2.1	Extrait aqueux brut.....	66

4.2.2.2 Extrait chloroformique	67
4.2.2.3 Extrait d'acétate d'éthyle	68
4.2.2.4 Extrait du n-butanol	69
4.2.2.5 Extrait de la phase aqueuse restante.....	70
5 Détermination de l'activité anti-radicalaire des extraits de <i>Retama sphaerocarpa</i> par la méthode de DPPH (effet scavenger)	73
Conclusion et perspectives	78
Bibliographie	80

الملخص

هذا العمل هو مساهمة لدراسة المحتوى الكلي لمادة البوليفينول و كذا مضادات الأكسدة لنبته من نوع *Retama sphaerocarpa* (L.) Boisse و هي من النباتات الطبية التي تنتمي إلى جنس *Retama* المتواجدة و المستعملة على نطاق واسع في بلدان البحر الأبيض و لاسيما الجزائر و خصوصا في منطقة القبائل.

اثنان من تقنيات الاستخلاص و المقارنة: طريقة النقع و طريقة الاستخلاص بواسطة جهاز Soxhlet تم إستخدامها لاستخراج مادة البوليفينول من *Retama sphaerocarpa*.

تم استخدام فحص Folin-ciocalteu لتقدير الحجم الإجمالي للبوليفينول في هذه النبتة و كانت نتائج الفحص هامة للغاية و أشارت إلى وجود كمية غالبية من مادة البوليفينول في المستخلصات القطبية (مستخلص الميثانول, و مستخلص خلات الإيثيل و مستخلص البيوتانول). كما كشفت نتائج فحص HPLC/UV-VIS رجحانا لوجود المركبات الثانوية في المستخلص الخام الميثانولي لـ *Retama sphaerocarpa*.

أشارت نتائج الفحص المضاد للأكسدة DPPH للمستخلصات الميثانولية الخام أن طريقة النقع قد أعطت أكبر نشاط لمضادات الأكسدة مقارنة بطريقة Soxhlet و هي ما يعادل على التوالي: 0.06مغ/مل و 0.07مغ/مل.

الكلمات المفتاحية *Retama sphaerocarpa* , مضادات الأكسدة, مركبات بوليفينولية , DPPH .

Résumé

Ce travail est une contribution à l'étude de la teneur en polyphénols totaux et de l'activité antioxydante de l'espèce : *Retama sphaerocarpa* (L.) Boisse qui est une plante médicinale appartenant au genre *Retama* largement utilisée dans les pays méditerranéens et en particulier en Algérie.

Deux techniques d'extraction comparatives : la macération et la méthode d'extraction par le soxhlet ont été mises en évidence pour l'extraction des polyphénols de *Retama sphaerocarpa*.

Le test de Folin-Ciocalteu avait été utilisé pour la quantification des polyphénols totaux, les résultats du dosage ont été très significatifs et ils ont indiqué une présence majoritaire des polyphénols dans les extraits polaires (extrait méthanolique, extrait d'acétate d'éthyle et extrait du n-butanol). Ces derniers ont révélé une prépondérance de la présence de métabolites secondaires dans les extraits méthanoliques bruts de *Retama sphaerocarpa* par la technique HPLC/UV-Vis.

La méthode au DPPH a indiqué une IC50 égale à 0.06 mg/ml et 0.07 mg/ml pour les extraits méthanoliques bruts de macération et du soxhlet respectivement. Le premier a démontré une plus grande activité antioxydante que le second. La corrélation entre l'activité antioxydante et la teneur en composés phénoliques totaux a été également investiguée.

Cette combinaison nous a permis de faire une évaluation quantitative en polyphénols totaux et qualitative en composés phénoliques extraits des échantillons de *Retama sphaerocarpa* étudiées. Les résultats montrent que les extraits de macération présentent une propriété antioxydante plus élevée par rapport à ceux du soxhlet.

Les résultats de ces travaux nous ont permis d'affirmer que l'activité antioxydante de *Retama sphaerocarpa* revient essentiellement aux composés phénoliques

Mots clés : *Retama sphaerocarpa* (L.) Boisse, composés phénoliques, pouvoir antioxydant, DPPH.