

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Abbes Laghrour Khenchela
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire

MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique

Filière : Sciences biologiques

Option : Biochimie appliquée

Thème

Exploration phytochimique et évaluation *in vitro* des activités biologiques d'une plante médicinale locale «*Capparis spinosa L*»

Présenté par

Haouassi Abdelaziz et Hassad Rami

devant

Jury de soutenance

Président: Dr.ZERAIB Azzedine

MBC. Univ. AbbèsLaghrour - Khenchela-

Rapporteur: Dr. DOUAOUYA Lilia

MCB Univ. AbbèsLaghrour - Khenchela-

Examineur:Dr.MAAMAR Hichem

MCB Univ. AbbèsLaghrour -Khenchela-

Année universitaire : 2020-2021



Remerciements

*« La connaissance est la seule chose qui s'accroît lorsqu'on la partage ».
En tout premier lieu, nous remercions le bon Dieu le tout puissant de
nous avoir donné la force nécessaire et la patience qui nous a permet
demener à bien ce modeste travail*

Nous tenons à remercier

*Dr. ZERAI B Azzedine, maître de conférences, d'avoir accepté de juger
notre travail en tant que président.*

*Dr. MAAMAR Hichem, maître de conférences, d'avoir accepté
d'examiner ce modeste travail.*

*Dr. DOUAOUYA Lília, maître de conférences, Merci d'avoir acceptée
de diriger ce travail, Mercipour votre encadrement sans faille tout au
long du période de
réalisation de ce travail. C'est un très grand honneur et un très grand
plaisir d'avoir pu faire votre connaissance avant tout...*

*Sans oublier l'ensemble des enseignants ayant contribué à notre
formation durant notre cycle d'étude.*

*Enfin nos remerciements sont dressés plus particulièrement à nos
familles et nos amies qui ont su nous soutenir, nous encourager,
nous aider et nous supporter tout au long des années.*

♥Merci ♥

Abdelaziz et Ramí



Dédicaces

Je dédie ce travail à :

*Ceux qui j'ai tant aimé avec beaucoup d'affection et que je suis très fière de les avoir comme parent et que tous les mots du monde ne peuvent exprimer l'amour et le respect que je leur porté ma mère **Bouamer Malika** et mon père **Mohamed L'aïd** et pour leurs soutien et leurs sacrifices énormes.*

*A mon frères **Elwardi**, ma sœurs **Khaoula** les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous.*

*A tous les membres de ma famille, mes cousins
A mon frère que ma mère ne m'a pas données **Abdelwahab Zouaoui**; merci pour vos aides, vos encouragements et vos précieux conseils. Que le dieu le protège et le gardé en bonne santé.*

A toutes mes amies, lesquelles ont partagée des bons moments de bonheur et moment les plus difficiles pendant toute la période passée aux études.

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

Abdelaziz ♥



Dédicaces

Je dédie ce travail à ...

A ma très chère mère

A la plus douce et la plus merveilleuse de toutes les mamans.

A une personne qui m'a tout donné sans compter.

A mon honorable père, qui m'a appris le sens de la persévérance tout au long de mes études, qui représente pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager

A mes frères SABER , MAHDI et SIFEDDINE

A tous les membres de ma famille .

A mon binôme ABDELAZIZ HAOUASSI qui a partagée avec moi les moments difficiles de ce travail

Et a tous mes amis de la promotion de Master BIOCIMIE

APPLIQUEE 2021

RAMI ♥

Résumé

Les plantes médicinales sont devenues avec l'évolution de la science les extraits de base pour le traitement de nombreuses pathologies et afin de valoriser les plantes médicinales Algériennes; l'objectif de cette étude est l'exploration phytochimique et l'évaluation *in vitro* du pouvoir antioxydant et antibactérien des fractions organiques issues d'une plante de la pharmacopée traditionnelle, récoltée de la région de Khenchela (*Capparis spinosa L.*).

Le screening phytochimique réalisé, a révélé la richesse de notre plante en métabolites secondaires dont nous avons constaté la présence des flavonoïdes, des saponines, des tanins, des alcaloïdes, des composés réducteurs et les coumarines.

Ainsi, l'étude qualitative par CCM des extraits a révélée une diversité remarquable des composés flavonoïques susceptibles d'exprimer les activités recherchées.

L'étude *in vitro* de l'activité antioxydante des extraits du Câprier en utilisant l'effet scavenger du radical libre DPPH a montré que l'extrait n-butanolique (En-B) a une très forte activité anti-radicalaire vis-à-vis ce radical suivis par l'extrait d'acétate d'éthyle(EAE) avec des IC50 égales à 0.003 mg/ml et 0.027 mg/ml respectivement.

Quant à l'activité antibactérienne, un test de sensibilité sur trois souches bactériennes, deux Gram négatif (*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*) et une Gram positif (*Staphylococcus aureus*), est réalisé en adoptant la méthode des disques, les résultats obtenus présentent une différence entre les souches testées dont l'effet inhibiteur le plus marqué est obtenu avec la souche *Staphylococcus aureus* par un diamètre de zone d'inhibition égal à 21mm.

En conclusion; *Capparis spinosa L* est doué d'une activité antioxydante et antibactérienne remarquables. De ce fait, il peut constituer une ressource naturelle afin d'atténuer les complications du stress oxydant associé ou déclenchant d'autres maladies et une bonne alternative aux antibiotiques contre les infections bactériennes.

Mots clés: activité antibactérienne, activité antioxydante, *Capparis spinosa L*, CCM, flavonoïdes.

ABSTRACT

With the evolution of science, medicinal plants have become basic extracts for the treatment of many diseases and in order to develop the Algerian medicinal plants; the objective of this study is the phytochemical exploration and *in vitro* evaluation of the antioxidant and antibacterial power of the organic fractions resulting from a plant of the traditional pharmacopoeia, collected from Khenchela (*Capparis spinosa L.*).

The phytochemical screening carried out, revealed the richness of our plant in secondary metabolites of which we noted the presence of flavonoids, saponins, tannins, alkaloids, reducing compounds and coumarins.

Thus, the qualitative study by TLC of the extracts revealed a remarkable diversity of flavonoid compounds likely to express the sought activities.

The *in vitro* study of the antioxidant activity of Caper extracts using the scavenger effect of the DPPH free radical showed that the n-butanolic extract (En-B) has a very strong anti-radical activity towards this radical followed by the ethyl acetate extract (EAE) with IC50 equal to 0.003 mg/ml and 0.027 mg/ml respectively.

As for the antibacterial activity, a sensitivity test on three bacterial strains, two Gram-negative (*Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*) and one Gram-positive (*Staphylococcus aureus*), is carried out by adopting the disc method, the results obtained show a difference between the tested strains with the most marked inhibitory effect obtained with the *Staphylococcus aureus* strain by a diameter of inhibition zone equal to 21mm.

In conclusion, *Capparis spinosa L.* has a remarkable antioxidant and antibacterial activity. Therefore, it can be a natural resource to alleviate the complications of oxidative stress associated or triggering other diseases and a good alternative to antibiotics against bacterial infections.

Keywords: antibacterial activity, antioxidant activity, *Capparis spinosa L.*, CCM, flavonoids.

المخلص

مع تطور العلم اصبحت النباتات الطبية المستخلصات الاساسية المستخدمة في علاج العديد من الامراض . من اجل تقييم النباتات الطبية الجزائرية تهدف هذه الدراسة الى تثمين القدرات العلاجية الطبيعية للنبتة الطبية الكبار المستعملة في الادوية التقليدية في منطقة خنشلة تم القيام بالفحص الكيميائي و اختبار الاقسام العضوية الناتجة عن المستخلص الميثانولي الخام للنبتة كمضادات للاكسدة و مضادات للبكتيريا .

كشف الفحص الكيميائي النباتي عن ثراء النبتة بمادة الايض الثانوية التي تحتوي على:

الفلافونويدات ,الصابونينات ,التينينات ,الكومارينات و السكريات المرجعة

في حين كشفت الدراسة النوعية بواسطة الكروماتوغرافيا للمستخلصات العضوية وجود مختلف انواع الفلافونويدات القادرة على التعبير عن النشاط المطلوب .

بينت دراسة النشاط المضاد للاكسدة باستعمال اختبار جذر DPPH ان التركيز المرجع ل 50 % من هذا الجذر لكل من المستخلصين EAE و En_B قدر ب 0.027مغ/مل و 0.003مغ/مل على الترتيب .

بالنسبة للنشاط المضاد للبكتيريا استعملنا ثلاث سلالات بكتيرية اثنتان منها سالبة الغرام :

Escherichia coli و *Pseudomonas aeruginosa*

وواحدة منها سالبة الغرام: *Staphylococcus aureus*

باستعمال نتيجة الاقراص اظهرت النتائج تأثير المستخلصات على النشاط البكتيري بشكل متفاوت و كان التأثير اكثر وضوحا على سلالة *Staphylococcus aureus* حيث قدر قطر التثبيط ب 21 مم

وفي الاخير نستنتج ان نبتة الكبار لديها نشاط ملحوظ , مضاد للاكسدة و مضاد للبكتيريا و هذا مايجعلها مصدرا طبيعيا للتخفيف من مضاعفات النشاط التاكسدي الذي يسبب امراض اخرى ,وبديل للمضادات الحيوية ضد حول الالتهابات البكتيرية .

الكلمات المفتاحية : *Capparis spinosa L* ,الفحص الكيميائي , الفلافونويدات ,النشاط المضاد للاكسدة ,النشاط المضاد للجراثيم

Table des matières

Remerciement

Dédicaces

Résumé

Abstract

ملخص

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Synthèses bibliographique

Chapitre I : Généralités sur l'espèce *Capparis spinosa* L.

1. Présentation générale de l'espèce 3

1.1. Généralités. 3

1.2. Etude botanique du *Capparis spinosa* L..... 3

1.3. Répartition géographique du *Capparis spinosa*..... 5

1.4. Composition biochimique du *Capparis spinosa*..... 6

1.5. Utilisations de la plante..... 9

Chapitre II : Métabolites secondaires

I.1. Généralités..... 12

I.2. Classification des métabolites secondaires.....12

I.2.1. Composés phénoliques.....12

I.2.2. Terpènes..... 14

I.2.3. Alcaloïdes et composés azotés..... 15

I.2.3.1. Alcaloïdes15

I.2.3.2. Glycosinolates15

Chapitre III : Les activités biologiques étudiées

I. L'activité anti-oxydante.....	17
I.1. Stress oxydant.....	17
I.2. Radicaux libres.....	17
I.3. Différents types des radicaux libres	17
I.4. Sources des radicaux libres.....	18
I.5. Rôle physiologique des radicaux libre.....	19
I.6. Cibles des radicaux libres.....	20
I.7. Antioxydants.....	21
I.7.1. Définition d'un antioxydant.....	21
I.7.2. Principaux antioxydants.....	21
II. Activité antibactérienne.....	22
II.1. Définition.....	23
II.2. Culture des bactéries.....	23
II.3. Activité antimicrobienne des extraits des plantes.....	23
II.4. Agents antibactériens.....	24
II.4.1. Agents antibactériens naturels.....	24
II.4.2. Agents chimio-thérapeutiques (antibiotiques).....	25
II.5. Description des bactéries étudiées.....	26

Partie expérimentale

Chapitre I :Matériel et méthodes

I. Matériel.....	28
-------------------------	-----------

I.1. Matériel biologique.....	28
I.1.1. Matériel végétal.....	28
I.1.2. Souches bactériennes.....	28
I.2. Réactifs chimiques et instrumentations.....	28
II .Méthodes.....	29
II.1. Etude pytochimique.....	29
II.1.1. Préparation de l'extrait méthanolique brut.....	29
II.1.2. Fractionnement de l'extrait méthanolique brut.....	30
II.1.3. Détermination du rendement d'extraction.....	32
II.1.4. Screening phytochimique.....	32
II.2. Séparation chromatographique sur couche mince (CCM).....	33
II.3. Étude in vitro des Activités biologiques.....	35
II.3.1. Evaluation de l'activité antioxydante.....	35
II.3.1.1. Principe de l'essai.....	35
II.3.1.2. Réalisation de l'essai.....	35
II.3.1.3. Expression des résultats.....	36
II.3.2. Etude de l'activité antibactérienne.....	36
II.3.2.1. Méthode des disques « Tests d'efficacité »	37
II.3. Etude statistique.....	38

Chapitre II : Résultats et discussion

I. Investigation phytochimique.....	39
I.1. Rendement de l'extraction	39
I.2. Tests de mise en évidence de certains composés phytochimiques.....	40

I.3. Résultats de l'étude qualitative par CCM	43
II. Evaluation in vitro des activités biologiques.....	45
II.1. Evaluation de l'activité antioxydante	45
II.2. Evaluation de l'activité antibactérienne.....	47
II.2.1. Résultats de test d'efficacité	47
Conclusion et perspective	50
Références bibliographiques	
Annexe	

Liste des abréviations

C. spinosa : *Capparis spinosa L*

AlCl₃ : Chlorure d'aluminium

CCM : Chromatographie sur Couche Mince.

DMSO : Diméthyl Sulfoxyde.

DPPH : Diphenyl Picrylhydrazyl (C₁₈H₁₂N₅O₆).

E : Extrait.

EMB : Extrait méthanolique brute .

En_B : Extrait Butanolique de *Capparis spinosa L*.

EAE : Extrait Acétate déthyl de *Capparis spinosa L*.

E.coli : *Escherichia coli*.

HCl : Acide chlorhydrique

IC₅₀ : Inhibitive Concentration of 50 %.

R_f : Rapport frontal.

UV : Ultra Violet.

ZI : Zones d'Inhibition.

% PI : Pourcentage d'Inhibition.

Liste des figures

Figure	Page
Figure 1: Aspects morphologiques de <i>Capparis spinosa</i>	5
Figure 2: Distribution de <i>Capparis spinosa</i> L.	6
Figure 3: Principales classes des composés phénoliques.	14
Figure 4: Photo du Rotavapeur utilisé pour sécher l'extrait méthanolique brut	29
Figure 5: Photos montrant l'extraction liquide-liquide	30
Figure 6: Protocole expérimental résumant les différentes étapes du fractionnement des flavonoïdes.	31
Figure 7: Graphique montrant le changement de couleur de DPPH du violet au jaune quand il est exposé à une substance antioxydante	35
Figure 8: Photo de Chromatogramme résultant de l'analyse de nos extraite par CCM sur gel de silice par le système de solvant 1: (a) à 254 nm et (b) à 365 nm et le système de solvant 2 : (c) à 254 nm.	43
Figure 9: Photo de Chromatogramme résultant de l'analyse de nos extraite par CCM sur gel de silice par le système de solvant 2: (d) à 365 nm et le système de solvant 3: (e) à 254 nm et (f) à 365 nm	44
Figure 10: Courbe des pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration de l'extrait En-B et l'EAE.	46
Figure 11: Histogramme représente les concentrations des extraits inhibitrices à 50% le radical DPPH	46
Figure 12: Photos de test d'efficacité d'En-B sur <i>E.coli</i> (a), <i>P.aeruginosa</i> (b), <i>S.aureus</i> (c).	48
Figure 13: Photo de test d'efficacité d'EAE sur <i>E.coli</i> (d), <i>P.aeruginosa</i> (e), <i>S.aureus</i> (f)	48

Liste des tableaux

Tableau	Page
Tableau 1: Composition de différentes parties du <i>C. spinosa</i> en métabolites bioactives	7
Tableau 2: Principaux effets pharmacologiques de <i>C. spinosa</i>	10
Tableau 3: Principales ERO radicalaires et non-radicalaires	18
Tableau 4: Les coordonnées géographiques du site de récolte.	28
Tableau 5: Différents systèmes de solvants essayés et choisis pour la présente étude.	34
Tableau 6: Le rendement d'extrait méthanolique brut (EMB) de <i>Capparis spinosa L.</i>	39
Tableau 7: Le rendement d'extraction (EAE, En_B) de <i>Capparis spinosa L.</i>	40
Tableau 8: Résultats des tests phytochimiques des composés constituant l'extrait méthanolique brut de <i>Capparis spinosa L.</i>	41
Tableau 9: Résultats de la CCM de l'En_B et l'EAE	44
Tableau 10 : Pourcentages de la réduction du radical DPPH° de l'ETA et de l'EAE	45
Tableau 11. Résultats de diamètres des zones d'inhibition de croissance bactérienne.	47



INTRODUCTION

Introduction

Introduction

Les plantes médicinales ont été utilisées comme une source inépuisable de médicaments pendant des milliers d'années de l'histoire de l'humanité. Même aujourd'hui, elles sont encore à la base de la pratique du système médical traditionnel dans le monde depuis des siècles (**Pan et al., 2009**). L'utilisation thérapeutique des vertus extraordinaires des plantes dans le traitement des maladies humaines est très ancienne et s'est développée avec le développement de l'humanité (**Gurib-fakim, 2006**). En fait, il existe environ 500 000 espèces de plantes sur la terre, dont 80 000 ont des propriétés médicinales (**Benkhniue, 2011**).

Les plantes médicinales sont encore le premier dépositaire de nouveaux médicaments, et elles sont considérées comme une source importante de matières premières pour découvrir de nouvelles molécules nécessaires au développement futur de médicaments (**Maurice, N,1997**) ; Cette matière végétale contient un grand nombre de molécules utilisées dans l'industrie alimentaire, la cosmétologie et la pharmacologie aux multiples usages. Parmi ces composés, nous avons trouvé des coumarines, des alcaloïdes, des acides phénoliques, des tanins, des terpènes et des flavonoïdes (**Bahorun et al., 1996**).

À ce jour, l'utilisation généralisée des plantes est toujours très importante. Selon les données fournies par l'Organisation mondiale de la santé (Organisation mondiale de la santé), 80% de la population mondiale utilise des thérapies traditionnelles pour traiter ses problèmes de santé, d'une part parce qu'elles ne peuvent souvent pas obtenir les médicaments prescrits par la médecine moderne, d'autre part, parce que ces plantes ont souvent une réelle efficacité. (**Guo.B et al .,2007**)

Le territoire algérien, de par sa position géographique, présente une large gamme de végétation riche et diverse d'étages bioclimatiques de plantes utilisées comme condiments, aliments naturels et pour des buts thérapeutiques (**Emberger, 1971**). Parmi ces plantes, le *Capparis spinosa* (le câprier) qui fait partie de la flore algérienne est une plante de la famille des Capparidaceae (**Quezel et Santa, 1962**).

Le câprier est une des rares espèces arbustives qui est très répandue dans le bassin méditerranéen, essentiellement l'espèce *Capparis spinosa*. En Algérie, le câprier couvre de vastes surfaces, mais de manière éparse (**Benseghir- Boukhari et Seridi, 2007**).

Il présente autant de qualités avec de nombreux usages alimentaires et thérapeutiques. C'est une source importante en minéraux, vitamines et en composés bioactifs, qui sont à l'

Introduction

origine de son utilisation en médecine traditionnelle. Les différentes parties du câprier sont connues pour leur important potentiel antioxydant, anti-inflammatoire, antidiabétique .. . etc (Tlili *et al.*, 2011)

Le stress oxydatif est le facteur déclenchant de nombreuses maladies ou maladies liées à des complications. La plupart des maladies causées par le stress oxydatif apparaissent avec l'âge, car le vieillissement réduit la capacité de défense antioxydante, augmentant ainsi les radicaux libres de la reproduction des mitochondries (Girodon *et al.*, 2010). Parmi les activités biologiques des plantes médicinales, ces dernières années l'attention s'est portée sur l'activité antioxydante en raison du rôle qu'elle joue dans la prévention des maladies chroniques telles que les pathologies du coeur, le cancer, le diabète, l'hypertension, et la maladie d'alzheimer en combattant le stress oxydant (Meddour *et al.*, 2013).

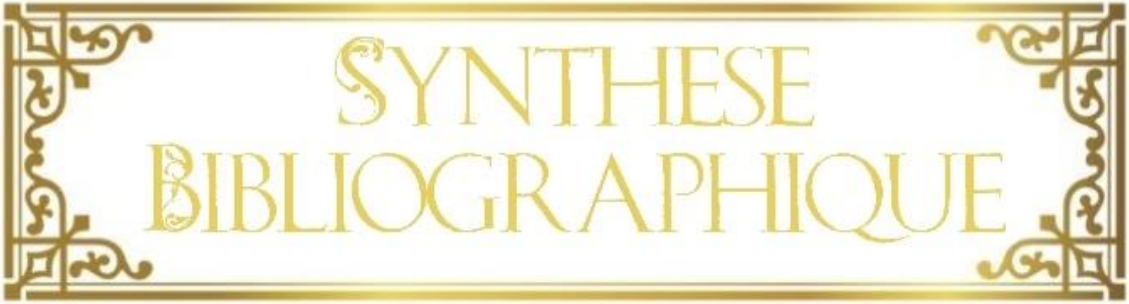
Les plantes produisent également des composés organiques ayant une activité antimicrobienne. Ces composés présentent un intérêt parce que la résistance aux antibiotiques est devenue un problème de santé publique dans le monde entier notamment en termes de maladies d'origine alimentaire et les infections nosocomiales (Anderson *et al.*, 2001).

L'objectif de ce travail est l'étude phytochimique ayant pour objet la détermination de la composition chimique de métabolites secondaires et la mise en évidence d'une éventuelle variabilité de la qualification de ces substances, ainsi que l'évaluation de l'activité biologique (antibactérienne et antioxydante) des extraits organiques issus de la partie aérienne de la plante sélectionnée: *Capparis spinosa L.*

Notre étude englobe trois parties :

La première partie est d'ordre bibliographique divisée en trois chapitres ; le premier est consacré à des données générales sur la plante *Capparis spinosa L.*, le deuxième chapitre est réservé aux métabolites secondaires et leurs propriétés pharmacologiques et le troisième comprend les activités biologiques étudiées.

La deuxième partie est expérimentale dans laquelle sont abordés deux chapitres; le premier présente le matériel et les méthodes analytiques utilisées pour l'extraction des flavonoïdes, leur identification par CCM, l'évaluation du pouvoir antioxydant des extraits organiques de la plante médicinale via l'effet scavenger du DPPH° et l'activité antibactérienne sur les souches : *Staphylococcus aureus*, *E.coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. Le dernier chapitre expose les résultats obtenus avec ses discussions.



SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE



CHAPITRE I

Chapitre I:Généralités sur l'espèce *Capparis spinosa* L.

1. Présentation générale de l'espèce

1.1.Généralités

Le genre *Capparis* L. contient jusqu'à 80 espèces qui sont groupées dans quatre sections : sect.1 : *Capparis*, sect.2 : *Sodada*, sect.3 : *Monostichocalyx*, sect.4 : *Busbeckea* (**Jacobs, 1965;Fici, 2004**). Parmi ces quatre sections, seulement les plantes du sect.*Capparis* ont une distribution naturelle dans les zones tempérées de l'hémisphère du Nord du vieux monde. Le nombre d'espèces dans la sect. *Capparis* est encore discutable, certains auteurs suggèrent qu'il y a plus d'une espèce (**Wu, 1999;Inocencioet al., 2002; 2005; 2006**) alors que d'autres suggèrent qu'il y a qu'une seule espèce : *Capparis spinosa* L. (**Jacobs, 1965; Higton and Akeroyd, 1991; Fici, 2004**). *Capparis spinosa* L. est l'espèce typique du genre *Capparis* L. C'est un petit arbuste épineux, prosterné, et persistant. Il est largement distribué dans les milieux secs de l'Asie centrale ou occidentale et dans le bassin méditerranéen (**Panicoaet al., 2005**).

1.2. Etude botanique du *Capparis spinosa* L.

1.2.1. Systématique

La famille *Cappari daceae* est représentée par des herbes, des arbustes et des arbres, elle est répartie en 46 genres et environ 700 espèces. Les genres les plus importants sont *Capparis*, *Cleomeet Crateva*(**Aghelet al., 2007**).

Le câprier (*Capparis spinosa* L.) est l'espèce type du genre *Capparis* de la famille des *Cappari dacées* (**Jianget al, 2007 ; Tliliet al., 2011**), qui a été créé par Linnaeus. Il comporte environ 250 espèces fleurissantes, qui sont distribuées dans différents habitats, des zones subtropicales aux zones tropicales de l'Afrique, de l'Asie, de l'Australie, de l'Amérique méridionale et de l'Europe (**Inocencioet al., 2006**).

Capparis spinosa présente des variations morphologiques considérables dues aux divers facteurs tels que la différenciation éco-géographique, les modifications topographiques et les processus d'hybridation favorisant la présence de phénotypes intermédiaires (**Chedraoui et al., 2017**).

Selon **Quezel et Santa (1962)** , **Benseghir(1988)**, **Dhakad et al ; (2016)**, la systématique de cette espèce est la suivante:

Règne: Végétal

Sous règne: Eucaryotes

Embranchement: Spermaphytes

Sous embranchement : Angiospermes

Classe: Dicotylédones

Sous classe: Polypetales

Ordre: Thalamiflores

Suborder : Parietales

Famille: *Capparidaceae*

Genre: *Capparis*

Espèce: *Capparis spinosa* L.

Noms locaux : Kebbar et Thaylalouth

1.2.2. Description botanique du *Capparis spinosa*

Capparis spinosa est un arbuste vivace épineux, à rameaux feuillés et étalés, de 0,3 à 1 mètre de long et racines profondes qui peuvent s'étendre jusqu'à 6 à 10m (**Nabavi et al., 2016**). Il se caractérise par des :

- Feuilles alternes, de forme ovale et un peu charnu, courtement pétiolées, pourvues de stipules épineuses, persistantes.
- Grandes fleurs révélant une beauté exceptionnelle malheureusement très éphémères, pédonculées, solitaires et axillaires, mesurant jusqu'à environ 6 cm de diamètre et pourvues de quatre sépales verts, concaves, de corolle à quatre grands pétales blanc rosé de forme ovale-arrondie et de nombreuses étamines à filets longs et pourprés comme les anthères, dépassées par le petit ovaire porté par un "pied" allongé (**Beniston, 1984 ; Al-Snafi, 2015**).
- Fruits sont des baies ovoïdes ou pyriformes longuement stipités, rougeâtres à nombreuses graines réniformes, avec une saveur délicieuse (**Quezel et Santa, 1962 ; Al-Snafi, 2015**).



Figure 1. Aspects morphologiques de *Capparis spinosa* (Thomé, 1885).

1.3. Répartition géographique du *Capparis spinosa*

Capparis comporte plusieurs espèces distribuées dans des zones tropicales et subtropicales de l'Amérique méridionale, de l'Europe, de l'Afrique, du Madagascar, de l'Asie, de l'Australie, et des îles Pacifiques (Willis, 1988).

C. spinosa est très répandu dans le bassin méditerranéen, il est largement distribué dans différentes régions du monde s'étendant du Maroc en Crimée, en Arménie et en Iran (Rivera et al., 2003 ; Tlili et al., 2011).

C. spinosa se trouve dans toute l'Algérie (Quezel et Santa, 1962). Il couvre de vastes surfaces mais de manière éparse (Benseghir-Boukhari et Seridi, 2007).

L'importance économique des bourgeons à fleur, connus sous le nom de câpres, utilisés comme condiment et les différentes parties du câprier employées dans la fabrication des médicaments et des produits cosmétiques, a mené à une augmentation significative des niveaux de production en cultivant cette plante, surtout au Maroc, au sud-est de la péninsule ibérique, en Turquie et en Italie (Agelet et al., 1986).

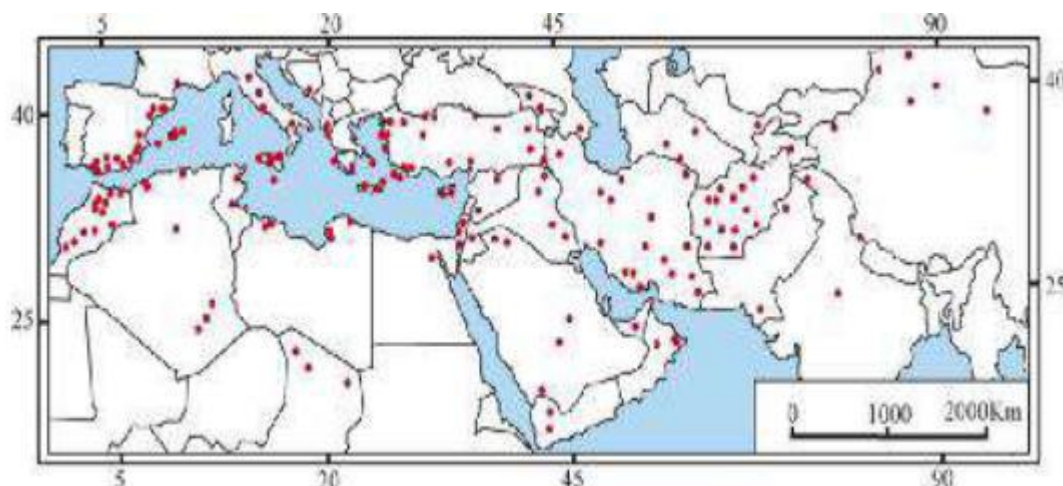


Figure 2. Distribution de *Capparis spinosa* L. (•) sur le bassin méditerranéen (Jiang *et al.*, 2007).

1.4. Composition biochimique du *Capparis spinosa*

Capparis spinosa a été étudié pour son contenu biochimique, qui est influencé par plusieurs facteurs tels que les conditions géographiques et environnementales, la date et la taille de la récolte, les procédures de conservation, le génotype et les méthodes d'extraction. Toutes ces études ont indiqué la richesse des câpres en composés phénoliques et en flavonoïdes (Sozzi et Vicente, 2006; Tiliét *al.*, 2010).

Plusieurs composants chimiques bioactives ont été identifiés à partir de différentes parties du *C. spinosa*; il contient :

- ✓ **Des flavonoïdes** : différents flavonoïdes ont été identifiés comme la rutine, la quercétine et le kaempferol et leurs dérivés (Sharrifmoghaddasiet *al.*, 2012)
- ✓ **Des alcaloïdes** : comme les spermidines, alcaloïdes isolés à partir des racines (Fu *et al.*, 2008)
- ✓ **Des terpénoïdes** : des tocophérols (α -tocopherol, γ -tocopherol et δ -tocopherol), de la vitamine C (Tesoriereet *al.*, 2007), et des caroténoïdes (lutein et β -carotene), (Matthous et Ozcan, 2005 ; Tiliét *al.*, 2009a ; Tiliét *al.*, 2009b), et des acides gras essentiellement les acides oléique, linoléique et linoléique (Matthous et Ozcan, 2005 ; Tiliét *al.*, 2010b).
- ✓ **Des glucides** (glucose, arabinose, mannose et galactose,...) (Demir *et al.*, 2008).
- ✓ **Des protéines** (Demir *et al.*, 2008).

- ✓ **Des glucosinolates** : le câprier est parmi les espèces riche en glucosinolates et les isothiocyanates (Caliset *al.*, 1999 ; Caliset *al.*, 2002).
- ✓ **Des éléments minéraux** : essentiellement le K, Mg, Ca, Na, Zn, Cu, Fe, P (Rodrigo *et al.*, 2006 ; Giuffrida *et al.*, 2002).

Le tableau suivant résume quelques métabolites bioactives identifiées et isolées de *C. spinosa*:

Tableau 1. Composition de différentes parties du *C. spinosa* en métabolites bioactives

Organe végétal	Composition biochimique	Référence
Capparis spinosa (plante entière)	Stachydrine	Fu <i>et al.</i>, (2007).
	Quercetine, ses dérivés aglycones (isorhamnetin), et ses dérivés rutinosides glycosides	Siracusa <i>et al.</i>, (2011).
	Flavonoïdes : Sakuranetine, wogonine et oroxyline, Isoginkgetine, Ginkgetine	Li <i>et al.</i>, (2007) ; Zhou <i>et al.</i>, (2011)
	Glucocapparine, Glucoiberine, Glucobrassicine, Neoglucobrassicine, 4-Methoxy-glucobrassicine.	Ahmed <i>et al.</i>, (1972) ; Schraudolf, (1989)
	Butyl-isothiocyanate, Isopropyl-isothiocyanate	Afsharypuoret <i>et al.</i>, (1998)
	2-(4-Hydroxy-2-oxo-2,3-dihydrobenzofuran-3-yl) acetonitrile	Zhang <i>et al.</i>, (2014)
	Terpénoïdes, Tocophérols et Caroténoïdes	Tlili <i>et al.</i>, (2009a,b)
Boutons fleurants et fruits	Acide tetrahydroquinoline	Zhang <i>et al.</i>, (2014)
	Stachydrine	Fu <i>et al.</i>, (2007)

	capparisine A, capparisine B, capparisine C, acide 2-(5-hydroxy-methyl-2-formylpyrrole) propionique lactone et N-(3-maleimidy1)-5 hydroxy-methyl-2-pyrrole formaldéhyde	Yang et al., (2010)
	Quercetin et ses dérivés glycosylés	Rodrigo et al., (1992) ; Sharafet al., (2000)
	Rutine	Rodrigo et al., (1992) Sharaf et al., (2000) Germano et al., (2002) Giuffrida et al., (2002)
	Kaempferole et et ses dérivés glycosidés	Inocencioet al., (2000); Argentieriet al., (2012)
	Cappariloside A, Cappariloside A glucose	Caliset al., (1999) Fu et al., (2007)
	Acyl gras glycosidés, Prenyl glucoside, dérivés de 3-Oxo- α -ionol glucoside	Caliset al., (1999)
	Stérol : β -Sitosterol, β -Sitosterol glycoside	Yu et al., (2006)
	Acides phenoliques: acide p-Idroxy-benzoïque, acide Protocatechuic et acide p-Methoxybenzoïque.	Yu et al., (2006)
Racines et écorces des racines	capparispine, capparispine 26-O- β -D-glucoside et cadabicine 26-O- β D-glucoside hydrochloride	Fu et al., (2008).

	Stachydrine	Khatib et al., (2016)
	3-hydroxy-7-methoxy-2-methyl-4H-1,4-benzoxazine- 4-carbaldehyde	Bogaet al., (2011)
	Flavonoïdes	Ramezani et al., (2008)

1.5. Utilisations de la plante

Les câpres sont généralement utilisées comme épices de cuisson dans la cuisine méditerranéenne. Elles sont les plus appréciées de la plante pour leur goût piquant et amer et sont employées comme apéritive avec les olives et le fromage ou comme complément à la viande, aux salades, aux pâtes, et à d'autres nourritures (**Inocencio et al., 2000**). En dehors de son utilisation comme assaisonnement, le câprier (les boutons floraux, les fruits, les grains et les racines) a été connu pendant des siècles dans la phytothérapie traditionnelle, qui a exploité ses propriétés pour plusieurs applications (**Tesoriere et al., 2007**). La câpre est longtemps connue pour ses propriétés curatives; antirhumatismales, expectorantes, diurétiques, anti-hypertensives, cataplasmiques et toniques dans différents pays méditerranéens et a été utilisée aussi dans les remèdes médicaux (**Inocencio et al., 2000**). Le câprier est également utilisé en phytothérapie comme antifongique (**Ali-Shtayeh and Abu Ghdeib, 1999**), antihépatotoxique (**Gadgoli and Mishra, 1999**) anti-inflammatoire (**Al-Said et al., 1988**) et antihyperlipidémique (**Eddouks et al., 2005**). La câpre est également utilisée dans le traitement des douleurs hépatiques (**Handa et al., 1986**). Les propriétés antioxydantes des extraits méthanoliques des bourgeons floraux crus de *C. spinosa* ont été démontrées dans divers modèles in vitro (**Tesoriere et al., 2007**).

Récemment, des études confirment plusieurs effets de cette plante (**tableau 2**) comme : antioxydant (**Germano et al., 2002**), antifongique (**Ali-Shtayeh et Abu Ghdeib, 1999**), anti-hépatotoxique (**Gadgoli et Mishra, 1999**), anti-inflammatoire (**Al-Said et al., 1988**), antiallergique et antihistaminique (**Trombetta et al., 2005**), chondroprotectif (**Panico et al., 2005**), hypolipidémique (**Eddouks et al., 2005**), photoprotectif (**Bonina et al., 2002**), antimicrobien (**Mazare et al., 2017**), anticancéreux et antispasmodique (**Manikandaselvi et Brindha, 2014**)...

Tableau 2. Principaux effets pharmacologiques de *C. spinosa* (Zhang et Fei Ma, 2018).

Effets pharmaco-logiques	Partie de <i>C. spinosa</i> étudiée	Référence
Anti-diabétique	Fruits	Eddouks <i>et al.</i>, (2005)
	Fruits	Lemhadri <i>et al.</i>, (2007)
	Fruits	Huseini <i>et al.</i>, (2013)
	Feuilles	Mollica <i>et al.</i>, (2017)
Anti-obésité	Fruits	Eddouks <i>et al.</i>, (2005)
	Fruits	Lemhadri <i>et al.</i>, (2007)
Réduction du cholestérol	Fruits	Eddouks <i>et al.</i>, (2005)
	Fruits	Jalali <i>et al.</i>, (2016)
	Fruits	Huseini <i>et al.</i>, (2013)
Anti-hyper-tension	Fruits	Ali <i>et al.</i>, (2007)
Anti-microbienne	Racines	Boga <i>et al.</i>, (2011)
	Racines et fruits	Mahboubi et Mahboubi (2014)
	Écorce de tige	Gull <i>et al.</i>, (2015)
	Partie aérienne	Masadeh <i>et al.</i>, (2014)

Anti-inflammatoire	Feuilles	El Azhary <i>et al.</i>, (2017)
	Feuilles	Moutia <i>et al.</i>, (2016)
	Racines	Maresca <i>et al.</i>, (2016)
	Fruits	Hamuti <i>et al.</i>, (2017)
Anti-hépatotoxique	Partie aérienne	Gadgoli et Mishra (1999)
	Partie aérienne	Kazemian <i>et al.</i>, (2015)



CHAPITRE III

Chapitre II : Métabolites secondaires

I. Métabolites secondaires

I.1. Généralités

Les plantes produisent un grand nombre de composés pour lesquels on ne sait pas toujours le rôle qu'ils jouent pour la plante, ces composés ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse mais résultants de réactions chimiques ultérieures, on les appelle donc métabolites secondaires (**Laurent, 2012**). Ces molécules organiques synthétisées par les végétaux à partir des précurseurs originaires du métabolites primaires (acides aminés, hydrates de carbone) par diverses voies et caractérisés généralement par de faible concentration dans les tissus végétaux (**Kaberaet al., 2014**).

Ces produits, à structures chimiques différentes et souvent complexes, sont très dispersés et très différents selon les espèces. Ils sont typiquement produits par des voies différentes et dans un organe, un tissu ou un type cellulaire spécifique et à des stades particuliers du développement (**Anulikaet al., 2016**).

I.2. Classification des métabolites secondaires

Selon leur structure chimique, composition, leur solubilité dans les différents solvants ou leurs voies de biosynthèse, on distingue classiquement trois grandes catégories de métabolites secondaires chez les végétaux :

- Les composés phénoliques ;
- les composés terpéniques ;
- les alcaloïdes et les composés azotés (**Kaberaet al., 2014 ; Anulikaet al., 2016**).
- La Fondation Britannique de nutrition (**Goldberg, 2003**) et (**Guerrieroet al ;2018**), ont séparé les composés contenant du sulfure comme les glucosinolates comme une quatrième catégorie.

I.2.1. Composés phénoliques

II.2.1.1. Biochimie

Les composés phénoliques sont des substances présentes dans tous les végétaux et dans tous les organes de la plante, ils possèdent un noyau aromatique portant un ou plusieurs groupements hydroxyles (**Nacz et Shahidi, 2003 ; Barboni, 2006 ; Sun et al., 2011**).

I.2.1.2. Biosynthèse

La plupart des composés phénoliques sont issus de deux acides aminés essentiels : la phénylalanine et la tyrosine. Ces acides aminés sont synthétisés à partir de la voie de l'acide shikimique. Les précurseurs sont des sucres issus du cycle des pentoses et du cycle de Calvin (Benhamou, 2009).

La première étape de la biosynthèse des composés phénoliques est la désamination de la phénylalanine catalysée par l'enzyme clé phénylalanine ammonia-lyase (PAL). En résulte la synthèse de l'acide cinnamique qui est hydroxylé, réaction catalysée par la cinnamate 4hydroxylase (C4H), pour former l'acide p-coumarique, principal précurseur de la majorité des composés phénoliques (Mathilde, 2013).

2.2.1.3. Principales composées phénoliques

On peut distinguer les différentes classes de polyphénols en se basant d'une part, sur le nombre d'atomes constitutifs et d'autre part, sur la structure du squelette de base (Harborne et Williams, 2000):

✓ Les acides phénoliques

Les acides hydroxybenzoïques : Ces acides sont très communs aussi bien sous forme libre que sous forme combinée à l'état d'esters ou hétérosides (Skergetet *al.*, 2005 ; Bruneton, 2008).

Les acides hydroxycinnamiques : dont les plus abondants sont l'acide p-coumarique, l'acide caféique et l'acide férulique (Macheixet *al.*, 2005).

✓ Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont définis par leur squelette de base constitué de deux cycles aromatiques à 6 atomes de carbone connectés entre eux par un hétérocycle à 3 atomes de carbone (C6-C3-C6) (Bovyet *al.*, 2007). Selon les modifications de l'hétérocycle, ces composés sont regroupés en divers sous-groupes incluant les anthocyanidines, les flavonols, les flavones, les flavanols, les flavanones, les chalcones, les isoflavonoïdes (Treutter, 2006).

✓ Les lignines

Les lignines sont des polymères principaux composants du bois avec la cellulose et l'hémicellulose (Martoneet *al.*, 2009).

✓ Polyphénols complexes (tanins)

Les tanins représentent une classe très importante de polyphénols localisés dans les vacuoles (Aguilera-Carbo *et al.*, 2008). On distingue : les tanins hydrolysables : ce sont des esters du D-glucose et de l'acide gallique ou de ses dérivés, en particulier l'acide ellagique (Cowan, 1999 ; O'Connell et Fox, 2001), et les tannins condensés : les tannins condensés ou

lesproanthocyanidines sont des polymères constitués d'unités flavane reliées par des liaisons entre les carbones C4 et C8 ou C4 et C6 (Bruyne et al., 1999 ; O'Connell et Fox, 2001).

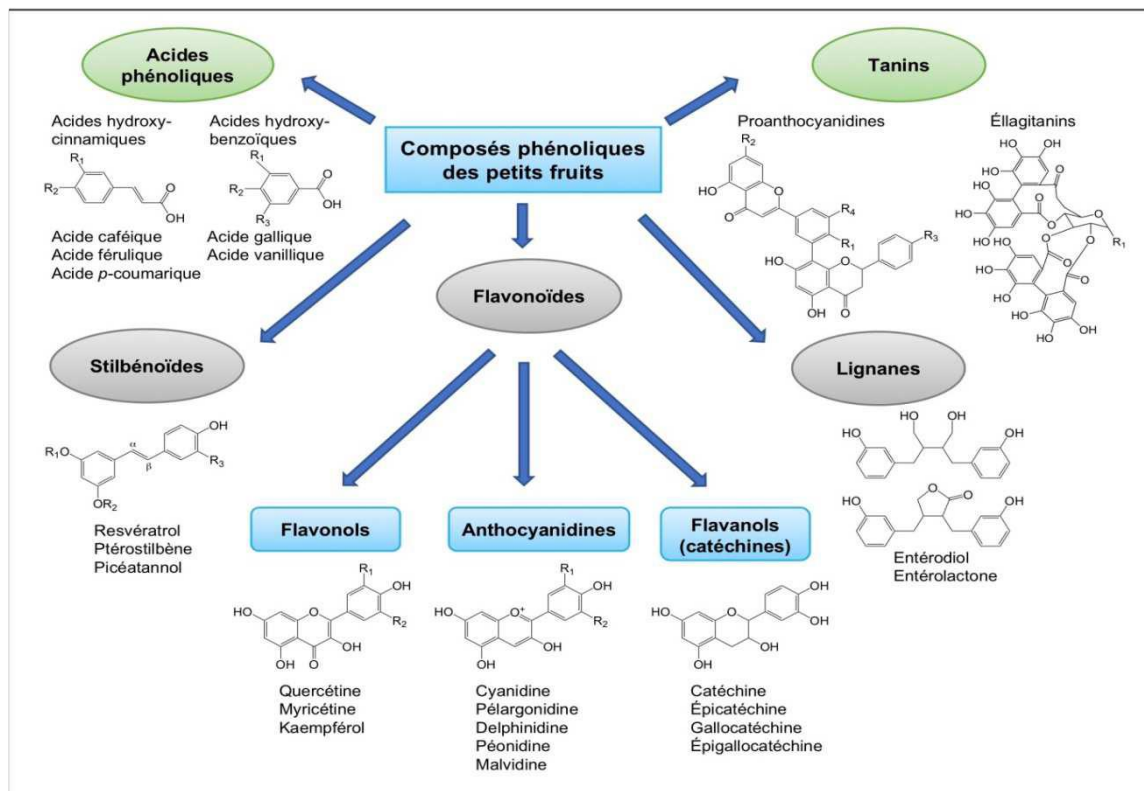


Figure 3 : Principales classes des composés phénoliques.

I.2.2. Terpènes

2.2.2.1. Biochimie

Le terme terpénoïde désigne un ensemble de substances présentant le squelette des terpènes, unité isoprénique à 5 atomes de carbone (C₅H₈) dérivées du 2-méthylbutadiène (Bakkali *et al.*, 2008), avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide...etc.) (Cram et Mahmoud, 1968). Leur classification est basée sur le nombre de répétitions de l'unité de base isoprène : hémiterpènes (C₅), monoterpènes (C₁₀), sesquiterpènes (C₁₅), diterpènes (C₂₀), sesterpènes (C₂₅), triterpènes (C₃₀), tetraterpènes (C₄₀) et polyterpènes (Malecky, 2008).

I.2.2.2. Biosynthèse

Tous les terpènes sont synthétisés à partir du même précurseur, l'isopentyle diphosphate (IPP) et son isomère diméthyl-allyl diphosphate (DMAPP). Ces deux derniers sont synthétisés à

partir de deux voies différentes ; la voie cytosolique et la voie chloroplastique (**Ejzet *al.*, 2017**).

I.2.3. Alcaloïdes et composés azotés

I.2.3.1. Alcaloïdes

A. Définition et structure

Les alcaloïdes sont des substances organiques le plus souvent d'origine végétale, azotées, basiques et douées à faible dose de propriétés physiologiques marquées (**Zenk et Juenger, 2007**). Ils portent tous la terminaison « ine » (**Paris et Hurabielle, 1981**). La plupart des alcaloïdes sont censés pour fonctionner comme des éléments défensifs contre les prédateurs, particulièrement les mammifères en raison de leur toxicité (**Hartmann, 1991**). D'un point de vue biologique, les alcaloïdes présentent diverses activités à faible dose, analgésiques (morphine), anesthésiques locaux (cocaïne), antibactérienne, anticancéreuse... (**Hocquemilleret *al.*, 1982**).

B. Biosynthèse

Dans ces composés, le groupe contenant l'azote a été en général transformé en un hétérocycle, à travers de diverses voies réactionnelles, à partir de la molécule aliphatique d'un acide aminé, et il leur confère un caractère basique. A part la chaîne carbonée d'un acide aminé aliphatique, d'autres éléments peuvent entrer dans la structure moléculaire des alcaloïdes, en particulier des groupes méthyle et acétyle, des unités en C5 et C10 (isoprène, monoterpène), des dérivés de l'acide cinnamique (unité C6 C3) et des composés phénoliques (C6 C1). Il y a souvent deux ou plusieurs atomes d'azote dans la molécule (**Richter, 1993**).

I.2.3.2. Glycosinolates

A. Définition et structure

Les glycosinolates sont des produits naturels contenant du soufre. La structure générale possède une unité β -D glucopyrano connectée à une fonction Z-thiohydroximate anomérique dont l'oxygène est sulfaté et a une chaîne latérale R qui est la seule variable structurale (**Rollin et Tatibouët, 2011**).

Lorsque les cellules de ces plantes sont endommagées, les glycosinolates sont dégradés par l'enzyme myrosinase, et libérant ainsi de nombreuses molécules : des isothiocyanates (ITCs), aussi des nitriles, des thiocyanates et des oxazolidinethiones, selon la structure du glycosinolates (GL) de départ et les conditions physicochimiques de l'hydrolyse (**Montautet *al.*, 2012**).

Les glycosinolates intacts sont relativement inertes, les produits d'hydrolyse par la myrosinase présentant une certaine activité biologique. Les isothiocyanates sont notamment connus parmi des agents chimiopréventifs efficaces (**Hecht, 2000**).



CHAPITRE III

Chapitre III : Les activités biologiques étudiées

I. L'activité anti-oxydante

Nos cellules et tissus peuvent être soumis à une grande variété d'agressions physiques (traumatisme, irradiation, hyper ou hypothermie), chimiques (acidose, toxines) et métaboliques (exposition à des xénobiotiques, privation d'un facteur hormonal ou de croissance). La plupart de ces agressions débouchent sur une expression commune appelée stress oxydant, dû à l'exagération d'un phénomène physiologique, normalement très contrôlé et la production de radicaux dérivés de l'oxygène (**Walker et al., 1982**).

I.1. Stress oxydant

L'oxygène est indispensable à la vie des organismes aérobies où les mitochondries qui en utilisent la majeure partie comme substrat de la chaîne respiratoire pour la production de l'énergie sous forme d'ATP. Ce métabolisme induit la production d'espèces réactives en équilibre avec les systèmes antioxydants (**Roede et Jones, 2010**). Le stress oxydant est communément, défini comme un déséquilibre entre les systèmes oxydants et les capacités antioxydantes d'un organisme, d'une cellule ou d'un compartiment cellulaire (**Barouki, 2006**).

I.2. Radicaux libres

On définit comme radical libre, n'importe quelle molécule indépendante contenant un ou plusieurs électron(s) non apparié(s) sur la couche orbitale la plus externe (**Christopher et al., 1995**) et cherchant la stabilité par appariement avec des électrons arrachés sur les molécules les plus proches. Cette stabilité va entraîner une réaction en chaîne ou la neutralisation d'un radical passe par la création d'un autre (**Dib et Boutarene, 2007**).

L'oxygène est indispensable à la vie de la plupart des êtres vivants, il possède deux électrons non appariés, ceci explique sa grande réactivité. Cependant, la plupart des réactions oxydatives qu'il est susceptible de provoquer spontanément dans un organisme humain sont extrêmement lentes, il est donc peu toxique par lui-même (**Dacosta, 2003**). Mais sous l'action des radiations ionisantes, de rayons UV, de métaux de transition « fer, cuivre...etc. » ou au cours de certaines réactions enzymatiques, des formes hautement réactives de l'oxygène apparaissent, on les désigne souvent comme espèces réactives de l'oxygène (ERO) (**Bouziid, 2009**).

I.3. Différents types des radicaux libres

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux primaires (**Favier, A., 2003**), les

autres RLO, dits radicaux secondaires (Nathalie.C,2014), se forment par réaction de radicaux primaires sur les composés de la cellule (Dwassy.A, 1987).

Il existe deux catégories des radicaux libres (Tableau 3)

Tableau 3 : Principales ERO radicalaires et non-radicalaires (Halliwell . B, 2006).

Espèces réactives de l'oxygène (ERO)	
Dérivé oxygéné radicalaire	Dérivé oxygéné non radicalaire
Radical superoxyde : O ₂ •-	Peroxyde d'hydrogène : H ₂ O ₂
Radical Hydroxyle : OH•	Ion hypochlorite : HOCl
Peroxyde : LO ₂ •	Ozone : O ₃
Alkoxyde : LO•	Oxygène singulet : O ₂
Hydroperoxyde : LOOH•	Peroxynitrite : ONOO-
Radical monoxyde d'azote NO•	

I.4. Sources des radicaux libres

Toute réaction biochimique faisant intervenir l'oxygène moléculaire est susceptible de produire des radicaux libres (Belkacemi.O, 2011). Les radicaux libres sont naturellement présents dans l'organisme et sont générés essentiellement par des mécanismes physiologiques (Valko.M et al, 2004). Il existe de nombreuses sources de forme réactive de l'oxygène (FOR) dont l'importance varie selon les tissus. On distingue deux groupes de (FOR) selon leur origine endogène ou exogène (Dwassy.A, 1987).

I.4.1. Les radicaux libres de source endogène

La mitochondrie est la plus grande source endogène de la production des radicaux libres (Khelfallah.A,2012), en effet neuf enzymes mitochondriales sont responsables d'une production des RL par l'intermédiaire de sa chaîne respiratoire (Favier.A,2003).

- La xanthine oxydase (XO) est une enzyme soluble présente dans le sang, les cellules endothéliales et aussi dans le foie (Bouzi.M.A, 2014), est principalement cytoplasmique (Dwassy.A,1987), qui génère les ERO en réduisant l'hypoxanthine en xanthine et la xanthine en acide urique (Bouzi.M.A,2014), en condition de forte demande d'ATP et de déficit en oxygène (Blandine.G,2006).



- La nicotinamide adénine dinucléotide phosphate oxydase (NADPH oxydase) est une enzyme membranaire (Bouzi.M.A, 2014), qui catalyse la réaction d'oxydation de la

NADPH par le dioxygène (O₂), et produit ainsi du NADP⁺, du H⁺ et des radicaux superoxydes l'O₂^{•-}. (**Dwassy.A,1987**).



• Le réticulum endoplasmique lisse contient des enzymes qui catalysent une série de réactions pour détoxifier les molécules liposolubles et d'autres produits métaboliques toxiques (**Blandine.G, 2006**). Les plus connues de ces enzymes sont les cytochromes P450 (CYP) sont localisent dans le réticulum endoplasmique alors que d'autre se localisent au niveau de la mitochondrie (**Nathalie.C, 2014**), qui catalysent l'hydroxylation de leur substrat RH (**Bouزيد.M.A, 2014**), qui oxyde les acides gras insaturés et les xénobiotiques (**Blandine.G,2006**), en utilisant le NADPH comme donneur d'électrons :



• Les peroxyosomes c'est une importante source de production d'H₂O₂ cellulaire (**Blandine.G, 2006**), cet organite contient de nombreuses enzymes (oxydases), Ces enzymes oxydent leur substrat en utilisant le dioxygène comme accepteur final de l'électron (**Nathalie.C, 2014**).



I.4.2. Les radicaux libres de source exogène

Des facteurs exogènes liés à l'environnement ou au mode de vie sont également à l'origine d'une augmentation du stress oxydant par l'accumulation de radicaux libres dans l'organisme (**Zerargui.F, 2015**).

- les ultraviolets et les rayonnements ionisants sont responsables de la formation de l'oxygène singlet (**Bouزيد.M.A, 2014**).
- L'âge ; avec l'âge les cellules sont moins actives et produisent ainsi beaucoup plus de RLO (**Nathalie.C, 2014**).
- les métaux toxique (Chrome, vanadium) ainsi que le fer et le cuivre issus de l'alimentation et certains composés phénolés(**Valko .M et al, 2004**).
- Les antibiotiques anticancéreux, tels que les anthracyclines, sont également capables de générer des radicaux libres. La formation d'espèces radicalaires serait responsable de leur mode d'action anticancéreux et de leur toxicité (**Nathalie.C, 2014**).

I.5. Rôle physiologique des radicaux libres

Du fait de l'importance de l'oxygène dans les systèmes biologiques, en situation physiologique, les espèces réactives sont créées en continu dans l'organisme (**Sekli-Belaidi.F, 2011**). Elles participent à divers processus vitaux tels que (**Nathalie.C, 2014**) :

➤ Les radicaux libres sont impliqués dans le mécanisme de la contraction musculaire (**Bouزيد.M.A,2014**), les radicaux H₂O₂ favorisent la libération du Ca²⁺ au niveau du

réticulum sarcoplasmique et stimulent l'ouverture des canaux calciques (Nathalie.C,2014). Elles agissent sur le couplage excitation –contraction au niveau des fibres musculaires (Bouziid.M.A, 2014).

➤ Les radicaux libres jouent un rôle dans le déroulement de la réaction immunitaire (Nathalie.C, 2014). La phagocytose des bactéries et des parasites par les macrophages ou les polynucléaires s'accompagne d'une production d'espèces réactives de l'oxygène (Favier.A et al,2003).

➤ Les radicaux libres induisent l'expression de nombreux gènes par l'intermédiaire d'une part des voies de signalisation impliquant les MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinases) (Bouziid.M.A,2014), aussi agissent plus directement sur les facteurs de transcription comme l'AP-1 (Activator protein 1) et le NF-KB (Nuclear Factor Kappa B) (Favier.A et al,2003).

I.6. Cibles des radicaux libres

Lors d'un stress oxydant, les ERO non « détoxifiés » par le système antioxydant attaquent et endommagent par oxydation les macromolécules contenues dans les cellules, notamment les lipides, les protéines et l'ADN... directement à leur contact (Koechlin- Ramonatxo, 2006).

Les lipides et principalement leurs acides gras polyinsaturés sont la cible privilégiée de l'attaque par le HO·. Ce dernier est capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons. Cette réaction est appelée peroxydation lipidique qui aboutit à la formation de nombreux dérivés toxiques. Parmi ces dérivés, le malondialdéhyde ayant une demi-vie plus longue que celle des radicaux libres et qui diffuse facilement. Il peut former des liaisons avec les bases de l'ADN et est lui-même mutagène, et il provoque aussi une augmentation croissante de la perméabilité des membranes cellulaires induisant une altération irréversible des propriétés fonctionnelles de la cellule, pouvant aller jusqu'à la lyse complète (Fontaine, 2007 ; Miwa et al., 2008).

Les protéines sont aussi sensibles aux attaques radicalaires. Les radicaux libres sont capables de réagir avec différents acides aminés des chaînes des protéines. Les plus sensibles à leur action sont les acides aminés aromatiques tels que le tryptophane, la tyrosine et l'histidine, sur lesquels le OH· s'additionne, modifiant la conformation de la protéine (Schnackenberg, 2002). Sur les acides aminés contenant un atome de soufre tels que la cystéine et la méthionine, l'oxydation par les radicaux libres conduit à la formation de ponts disulfures. De nombreux enzymes cellulaires et protéines de transport vont ainsi être oxydés et inactivés. Les protéines modifiées par oxydation perdent leurs propriétés

biologiques, et deviennent beaucoup plus sensibles à l'action des protéases (**Důračková, 2008**).

L'ADN est une molécule très sensible à l'attaque par les radicaux de l'oxygène. L'attaque radicalaire peut entraîner l'oxydation des bases, engendrant un grand nombre de bases modifiées, mais le stress oxydant peut aussi attaquer la liaison entre la base et le désoxyribose, créant un site abasique, ou attaquer le sucre lui-même, créant une coupure de chaîne simple brin (**Fontaine, 2007 ; Orban, 2007**).

I.7. Antioxydants

I.7.1. Définition d'un antioxydant

Un antioxydant peut être défini comme étant toute substance qui, lorsqu'elle est présente à des faibles concentrations par rapport à ceux d'un substrat produit par les oxydants, les radicaux libres, les métabolites réactifs de l'oxygène, retarde considérablement ou empêche l'oxydation de ce substrat (**Ben Chibane T. 2013**).

I.7.2. Principaux antioxydants

✓ **Acides phénoliques**

L'acide phénolique est un composé qui possède au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Il est divisé en deux groupes : hydroxybenzoïques et cinnamiques (**Bruneton, 1999**). Le pouvoir antioxydant des acides phénoliques réside dans leur capacité à piéger les radicaux libres (**Ouerdane et Ramdani, 2007**).

✓ **Flavonoïdes**

Les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et ils possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbone constitué de deux unités aromatiques, de cycle en C₆ (A et B), reliés par une chaîne en C₃ (**Bruneton, 1999**).

Les flavonols, fait partie des flavonoïdes, sont aussi connus par leur effet antioxydant très puissant. Ils possèdent en plus des hydroxydes en 6 ou 8 colorent certaines fleurs au jaune primevère. Parmi les flavonols les plus répandus, on trouve le kaempférol, le quercétol ces deux flavonols sont incolores ; le myricétol est l'isorhamétol (**Alais et Linden, 1997**).

Les flavonoïdes peuvent agir de différentes façons dans les processus de régulation du stress oxydant : par capture directe des espèces réactives de l'oxygène, par chélation de métaux de transition comme le fer (empêchant ainsi la réaction de Fenton) ou par inhibition de l'activité de certaines enzymes responsables de la production des ERO comme la xanthine oxydase (**Boussoualim, 2014**).

✓ **Caroténoïdes**

Les caroténoïdes constituent une famille de pigments liposolubles largement répandue dans le règne végétal responsable de la couleur jaune, orange ou rouge des fruits et légumes. Grâce à leur longue chaîne carbonée, riche en double liaisons. Ils sont capables d'inactiver l'oxygène singulet et les radicaux libres en neutralisant l'électron non apparié, les transformant ainsi en molécules ou ions stables (**Goudable et Favier, 1997**).

✓ **Tanins condensés**

Les tanins sont des oligomères ou polymères de flavan-3-ols qui ont la propriété de libérer des anthocyanes en milieu acide à chaud par rupture de la liaison inter monomérique. Les formes naturelles monomériques des flavan-3-ols se différencient par la stéréochimie des carbones asymétriques C₂ et C₃ et par le niveau d'hydroxylation du noyau B.

On distingue ainsi les catéchines (dihydroxylées) et des gallocatéchines (trihydroxylées) (**Porter et al., 1986**). Les tanins réagissent comme antioxydants puissants contre les radicaux libres en les transformant en molécules stables (**Boussoualim, 2014**).

✓ **Acide ascorbique**

L'acide ascorbique ou la vitamine C, est une vitamine hydrosoluble et localisée dans le cytosol et le fluide extracellulaire, elle capte directement l'O₂⁻ et l'OH⁻. Elle empêche l'oxydation des LDL produites par divers systèmes générateurs d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) (**Boussoualim, 2014**).

✓ **Vitamine E**

La vitamine E est constituée de quatre isomères de tocophérol, α, β, γ et δ, avec une activité antioxydante variable (Limbach et Guillard, 2007). La forme α est la plus active, elle est liposoluble et se fixe à la membrane cellulaire et inhibe la chaîne de réactions de peroxydation des lipides en capturant un radical lipidique peroxy (LOO^o). Elle devient à son tour un radical moins actif que le LOO^o et pourra alors être pris en charge par une autre molécule antioxydante (**Boussoualim, 2014**).

✓ **Enzymes**

Il s'agit principalement de trois enzymes : la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPx). Ces enzymes ont une action complémentaire sur la cascade radicalaire au niveau du superoxyde (O₂^{•-}) et du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), conduisant finalement à la formation de l'eau et de l'oxygène moléculaire (**Manallah, 2012**).

II. Activité antibactérienne

Les bactéries sont responsables de diverses infections dans les organismes vivants. Les chercheurs ont espéré pouvoir éradiquer certaines maladies avec la découverte des

antibiotiques. Malheureusement la large utilisation de ces médicaments a généré une résistance croissante des bactéries face aux antibiotiques. Dans cette perspective, il y a eu un grand intérêt pour la recherche de nouvelles substances biologiquement actives et efficaces comme alternative à partir des ressources naturelles.

II.1. Définition

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires classés parmi les procaryotes car ils ne possèdent pas de membrane nucléaire. Ce caractère les distingue des autres organismes unicellulaires, classés parmi les eucaryotes (champignons, algues, et protozoaires). Elles sont divisées en bactéries proprement dites (Bacteria) et bactéries primitives (Archaea). Toutes les bactéries rencontrées en pathologie appartiennent aux Bacteria. Ces dernières ont généralement un diamètre inférieur à 1µm. On peut les voir au microscope optique, à l'état frais ou après coloration. Leur forme peut être sphérique (cocci), en bâtonnet (bacilles), incurvée (vibrions) ou spiralée (spirochètes). Les détails de leur structure ne sont visibles qu'en microscopie électronique (**Lozniewski et Rabaud , 2010**).

II.2. Culture des bactéries

On utilise habituellement, pour cultiver les bactéries, des milieux complexes à base d'extraits ou d'hydrolysats enzymatiques de viande. Ces milieux peuvent être liquides (bouillons) ou solides. La solidification des milieux est obtenue par l'addition de l'agar, un extrait d'algues qui a la propriété de fondre à l'ébullition et de se solidifier à des températures inférieures à 40°C. En milieu liquide, les bactéries se dispersent librement et leur multiplication se traduit par un trouble, le plus souvent homogène. Sur un milieu solide, lorsque la quantité de bactéries est faible, chaque bactérie va pouvoir se multiplier sur place jusqu'à former un amas de bactéries visible à l'oeil nu, que l'on appelle colonie (Si la densité bactérienne est trop élevée dans l'échantillon ensemencé, les colonies sont confluentes et forment une nappe.). L'emploi de milieux solides permet ainsi le dénombrement des bactéries viables dans un échantillon (**Lozniewski et Rabaud , 2010 ; Nauciel et Vilde 2005**).

II.3. Activité antimicrobienne des extraits des plantes

L'utilisation des antibiotiques conduit dans la très grande majorité des cas à la sélection de populations microbiennes résistantes. Cette résistance est due à des mutations chromosomiques ou à l'acquisition de gènes de résistance portée par des éléments génétiques mobiles (plasmides, phages, transposons et intégrons). Ces résistances ont conduit à chercher de nouveaux agents antimicrobiens possédant une efficacité plus importante que les drogues synthétiques, d'une part et bien acceptés par l'organisme d'autre part (sans exercer des effets délétères sur la santé humaine) (**Garcia-Ruiz A, et al ; 2008 ; Kempf S, 2009**).

Beaucoup de groupes de recherches ont étudié l'activité antimicrobienne des extraits de plantes médicinales telles que fenel (*Foeniculumvulgare*), peppermint (*Menthapiperita*) et thyme (*Thymus vulgaris*), ils ont trouvé que ces extraits sont actifs non seulement contre les bactéries mais aussi contre les champignons, les levures et les virus (**Xia E.Q,et al ;2011 ;Jürgen R , et al ; 2009**).

D'autres groupes de chercheurs ont franchi une étape plus loin, ils ont isolé et identifié les métabolites responsables de l'activité antimicrobienne des extraits de plantes, cette étape constitue une plateforme pour plusieurs implications incluant l'industrie pharmaceutique ,la médecine alternative, et la thérapie naturelle (**Huang Guangrong ,et al ;2008**)

II.4. Agents antibactériens

Un agent antibactérien désigne tout facteur qui contrôle le développement d'une population bactérienne. Il est dit « bactériostatique » lorsqu'il crée un état d'inhibition momentanée de la multiplication bactérienne ou dit « bactéricide » lorsqu'il détruit totalement les bactéries (**Hardy, 2002**).On distingue quatre catégories des agents antibactériens : agents physiques, agents chimiques, agents chimio-thérapeutiques, et agents naturels (**Boussoualim,2014**).

II.4.1. Agents antibactériens naturels

✓ **Polyphénols**

- **Phénols simples et acide phénolique** : ces substances montrent, en effet, une importante toxicité envers les microorganismes par la modification des propriétés physiques en s'intercalant dans la bicouche membranaire (Taylor, 2013). Les sites et le nombre des groupements OH sur les phénols seraient en relation avec cette toxicité. Cet effet antimicrobien augmente avec le nombre des groupements OH. Il concerne probablement l'inhibition de certaines enzymes via des réactions avec leurs groupements sulfhydriles ou par des interactions non spécifiques avec ces dernières (**Cowan, 1999 ; Pistelli et Giorgi, 2012**).
- **Quinones** : les protéines d'adhésion de surface, les polypeptides de la paroi et les enzymes membranaires de la cellule microbienne sont les cibles probables des quinones (**Cowan, 1999**).
- **Flavonoïdes** : les flavonoïdes exercent leurs effets via trois mécanismes :
L'inhibition de la synthèse des acides nucléiques, inhibition de la fonction des membranes cytoplasmiques et aussi l'inhibition du métabolisme énergétique (**TimCushine et Lamb, 2005**).

- **Tannins** : ces composés sont caractérisés par une capacité à bloquer la membrane cytoplasmique par l'inactivation des adhésines de surface, les enzymes et les protéines de transport membranaires (**Okuda, 2005**).

✓ **Alcaloïdes :**

Le mécanisme d'action est attribué à sa capacité à intercaler l'ADN (**Boussoualim, 2014**).

✓ **Huiles essentielles**

Les huiles essentielles sont biosynthétisées par les végétaux supérieurs en réponse à des conditions de stress et surtout pour combattre les agents infectieux ou parasitaires. Les principaux mécanismes et sites d'action des différents constituants des huiles essentielles sont : l'altération de la paroi cellulaire, la dégradation de la membrane cytoplasmique, l'altération des protéines membranaires, la fuite du contenu cellulaire, la coagulation du cytoplasme et l'épuisement de la force de mouvement des protons (**Goetz et Ghedira, 2012**).

✓ **Polypeptides**

La plupart des peptides inhibiteurs de la croissance des microorganismes agissent par la formation de canaux ioniques dans la membrane microbienne ou par inhibition compétitive de l'adhésion des protéines microbiennes aux polysaccharides des récepteurs de la cellule hôte (**Yang et al., 2006**).

II.4.2. Agents chimio-thérapeutiques (antibiotiques)

Les antibiotiques sont, par définition, « des produits microbiens, ou leurs dérivés, capables de tuer les micro-organismes sensibles ou d'inhiber leur croissance » (**Prescott et al., 1995**) ; ceux qui inhibent la croissance bactérienne sont qualifiés de « bactériostatiques » alors que ceux qui tuent les bactéries sont dits « bactéricides » (**Guinoiseau, 2010**).

L'étendue de l'activité antibactérienne d'un antibiotique définit son spectre d'action. Plus un antibiotique agit sur des espèces bactériennes différentes, plus son spectre est large (**Guinoiseau, 2010**). Le mode d'action des antibiotiques est connu car ils sont développés en fonction de leur cible (**Belkhiri, 2009**). On les classe d'ailleurs selon leur mécanisme de destruction de la cellule bactérienne (**Pibiri, 2006**) :

- 1- Antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi bactérienne.
- 2- Antibiotiques inhibant la synthèse de la membrane cytoplasmique.
- 3- Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse protéique.
- 4- Antibiotiques inhibiteurs du métabolisme des acides nucléiques et de la synthèse de l'ADN.
- 5- Antibiotiques agissant par inhibition compétitive.

II.5. Description des bactéries étudiées

Les bactéries représentent un groupe étonnamment complexe et fascinant. Ce sont des organismes cellulaires simples appelés Procaryotes qui ne contiennent pas de noyaux et qui sont d'habitude trouvés en très grand nombre parce qu'ils peuvent se multiplier rapidement. Bien que les bactéries soient microscopiques, on distingue différentes morphologies. Les plus communes sont les tiges, les coccidies (circulaire) et la spirale. Elles peuvent être grandes, petites, ovales grosses, longues, courtes ou encore plus épaisses. Les bactéries peuvent être divisées en deux groupes (Gram positif et Gram négatif), basés sur la différence de la structure et de la composition chimique de la paroi cellulaire.

a) *Escherichia coli*

C'est une bactérie à Gram négatif, commensal du tube digestif de l'homme et de l'animal et qui appartient à la famille des Entérobactéries. Elle est de forme non sporulée, de type aérobie facultative et généralement mobile grâce aux flagelles. Sa longueur varie de 2 à 6 μm alors que sa largeur est de 1,1 à 1,5 μm . *E. coli* représente la bactérie la plus impliquée dans les infections aiguës de l'appareil urinaire, elle provoque également les diarrhées d'été, diarrhée infantile et les intoxications alimentaires (**Kaper J.B, et al ;2004**)

b) *Staphylococcus aureus*

Ce sont des cocci Gram positif appartenant à la famille des Micro coccaceæ avec un diamètre de 0,5 à 1,5 μm , de forme non sporulée qui tendent à se grouper en paires et en petites chaînes et habituellement non capsulée ou possédant des capsules limitées. Elles sont anaérobies facultatives. *Staphylococcus aureus* représente l'agent commun des infections postopératoires de blessures, endocardite aiguë et intoxication alimentaire (**Dworkin et Falkow ,2006**).

c) *Pseudomonas aeruginosa*

Ce sont des bacilles Gram négatif, de forme non sporulée, elles sont aérobies et mobiles grâce à la présence de 1 à 2 flagelles. Ces bactéries synthétisent deux principaux types de pigments pyocyanine : bleue phénazine, pyoverdine : jaune vert. Il s'agit de bactéries résistantes à plusieurs antibiotiques (**Percival S, et al ;2006**). *Pseudomonas aeruginosa* est responsable de 16% des cas de pneumonie nosocomiale, 12% des infections urinaires et 8% des infections suites aux blessures chirurgicales (**Van Delden et Iglewski ,1998**).



ETUDE
EXPERIMENTALE



CHAPITRE I

Chapitre I : Matériel et méthodes

Le travail expérimental, ayant pour objet l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante, antibactérienne de nos extraits de la plante médicinale *Capparis spinosa L.* La partie expérimentale a été réalisée au niveau du laboratoire de biologie à l'université Abbes Laghrour - Khenchela- pendant le mois de mai 2021.

I. Matériel

I.1. Matériel biologique

I.1.1. Matériel végétal

L'espèce sélectionnée *Capparis spinosa L.* a été récoltée de la région Khirane et El Aamra en Avril 2021 (Khenchela) (**Tableau 4**) et identifiée par Dr. Zeraeb Azzeddine, Maître de conférences à la faculté de sciences de la nature et de la vie, à l'université Abbés Laghrour - Khenchela.

Le matériel végétal utilisé dans le présent travail, comporte la partie aérienne de la plante récoltée *Capparis spinosa L* qui a été ensuite séchée à l'abri de l'humidité et de la lumière du soleil pendant un mois puis pulvérisée au broyeur pour obtenir une poudre fine conservée dans un flacon en verre hermétiquement fermé.

Tableau 4 : Les coordonnées géographiques du site de récolte.

	Localisation	Altitude	Latitude	Longitude	Etage Bioclimatique
Al-Aamra	Checher-khenchela- Algérie	759 m	34°55'13"N	7°01'49"E	Aride et humide dans les hauts plateau
Khirane	Chercher-khenchela- Algérie	620 m	34°59'57"N	6°45'25"E	

I.1.2. Souches bactériennes

Afin de tester le potentiel antibactérien des extraits organiques issus du *Capparis spinosa L*, *in vitro*, trois souches bactériennes ; deux souche Gram négatif: *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* et une souche Gram positif: *Staphylococcus aureus*, ont été utilisées. Les souches proviennent du Laboratoire pédagogique d'université Abbes Laghrour-Khenchela.

I.2. Réactifs chimiques et instrumentations

Plusieurs réactifs chimiques et solvants ont été utilisés dans nos expériences, parmi ces produits: méthanol, n-butanol, éther de pétrole, acétate d'éthyle, chloroforme, toluène, acétone, acide acétique, acide acétique glacial, FeCl₃, HCl, NaOH, NH₄OH, I₂, NaCl, AlCl₃, le réactif chimique DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl).

Parmi l'appareillage utilisé : Spectrophotomètre (Spectrum SP-UV 2005), Chambre d'observation UV « 264/365 nm » (VILBER LOURMAT), Bain Marie (nüve bath, MEMMERT), Etuve universelle de 5 à 220°C avec ventilation (MEMMERT), Agitateur magnétique (SCIOGEX), Vortex (VELP), Balance analytique (OHAUS), balance (KERN PCB), Réfrigérateurs (Liebherr), Plaque chauffante (LabTech) et autoclave (Raypa) .

II .Méthodes

II.1. Etude phytochimique

II.1.1.Préparation de l'extrait méthanolique brut

300g de la poudre de la partie aérienne de *Capparis spinosa L* sont mises à macérer dans un mélange méthanol/eau distillée (7:3) pendant 24heures. L'extrait hydroalcoolique est récupéré dans un premier temps après filtration du mélange. Cette opération est répétée trois fois avec renouvellement du solvant (Tadeg *et al.*, 2005). Le méthanol est ensuite éliminé du filtrat par évaporation sous pression réduite via un rotavapeur à une température de 45 °C (Figure 4) dont l'extrait obtenu a été conservé à -4°C jusqu'à son utilisation.



Figure 4 : Photo du Rotavapeur utilisé pour sécher l'extrait méthanolique brut.

II.1.2. Fractionnement de l'extrait méthanolique brut

L'extrait méthanolique brut est mélangé avec de l'eau distillée bouillante (600ml) et laissé à température ambiante pendant 24 heures. Après filtration, l'extrait brut est épuisé par des extractions liquide-liquide successives par 3 solvants organiques de polarité croissante (éther de pétrole, acétate d'éthyle et n-butanol) (**Figure 5**). Les différentes étapes de cette extraction sont résumées dans le protocole expérimental (**Figure 6**).



Figure 5: Photos montrant l'extraction liquide-liquide .

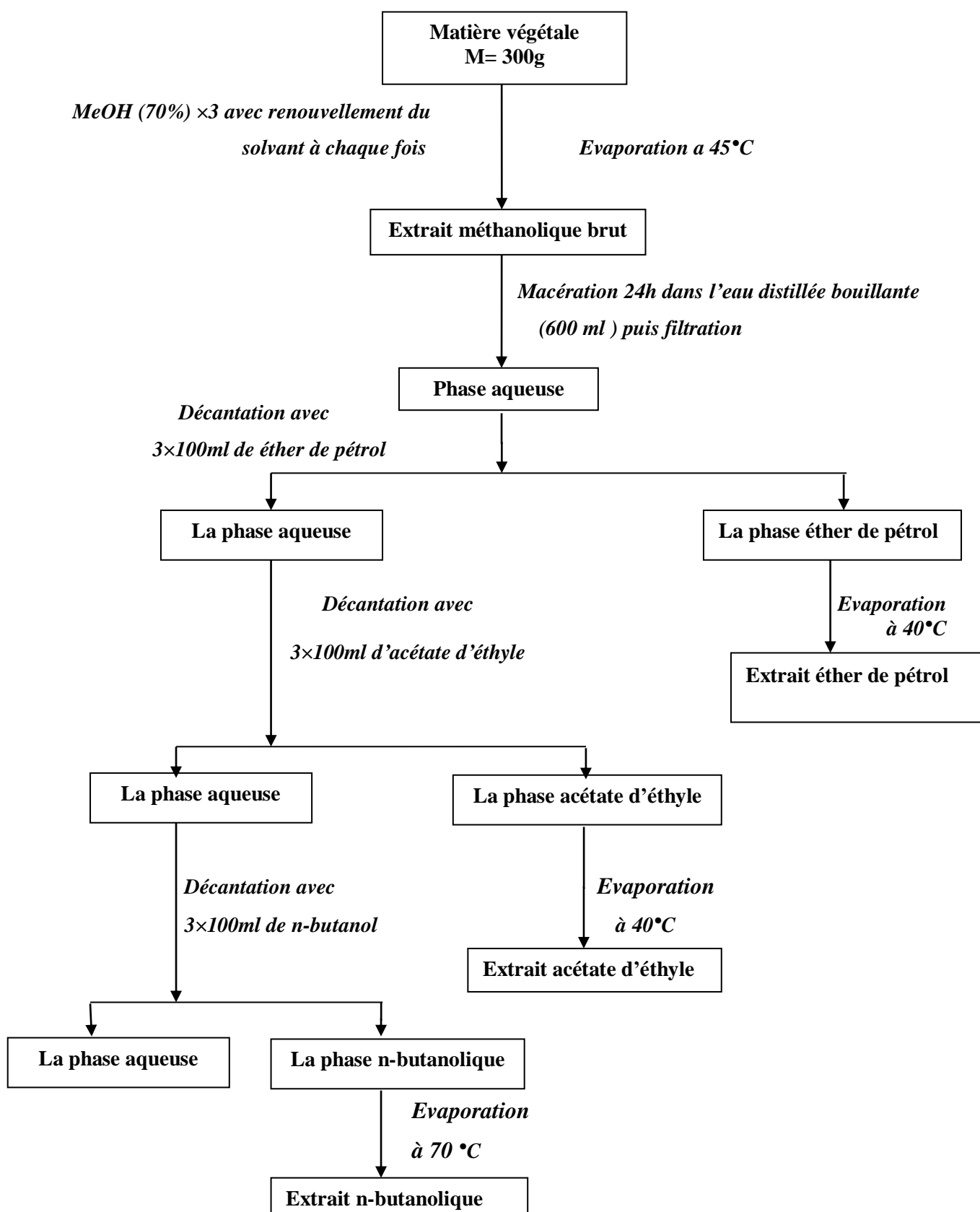


Figure 6 : Protocole expérimental résumant les différentes étapes du fractionnement des flavonoïdes.

II.1.3. Détermination du rendement d'extraction

Le résidu ou la poudre obtenus des extraits d'éther du pétrole, d'acétate d'éthyle et de n butanol sont pesés pour la détermination du rendement selon la formule suivante :

$$\text{Rendement d'extraction (\%)} = \text{Ps} / \text{Pp} \times 100$$

Où :

Ps: Poids de l'extrait sec en gramme (g)

Pp: Poids de la poudre en gramme (g).

II.1.4. Screening phytochimique

Le screening chimique est un ensemble de réactions chimiques qui permettent d'identifier la présence des principales catégories des substances chimiques naturelles contenues dans une plante et responsables de propriétés pharmacologiques.

Les tests phytochimiques qualitatifs sont réalisés sur l'extrait méthanolique brut du *Capparis spinosa L* et les résultats obtenus ont été évalués comme suit :

+ : Positif ; - : Négatif ; ND : Non déterminé.

➤ Recherche des tanins

2 à 3 gouttes de la solution de FeCl₃ à 2%, sont ajoutées à 2 ml de l'extrait brut méthanolique. La solution obtenue est reposée pendant quelques minutes et le test est considéré positif s'il y a l'apparition d'une coloration bleue-noire et un précipité (Akrou, A., 2011).

➤ Recherche des saponosides

✓ **Test 1** : 5 ml de l'extrait brut méthanolique sont mélangés avec 1 ml d'eau distillée pendant 2 min. La formation d'une mousse persistante après 15 min confirme la présence des saponosides (Karumiet al., 2004).

✓ **Test** : 5 ml de l'extrait sont mélangés avec 2 ml de chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique concentré. Une couleur rouge-marronne de la couche d'interface indique la présence des triterpènes hétérosidiques (Edeogaet al., 2005).

➤ Recherche des flavonoïdes

5 ml de l'extrait méthanolique sont traités avec quelques gouttes d'AlCl₃ (1%). La présence des flavonoïdes est confirmée par l'apparition d'une couleur jaune (Benmehdi, 2001)

➤ **Recherche des coumarines**

L'extrait sec est dissous dans l'eau distillée par chauffage, après refroidissement, la solution obtenue est répartie dans 2 tubes à essai. Le premier sert de témoin et on ajoute 05 ml de NH₄OH 10% dans le 2^{ème} tube. L'apparition d'une fluorescence bleue ou verte à la lampe UV 365 nm indique la présence des coumarines (Ciulei, 1982 ; Wagner et Blatt, 1996).

➤ **Recherche des composés réducteurs**

Ce test est basé sur la réaction de Keller-Kiliani, 5 ml d'acide acétique contenant des quelques fragments de FeCl₃ et 5 ml d'acide sulfurique contenant des fragments de FeCl₃ sont ajoutés à 1 ml de l'extrait. La présence des composés réducteurs est confirmée par la formation de deux phases, une colorée en brun rouge (acide acétique) et la deuxième en bleu-vert (acide sulfurique) (Yrjönen, 2004).

➤ **Recherche des alcaloïdes**

Ce test est fait pour révéler la présence ou l'absence des alcaloïdes sels 5 ml d'HCl (2N) sont ajoutés à l'extrait et chauffer dans un bain marie. Après la filtration, le filtrat est traité avec le réactif de Wagner (2g de KI et 1,27g d'I₂ solubilisé dans 1 ml d'eau distillée). La présence de turbidité ou de précipitation indique la présence des alcaloïdes sels (Mohammedi, 2006).

II.2. Séparation chromatographique sur couche mince (CCM)

- **Principe**

La CCM repose 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 rechercher, et leur affinité vis-à-vis la phase stationnaire qui peut être un gel de silice ou de polyamide. Les techniques chromatographiques ne sont pas suffisantes pour identifier un produit mais elles apportent des renseignements (Rapport frontal - R_f – et coloration) susceptibles d'orienter vers une hypothèse de structure (Zeghad, 2009).

- **Protocole de CCM sur gel de silice**

Les analyses par CCM ont été effectuées avec des plaques de silica gel, sur support rigide en aluminium 10x10cm. L'extrait (n-butanolique et acétate déthyle) est déposé à l'aide d'une micropipette (2 µl) à des points repères à 1.5 cm du bord inférieur de la plaque. Ensuite, les plaques ont été placées dans les cuves de développement dans lesquelles se trouve un système de solvants approprié appelé phase mobile, à environ 0,5 cm de hauteur.

Différents systèmes de solvants ont été essayés pour définir ceux qui donnent les meilleures séparations (**Tableau 5**). Pour notre extrait, 8 systèmes de solvants ont été essayés, et 3 systèmes ont été réussis :

Tableau 5 : Différents systèmes de solvants essayés et choisis pour la présente étude.

Systèmes	Systèmes solvants	Pourcentages
Systèmes Essayés	Butanol/acide acétique/eau distille	(4/1/5)
	Acétate d'éthyle/acide formique/acide acétique/eau distille	(100/11/11/26)
	Acétate d'éthyle/acide acétique glaciale/ acide formique/eau distille	(100/11/11)
	Butanol/acide acétique/eau distille	(2/3/5)
	Acétone/eau distillée	(1/1)
	Acétate d'éthyle/acide formique / acide acétique/ eau distille	(100/11/11/26)
	Acétate d'éthyle/ acide acétique glaciale/acide formique / eau distille	(100/11/11)
	Dichlorométhane/méthanol	(86/15)
Systèmes Choisis	Acide acétique/toluéne /méthanol	(3/5/1)
	Eau distillée/chlorophorme/méthanol/	(5/85/10)
	n-butanol/ acide acétique/ eau distillée	(4/1/5)

Après développement dans une cuve en verre et séchage, les plaques ont été observées sous lampe UV à 254 et 365 nm. Les couleurs des spots ont été enregistrées ainsi de même pour les R_f.

• **Révélation**

Après développement, les plaques ont été séchées, puis visualisées séparément par une lampe UV à 254 et 365 nm dans une chambre noire. Les rapports frontaux (R_f) des spots issus de la séparation ont été calculés selon le rapport suivant:

$$R_f = d / D$$

d: Distance parcourue par la substance.

D: Distance parcourue par le solvant.

Ce facteur permet de mentionner une information préliminaire sur la structure des substances des flavonoïdes en comparant avec des étalons.

La distance de migration des substances dépend essentiellement de leur polarité (Zeghad, 2009) :

- Les polyhydroxyflavones ont des faibles valeurs de Rf (0,00-0,25) ;
- Les oligohydroxy et les oligométhoxyflavones ont des valeurs de Rf comprises entre (0,3-0,5) .
- Les flavanones, les flavonols, méthoxyflavones ont les valeurs les plus élevées de Rf (0,5-0,75).

II.3. Étude *in vitro* des Activités biologiques

II.3.1. Evaluation de l'activité antioxydante

II.3.1.1. Principe de l'essai

La capacité de l'extrait à piéger les radicaux libres a été déterminée par une méthode colorimétrique, simple et rapide ; la méthode de Koleva (Koleva *et al.*, 2002) qui utilise le radical libre 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH•) qui, à l'état stable, possède une coloration violette foncée qui absorbe à 517 nm. La réduction des radicaux DPPH• par un agent antioxydant entraîne une décoloration de la solution en jaune pâle (Figure 7).

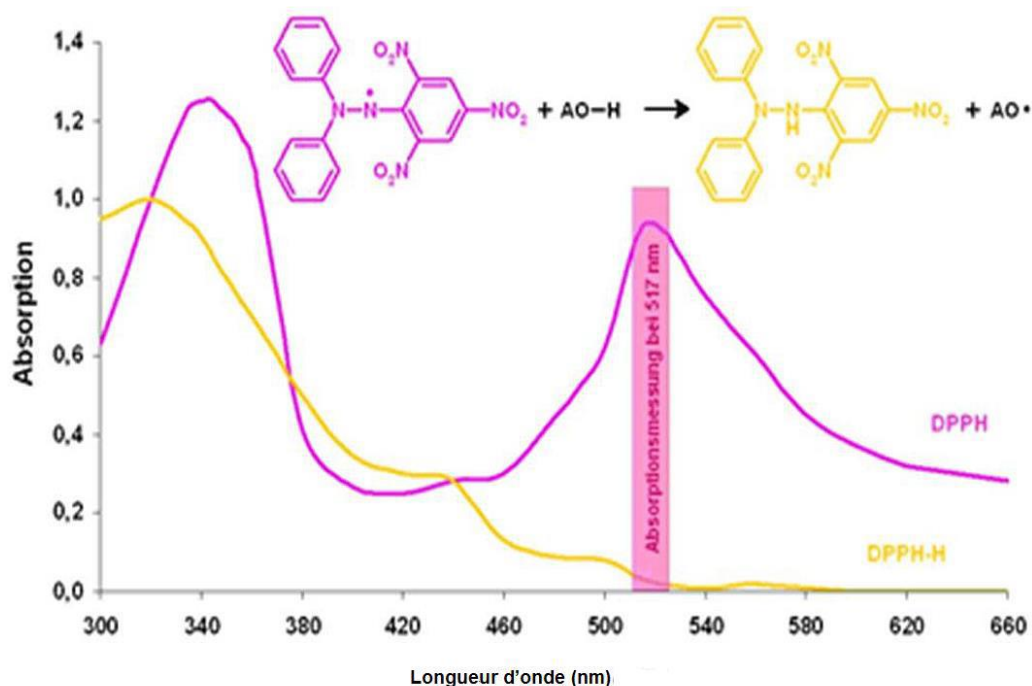


Figure. 7: Graphique montrant le changement de couleur de DPPH du violet au jaune quand il est exposé à une substance antioxydante (Pérez et Aguilar, 2013)

II. 3.1.2. Réalisation de l'essai

L'activité anti-radicalaire des différents extraits de *Capparis spinosa* a été évaluée, *in vitro*, par le test de DPPH. Cette méthode spectrophotométrique utilise le radical DPPH° (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette comme réactif, et qui vire au jaune, en présence des capteurs de radicaux libres, et se réduit en 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazine (Cuendet *et al.*, 1997; Burits et Bucar, 2000).

Le DPPH° 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (C₁₈H₁₂N₅O₆) a été solubilisé dans du méthanol absolu pour avoir une solution de 100µM. A partir d'une solution méthanolique mère de C1= 10 mg/ml de l'extrait, les dilutions suivantes ont été préparées : C2:8 mg/ml, C3: 6 mg/ml, C4: 4 mg/ml, C5: 2mg/ml.

Ceci permet de suivre la cinétique de décoloration à 517 nm. 15µl de chacune des différentes concentrations des extraits ont été incubés avec 1.5 ml d'une solution méthanolique de DPPH°. Après une période d'incubation de 30 minutes, les densités optiques des mélanges réactionnels ont été mesurées par le spectrophotomètre à 517 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions par le méthanol.

II.3.1.3. Expression des résultats:

Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition (% PI) et par la valeur d'IC50.

Le % PI du DPPH° a été calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ PI du DPPH}^\circ = [(A_B - A_E) / A_B] \times 100$$

L'IC50 (concentration inhibitrice de 50 %) appelée aussi EC50 (Efficient concentration 50), concentration de l'extrait ou du standard qui permet la réduction de 50 % de DPPH. L'IC50 a été calculé graphiquement par le pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations de l'extrait testé (Molyneux, 2004). Une courbe de régression linéaire ($y = ax + b$) a été établie afin de calculer l'IC50 qui permettra la caractérisation du pouvoir antioxydant de l'extrait. Une faible valeur de l'IC50 indique une forte activité antioxydante (Saffidine, 2015).

II.3.2. Etude de l'activité antibactérienne

Dans cette partie, nous recherchons des composés antibactériens synthétisés par la plante médicinale *Capparis spinosa* L connue pour leurs propriétés thérapeutiques. Nous avons utilisé la technique de diffusion en milieux gélosés sur boîtes de pétri en adaptant la méthode de disques décrite par Bauer *et al* ; (1966).

II.3.2.1. Méthode des disques -Tests d'efficacité-

L'étude du pouvoir antibactérien de l'Extrait butanolique et l'Extrait acétate d'éthyle par cette méthode est identique à celui de l'antibiogramme.

- **Repiquage des espèces bactériennes**

Les différentes espèces bactériennes (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Echerichiacoli*) ont été repiquées par la méthode des stries sur gélose Mueller Hinton, puis incubées à 37 °C pendant 18 à 24 heures afin d'obtenir des colonies isolées qui vont servir à la préparation de l'inoculum.

- **Préparation de l'inoculum**

L'inoculum bactérien a été préparé dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à partir de culture pure de 24 h. La densité a été ajustée à 0.5 Mack Ferland (**Annexe 1**) (DO=0.08-0.10 lue à 625nm).

- **Ensemencement**

L'ensemencement doit se faire en moins de 15 min après la préparation de l'inoculum. Les différentes étapes de l'ensemencement sont :

- Couler 20 ml de la gélose Muller-Hinton (Annexe 2) dans chaque boîte de pétri, et laisser solidifier.

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne, l'essorer en le pressant fermement, en tournant sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.

- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.

- Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de pétri 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même.

- Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

- **Préparation des disques d'aromatogramme**

Les étapes de préparation des disques d'aromatogrammes en présence de nos extraits sont:

- Stériliser du papier Wattman n°3 coupés en disques de 6mm de diamètre à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes ;

- Imprégner les disques avec 10µl de nos extraits (100mg/ml) repris dans le diméthylsulfoxyde (DMSO) ;

- Préparer les disques de contrôle négatif imprégnés de diméthylsulfoxyde (DMSO) ;

- Les disques imprégnés de nos extraits sont ensuite délicatement déposés à la surface de la gélose. Il en est de même pour les disques du contrôle.

- **Incubation et lecture**

Les diamètres des zones d'inhibition (ZI) ont été mesurés autour des disques après une pré-incubation de 30 minutes à la température ambiante suivie d'une incubation à l'étuve à 37°C pendant 24 .

Les expériences ont été réalisées en deux répétitions et les résultats sont exprimés en moyenne \pm SD (standard déviation). La souche ayant un diamètre $D < 8\text{mm}$, $9 \leq D \leq 14\text{mm}$, $15 \leq D \leq 19\text{mm}$, $D > 20\text{mm}$ est considérée respectivement comme souche résistante(-), sensible (+), très sensible (++) , extrêmement sensibles (+++).

II.3. Etude statistique

Toutes les expériences ont été faites en triple. Les résultats ont été exprimés en moyenne \pm Ecart-type.



CHAPITRE III

Résultats et discussion

Le présent travail porte sur l'étude phytochimique et l'évaluation *in vitro* des activités antioxydante et antibactérienne de l'extrait n-butanolique et l'extrait d'acétate d'éthyle issus de la partie aérienne de la plante médicinale *Capparis spinosa L.*

I. Investigation phytochimique

I.1. Rendement de l'extraction

L'extrait méthanolique brut (**EMB**) a été préparé à partir de la poudre de la partie aérienne de *Capparis spinosa L* en utilisant la méthode de macération dont le rendement est représenté dans le (**tableau 6**).

Tableau 6 : Le rendement d'extrait méthanolique brut (**EMB**)de *Capparis spinosa L.*

La plante	Poids du matériel végétal en (g)	Poids de l'extrait en (g)	Rendement (%)
<i>Capparis spinosa L</i>	300	65	21.67

L'opération de l'extraction du matériel végétal de *Capparis spinosa L* à l'aide du méthanol a permis d'obtenir un résidu sec d'extrait brut de 65 g . Le calcul du rendement en fonction de la matière végétale sèche de la partie aérienne de la plante (**Tableau 6**) a montré que *Capparis spinosa L* a fourni un taux d'environ 21.67 %. Dans notre étude où l'extraction est réalisée à température ambiante par simple macération qui est une méthode discontinue dont le solvant devrait être remplacée jusqu'à ce que la matière végétale soit épuisée (**Gaziet al.,2004**); donc il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie de manière générale. En effet, le rendement est relatif; il varie en fonction de l'espèce végétale, l'organe utilisé dans l'extraction, les conditions de séchage, le contenu de chaque espèce en métabolites (de son métabolisme) et de la nature du solvant utilisé dans l'extraction ou fractionnement et de sa polarité (**Mohammedi, 2006**).

L'extraction des flavonoïdes de *Capparis spinosa L* a été effectuée par les solvants organiques via le fractionnement de l'extrait méthanolique brut ; La partition liquide-liquide a permis d'extraire trois fractions : éther de pétrole, acétate d'éthyle (**EAE**)et la fraction n-butanolique (**En-B**),dont les résultats sont représentés dans le (**tableau 7**).

Tableau 7 :Le rendement d'extraction (EAE, En-B) de *Capparis spinosa L*

La plante	Le poids du matériel végétal en (g)	Abréviation d'extrait	Poids d'extraction en (g)	Rendement en (%)
<i>Capparis spinosa L</i>	300	EAE	4.1	1.37
		En-B	6.2	2.06

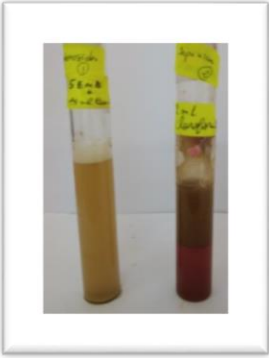


L'opération de l'extraction des flavonoïdes à partir du matériel végétal de *Capparis spinosa L* à l'aide des solvants organiques a permis d'obtenir des résidus secs des extraits d'acétate d'éthyle (4.1g) et de n-butanolique avec 6.2g qui correspond respectivement aux rendements 1.37%, % et 2.06 %.




Selon **Newman et Markham (1982)**, Les flavonoïdes que pourraient contenir les différentes fractions issue de l'extrait méthanolique seraient comme suit: l'extrait éther de pétrole qui est en générale constitué des flavonoïdes aglycones hautement méthylés, l'acétate d'éthyle est utilisé pour l'extraction des flavonoïdes aglycones ou flavonoïdes mono O-glycosides et partiellement di-O-glycosides, tandis que le n-butanol est utilisé pour l'extraction des flavonoïdes les plus polaires (di, tri, et tétra-glycosylés).

I.2. Tests de mise en évidence de certains composés phytochimiques

Le screening phytochimique réalisé sur **EMB** consiste à détecter les différentes familles de composés qui existent dans les feuilles et les tiges de *Capparis spinosa L* par des réactions de précipitation ou de coloration, en utilisant des réactifs spécifiques à chaque famille de composés, les résultats obtenus sont représentés dans le (**tableau 8**)

Tableau 8: Résultats des tests phytochimiques des composés constituant l'extrait méthanolique brut de *Capparis spinosa L.*

Tests phytochimiques		EMB	Observation	
Les saponosides	Test de la mousse	Formation d'une mousse persistante après 15 min		(+)
Les flavonoïdes	AlCl ₃	Apparition d'une coloration jaune		(+)
Les tanins	FeCl ₃	Apparition d'une coloration bleue noire et un précipité après 3 min		(+)

Les composés réducteurs	Acide sulfurique d'acide acétique FeCl ₃	Apparition de 2 phases: brune- rouge et bleue-verte		(+)
Les alcaloïdes	Wagner	Précipitation		(+)
Les coumarines	NH ₄ OH 10%	Présence d'une fluorescence bleue ou verte à la lampe UV		(+)

Les résultats sont interprétés comme suit: (+) Réaction positive, (-) Réaction négative.

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence de quelques métabolites secondaire au niveau des tissus végétaux de la plante étudiée.

La détection de ces composés chimiques est basée sur des essais de solubilité des constituants, des réactions de précipitation, un changement de couleur ou un examen sous la lumière ultraviolette.

L'étude phytochimique de l'extrait méthanolique de la partie aérienne du *Capparis spinosa L* a montré que cette plante contient des flavonoïdes, des alcaloïdes ce qui est en accord avec (Abdel-Salam, 2009; Ghuleet al., 2007; Arslan et al., 2010) qui ont prouvé que les constituants principaux du *C.spinosa* et de la famille des *Cappari daceae* en général, sont les acides phénoliques, les flavonoïdes, les alcaloïdes, les lipides et les glucosinolates.

Plusieurs études phytochimiques ont tenté d'élucider les phyto-composés de *C. spinosa*, ses constituants comprennent les polysaccharides et les glycosides, les flavonoïdes, les alcaloïdes, les terpénoïdes, les acides gras et les stéroïdes (Giuffrida *et al.*, 2002; Yang *et al.*, 2008). La plupart de ces études ne rapportent pas la présence des tanins (Giuffrida *et al.*, 2002; Panico *et al.*, 2005; Liu *et al.*, 2008; Rajesh, *et al.*, 2009). Cependant, (Akkari *et al.*, 2016) sont arrivés à les quantifier dans les feuilles et les boutons floraux.

I.3. Résultats de l'étude qualitative par CCM

L'analyse qualitative de contenu phénolique par l'utilisation de CCM nous a permis d'avoir les empreintes flavonoïques de nos extraits. L'identification des composés a été basée sur la comparaison des R_fs et des couleurs observés sous lampe UV des taches apparues sur CCM.

Nous avons réalisé la séparation de l'extrait En_B et EAE avec les systèmes de solvants suivants :

- Système 1 : acide acétique/toluène /méthanol (3:5:1)
- Système 2 : eau distillée/chloroforme/méthanol (5:85:10)
- Système 3 : n-butanol/ acide acétique/ eau distillée (4:1:5)

Les résultats obtenus sont représentés dans les figures 8 et 9 et le tableau 9.

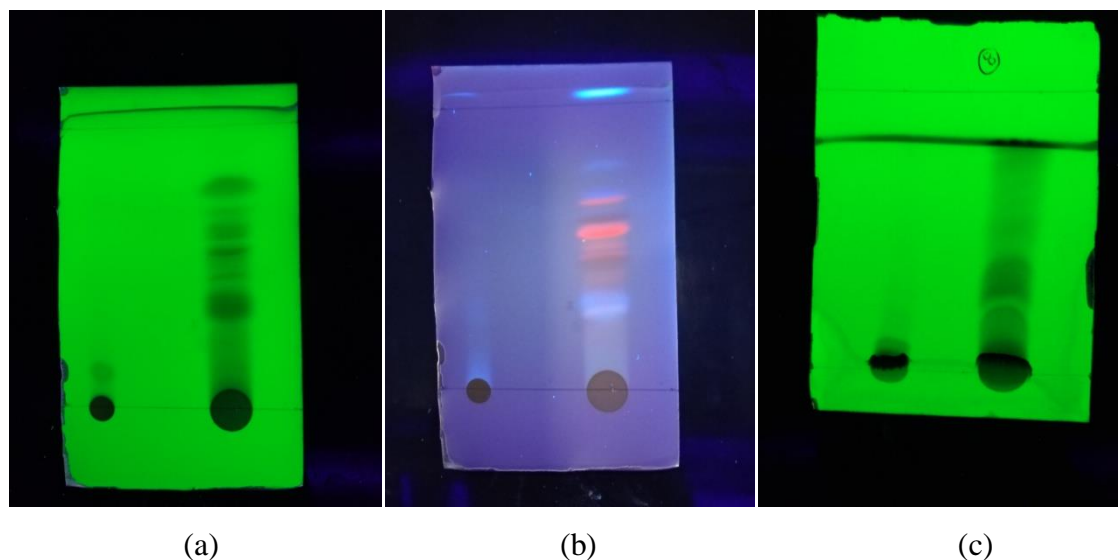


Figure 8 :Photo du chromatogramme résultant de l'analyse de l'extrait En_B et EAE par CCM sur gel de silice par le système de solvant 1: (a) à 254 nm et (b) à 365 nm et le système desolvant2 : (c) à 254 nm.

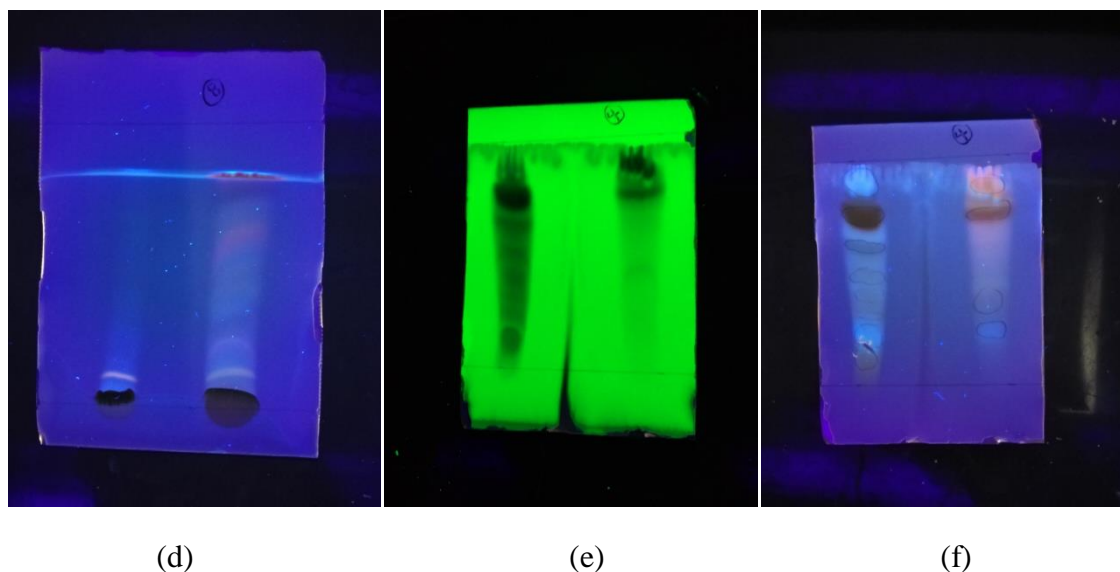


Figure 9 :Photo du Chromatogramme résultant de l'analyse de de l'extrait En_B et EAE par CCM sur gel de silice par le système de solvant 2: (d) à 365 nm et le système de solvant 3: (e) à 254 nm et (f) à 365 nm

Tableau 9 :Résultats de la CCM de de l'extrait En_B et EAE

Systèmes	Extraite	Couleur sous UV	Rf (cm)	Constituants possibles	Figure
Systèmes 1	EAE	Bleu blanc	0.27	Anthocyanidine 3-glycosides	8(a) 8(b)
		Bleu blanc	0.31	Anthocyanidine 3-glycosides	
Rose		0.40	Anthocyanidine 3-5-glycosides		
Marron		0.43	Acide phénol		
Rose		0.48	Anthocyanidine 3-5-glycosides		
Rouge		0.54	Flavonols, Acide phénol		
Maron		0.60	Acide phénol		
Rouge orange		0.66	Anthocyanidine 3-glycosides		
Bleau		0.70	Acide phénol		
Bleau		0.77	Acide phénol		
	ETA	Bleau fluorescent	0.11	Flavonols, flavonones, isoflavone, flavanones, acide phénol	
Systèmes 2	EAE	Bleau	0.10	Acide phénol	8(c) 9(d)
		Bleu blanc	0.21	Anthocyanidine 3-glycosides	
		Jaune orange	0.46	Flavones	
		Rouge orange	0.61	Flavone méthyle, Hydroxy flavonol	
	ETA	Bleau fluorescent	0.1	Flavonols, flavonones, isoflavone, flavanones, acide phénol	
Systèmes 3	EAE	Bleau	0.26	Acide phénol	
		Bleu blanc	0.37	Anthocyanidine 3-glycosides	
		Marron foncé	0.74	Flavone méthyle ; Hydroxy flavonol	

		Rouge orange	0.86	Flavone méthyle, Hydroxy flavonol	9(e) 9(f)
ETA	Marron	0.13	Acide phénol Flavonols, flavonones, isoflavone, flavanones, acide phénol		
	Bleau fluorescent	0.21			
	Gris	0.31	Acide phénol		
	Bleau	0.40	Acide phénol		
	Bleu blanc	0.50	Anthocyanidine 3-glycosides		
	Bleau	0.61	Acide phénol		
	Marron foncé	0.76	Flavone méthyle ; Hydroxy flavonol		
Bleau fluorescent	0.93	Flavonols, flavonones, isoflavone, flavanones, acide phénol			

II. Evaluation *in vitro* des activités biologiques

II.1. Evaluation de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante de l'EAE et **En-B** vis-à-vis du radical DPPH a été 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.

En faisant varier la concentration de l'extrait et en calculant pour chaque concentration le pourcentage d'inhibition correspondant (PI %), nous avons établi le profil d'activité oxydante, et c'est à partir de ce profil que nous avons déduit également la valeur correspondante à la IC 50.

Les résultats obtenus sont représentés dans le **tableau 10** et la **figure 10**.

Tableau 10 : Pourcentages de la réduction du radical DPPH° de l'En-B et l'EAE

Concentrations initiales en(mg/ml)	Concentrions dans le mélange réactionnel en (mg/ml)	(%)de réduction de En-B	(%)de réduction de EAE
2	0.02	52.59±2.93	33.55±3.48
4	0.04	70.22±1.02	69.75±3.19
6	0.06	74.78±1.19	79.96±2.68
8	0.08	80.17±1.75	78.73±0.78
10	0.1	88.45±0.90	88.34±2.47

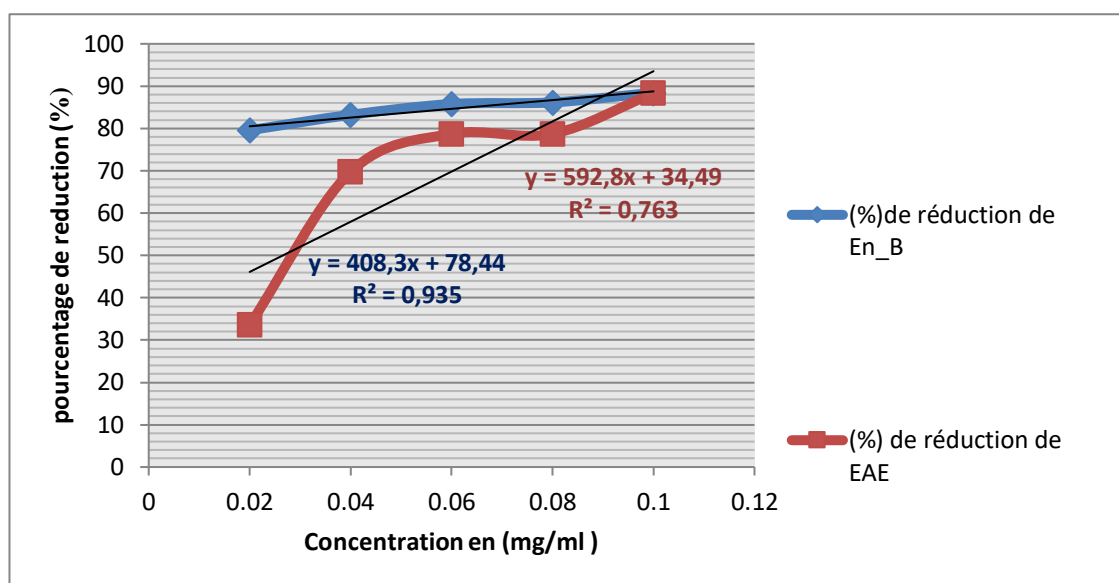


Figure 10. Courbe présentant les pourcentage d’inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration de l’extrait En_B et l’EAE.

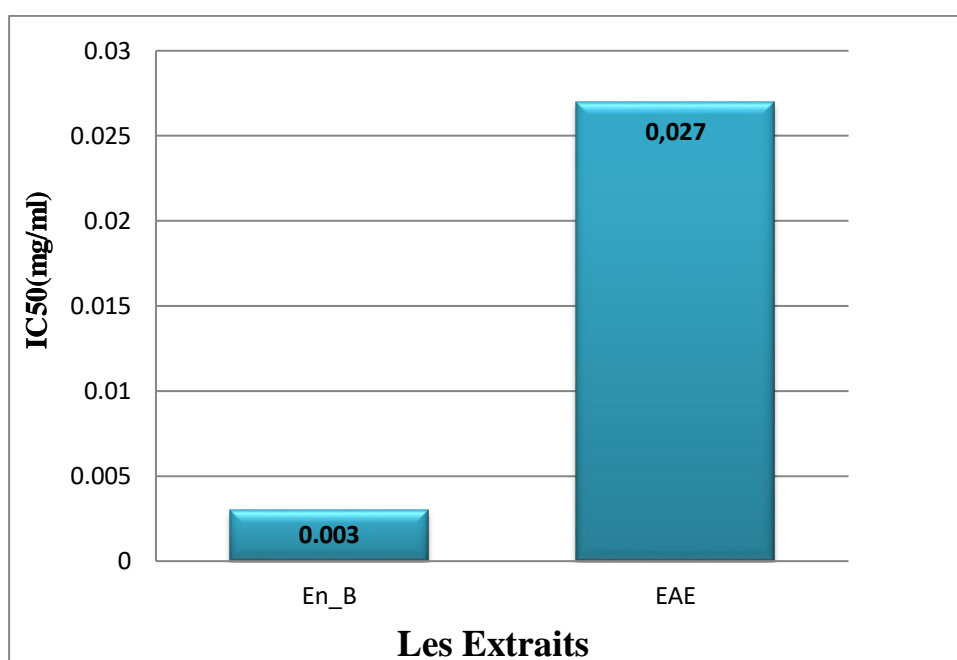


Figure 11 : Histogramme des concentrations inhibitrices à 50% le radical DPPH des extraits.

Le profil de l’activité antioxydante obtenu révèle une augmentation des pourcentages d’inhibition (PI) en fonction des concentrations de l’extrait de *Capparis spinosa L.* A la plus faible concentration (0,02 mg/ml), l’extrait **EAE** a présenté un PI de 33,55 % par contre l’extrait **En_B** a présenté un PI de 52,59 % ; tandis qu’à la plus grande concentration

(0,1mg/ml) de même extrait le PI a atteint 88.34 % pour l'extrait EAE et 88.45 % pour l'extrait **En_B**.

Ceci montre que l'espèce *Capparis spinosa L* possède un grand potentiel antioxydant. D'après les résultats illustrés dans la figure, nous avons remarqué que l' **En-B** montrent un grand pouvoir réducteur en comparaison avec ceux de l' **EAE** même avec des faibles concentration.

A partir de la courbe illustrée dans **la figure10**, nous pouvons calculer la concentration **IC₅₀** pour mieux caractériser le pouvoir antioxydant. Nous constatons une concentration d'**IC₅₀** égale à 0,027 mg/ml pour l'extrait **EAE** et égal a 0.003 mg/ml pour l'extrait **En_B**

Selon Schutz (2005), l'activité antioxydante du *Capparis* peut s'expliquer par sa richesse en flavonoïdes, alcaloïdes, lipides et glucosinolates (**Abdel-salam, 2009**).

L'activité antioxydante ne peut être attribuée seulement aux polyphénols, en plus des flavanols et l'acide hydroxycinnamique (**Lam et Ng, 2009**), les parties étudiées du *C. spinosa* contiennent d'autres composés ayant un effet antioxydant tels que les tocophérols, les caroténoïdes, les flavonoïdes et les glucosinolates (**Germano et al, 2002, Matthaus et Ozcan, 2005, Tlili et al, 2009 et Tlili et al 2010a,b**).

II.2. Evaluation de l'activité antibactérienne

II.2.1. Résultats de tests d'efficacité

Nous avons étudié *in vitro* le pouvoir antibactérien de nos extraites par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé solide (Muller Hinton).

L'activité antibactérienne a été estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant l'extrait vis-à-vis de trois germes pathogènes après 24 heures d'incubation à une température adéquate de 37°C.

Les résultats de l'antibiogramme effectué sont représentés dans **le tableau 11** et **les Figures 12 et 13**.

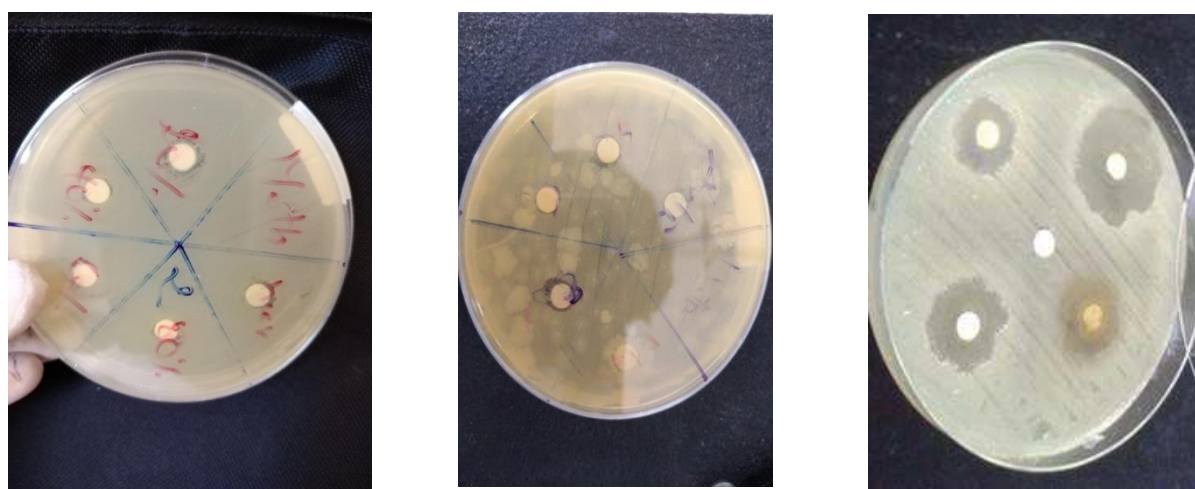
Tableau 11. Résultats de diamètres des zones d'inhibition de croissance bactérienne.

Souches bactériennes	Diamètres des zones d'inhibition de croissance bactérienne (mm)									
	En_B					EAE				
	100mg/ ml	80mg /ml	60ml/ ml	40mg /ml	20mg /ml	100m g/ml	80mg /ml	60mg /ml	40mg /ml	20m g/ml
<i>Escherichia coli</i>	PA	PA	PA	PA	PA	17	16	16	15	

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	PA	PA	PA	PA	PA	PA	PA	PA	PA	PA
<i>Staphylococcus aureus</i>	21	16	18	13	PA	16	14	11	9	PA

Diamètre : $D < 8\text{mm}$, $9 \leq D \leq 14\text{mm}$, $15 \leq D \leq 19\text{mm}$, $D > 20\text{mm}$ est considérée respectivement comme souche résistante (-), sensible (+), très sensible (++) , extrêmement sensibles (+++).

PA : pas d'activité.

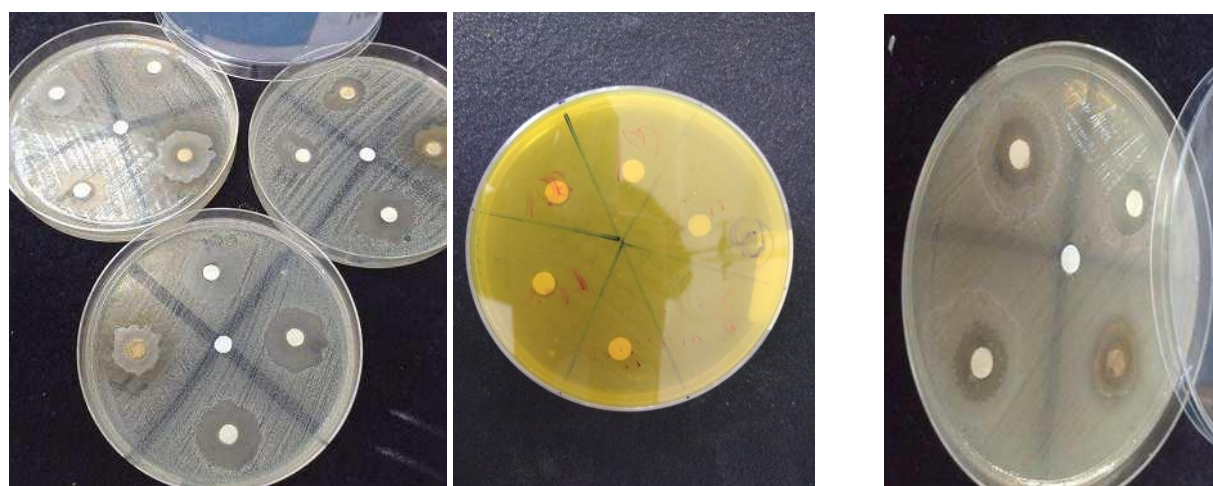


(a)

(b)

(c)

Figure 12 : Photo d'antibiogramme d'En-B sur *E.coli*(a), *P.aeruginosa*(b), *S.aureus* (c)



(d)

(e)

(f)

Figure 13: Photo d'antibiogramme d'EAE sur *E.coli*(d), *P.aeruginosa*(e), *S.aureus*(f).

Aucune activité antibactérienne n'a été remarquée à la concentration de 20 mg/ml d'En-B et d'EAE qui peut être expliqué par l'insuffisance de la concentration des principes actifs dans le volume d'extrait étudié (**Ladhem, 2016**). Par ailleurs, à la concentration de 100 mg/ml, l'activité est importante pour les deux extraits .

Il en ressort donc que En-B et EAE agit différemment sur les microorganismes. C'est-à-dire, qu'il peut avoir une action très importante sur un germe (la sensibilité élevé de *S.aureus*) ou une action moindre, voire même nulle sur un autre (la résistance de *P.aeruginosa*).

L'activité antibactérienne des extraits apolaires de *C. spinosa* peut s'expliquer par l'effet des composés apolaires.

Les alcaloïdes sont reconnus pour leur pouvoir antibactérien élevé (**Scazzocchio et al., 2001 ; Muster et Ben Slama , 2004 et Marzouk et al, 2009**). Ces alcaloïdes présents dans nos extraits apolaires pourraient être en partie responsables de l'activité antibactérienne obtenue .Selon (**Marzouk et al., 2009**), l'activité antibactérienne ne peut être attribuée à la présence d'une seule famille de composés phytochimiques ou son absence, puisque les tanins (**Ayazet al., 2008**), les stéroïdes (**Khan et al., 2007**), les flavonoïdes (**Fogliani et al., 2005**), et les alcaloïdes (**Yan et al., 2008**) toutes présentent un effet antimicrobien contre une gamme large de micro-organismes.

La sensibilité de *S. aureus* (Gram positif) et la résistance de *P. aeruginosa* et *E. coli* (Gram négatif) peuvent avoir une relation avec la structure de paroi qui est un critère majoritaire de classification bactérienne.



CONCLUSION

Conclusion et perspectives

Ces dernières années, il y a eu un intérêt croissant sur l'étude des plantes sauvages utilisées localement comme condiment ou traitement traditionnel, pour des fins médicales et pharmacologiques d'où les plantes médicinales restent toujours une source fiable de principes actifs, *Capparis spinosa L.* est l'une de ces plantes, utilisée depuis longtemps à des fins thérapeutiques, mais les études phytochimiques de cette plante restent jusqu'à présent insuffisantes. Dans ce contexte s'inscrit ce travail qui avait pour objectif l'investigation phytochimique et l'exploration *in vitro* d'éventuel effet antioxydant et antibactérien des extraits issus de la partie aérienne de *Capparis spinosa L* récoltée de la région de Khenchela.

Du point de vue screening phytochimique, nous avons réalisé des extractions à partir de la partie aérienne du *C. spinosa*, et le plus grand rendement était observé dans le **EMB** (21,67%), par contre le plus faible dans l'**EAE** (1,37%). Nos résultats indiquent la richesse de cette plante en flavonoïdes, flavonols et flavones. Ces métabolites sont connus par leurs diverses propriétés biologiques pouvant ainsi, contribuer à leur utilisation comme remèdes en médecine traditionnelle.

Les analyses qualitatives des flavonoïdes par chromatographie (CCM) a révélé la présence des différentes classes flavonoïques susceptibles d'exprimer les activités recherchées.

L'étude *in vitro* du pouvoir antioxydant via l'effet scavenger du radical DPPH a révélé un fort pouvoir antioxydant des deux fractions dont l'oxydation du DPPH est efficacement inhibée par l'extrait n-butanolique avec une IC₅₀ égale à 0.003mg/ml et aussi par l'extrait acétate déthyle avec une IC₅₀ égale à 0.027mg/ml. En ce qui concerne l'activité antibactérienne par la méthode de la diffusion de disque, les extraits du *Capparis spinosa* avoir une activité importante pour toutes les souches étudiées sauf pour *Pseudomonas aeruginosa* qui a été montré résistante.

En fin, par ce travail nous espérons apporter notre modeste contribution à la valorisation des plantes médicinales Algériennes. Il serait donc intéressant d'étendre l'éventail des tests antioxydants ainsi que l'isolement et la caractérisation des composés actifs dans nos fractions par l'HPLC et la RMN en vue d'identifier les principes actifs responsables des différentes activités biologiques de cette plante. L'ensemble de ces résultats obtenus *in vitro* ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances d'origine naturelle

Conclusion et perspectives

biologiquement active, une étude *in vivo* est souhaitable, pour obtenir une vue plus approfondie sur les activités recherchées .



REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUE

Références bibliographiques

A

- **Afsharypuor S, Jeiran K, Jazy AA. (1998).** First investigation of the flavour profiles of the leaf, ripe fruit and root of *Capparis spinosa* var. mucronifolia from Iran. *Pharmaceutica Acta Helvetiae*. 72: p 307– 309.
- **Ahmed Z, Rizk A, Hammouda F, El-Nasr MS. (1972).** Glucosinolates of egyptian *Capparis* species. *Phytochemistry*: 11: p 251–256.
- **Alais C. et Linden G. (1997).** Biochimie alimentaire. Masson, Paris. P 120 .
- **Ali-Shtayeh MS et Abu-Ghdeib SI. (1999).** Antifungal activity of plant extracts against dermatophytes. *Mycoses*. 42: p 665- 672.
- **Al-Said, M. S., Abdelsattar, E. A., Khalifa, S. I., El-Feraly, F. S. (1988)** Isolation and identification of an anti-inflammatory principle from *Capparis spinosa*. *Pharmazie*. 43: p 640–641.
- **Anderson, ER., Koplan, J., Henney, JE. et Billy, TJ. (2001).** Diagnosis and Management of Foodborne Illness : A Primer for Physicians. Centers for Disease Control, *Morbidity and Mortality Weekly Report* 50 (2); p 1-69.
- **Argentieri M, Macchia F, Papadia P, Fanizzi FP, Avato P. (2012).** Bioactive compounds from *Capparis spinosa* subsp. Rupestris. *Industrial Crops and Products*. 36:p 65– 69.

B

- **Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., luyckx, M., Vasseur, J., Cazin, M., Cazin, J. C. et Pinkas, M. (1996).** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arznei. Forschung*, Vol. (46); p 1086-1089.
- **Barouki R. (2006).** Stress oxydant et vieillissement. *Médecine/Sciences*, 22. 266 p.
- **Belkacemi.O .(2011)** . La consommation d'aliments fonctionnels riches en antioxydants et le statut antioxydant total chez la personne âgée.Université de sherbrooke,p 6-8.

Références bibliographiques

- **Belkhiri F. (2009).** Activité antimicrobienne et antioxydante des extraits du *Tamuscommunis L* .et *Carthamuscaeruleus L* .Mémoire de Magister, option microbiologie appliquée. Université Farhet Abbes-Sétif. P 108 .
- **Ben Chibane T. (2013).** Détermination de l'activité antioxydante de deux céréales : blé dur et blé tendre. Mémoire d'Ingénieur d'Etat. Option contrôle de qualité et analyse. Université de Bejaia, Algérie. P 39 .
- **Benmehdi, A. (2001).** Identification des principes actifs des extraits des plantes médicinales. *Phytochimie*. 6: p 11-27.
- **Benseghir-Boukhari LA., Seridi R. (2007).** Le câprier, une espèce arbustive pour le développement rural durable en Algérie. *Méditerranée*, N° 109.
- **Blandine.G. (2006).**Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la GLISODIN . Université Joseph Fourier –Grenoble 1,p 8-16.
- **Boga C, Forlani L, Calienni R, Hindley T, Hochkoepler A, Tozzi S, Zanna N. (2011).** On the antibacterial activity of roots of *Capparis spinosa L*. *Natural Product Reserch*. 25 :p 417– 421.
- **Bonina F, Puglia C, Ventura D, Aquino R, Tortora S, Sacchi A, Saija A, Tomanio A, Pellegrino ML, De Carparis P. (2002).** *In vitro* antioxidant and *in vivo* photoprotective effects of a lyophilized extract of *Capparis spinosa L*. buds. *Journal of Cosmetic Science*. 53:p 321-335.
- **Boussoualim N. (2014).** Acvivities biologiques de plantes médicinales : *Anchusaazurea Mill.* et *Globulariaaल्पum L*. Thèse de Doctorat en microbiologie. Université Farhet Abbes Sétif 1-Algérie. P 115 .
- **Bouزيد W. (2009).**Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de *Crataegus monogynaJacq.* Thèse de Magister, option biochimie appliquée. Université El Hadj Lakhder-Batna-Algérie. p 62 .
- **Bouزيد.M.A.(2014).** Exercice physique, marqueurs antioxydants et peroxydation lipidique : effets de l'age et du niveau d'aptitude physique. Université de Lile 2 Droit-Santé, p 11-24.
- **Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Lavoisier-Paris. P 1120.
- **Burits M. and Bucar F (2000).** Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research*. 14: p 323-328.

Références bibliographiques

C

- **Calis I, Kuruuzum A, Ruedi P. (1999).** 1H-indole-3-acetonitrile glycosides from *Capparis spinosa* fruits. *Phytochemistry*. 50: p 1205– 1208.
- **Ciulei, I. (1982).** Praticalmanuals on the industrial utilization of chemical and aromatic plants, Methodology for analysis of vegetable drugs Ed, ministry of Chemical industry, Bucharest. p 67.
- **Cowan M.M. (1999).** Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology* 12(4). P 564 .
- **Cuendet M, Hostettmann K and Potterat O (1997).** Iridoid glucosides with free radical scavenging properties from *Fragrea blumei*. *Helv Chim Acta*. 80: p 1144–1151.

D

- **D'Archivio M, Filesi C, Di Benedetto R, Gargiulo R, Giovannini C, Masella R. (2007).** Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali dell'Istituto Superiore di Sanità*. 4: p 348-361.
- **Dekanski D, Risti S, Radonji NV, Petronijevi ND, Dekanski A, Mitrovi DM. (2011).** Olive leaf extract modulates cold restraint stress-induced oxidative changes in rat liver. *Journal of Serbian Chemical Society*. 76: p 1207– 1218.
- **Dib S et Boutarene F. (2007).** Le pouvoir antioxydant de quelques jus de fruits «Toudja ». Mémoire d'Ingénieur.
- **Důračkova Z. (2008).** Oxidants, antioxidants and oxidative stress. Chapitre 2. Dans: mitochondrial medicine. Springer Science and Business Media B.V. p 19 .
- **Dwassy.A .(1987).** Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant : aspects biologiques et pathologiques. Université Mohammed V-Souissi- Rabat, p 14- 42
- **Dworkin M.M. et FALKOW S., (2006).** Proteobacteria: Gamma subclass. Ed. Springer, New York. p.1248.

E

Références bibliographiques

- **Eddouks M, Lemhadri A, Michel JB.** (2005). Hypolipidemic activity of aqueous extract of *Capparis spinosa* L. in normal and diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 98 : p 345- 350.
- **Edeoga, H. O., Okwu, D. E., and Mbaebie, B. O.** (2005). Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. *African journal of biotechnology*.4(7) : p 865-688.
- **Emberger L.** (1971). Travaux de botanique et d'écologie. Ed. Masson. P 520 .
- **Quezel P, Santa S.** (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et régions désertiques méridionales. Tome 1. Centre national de la recherche. Paris. P 570 .

F

- **Favier .A .** (2003). Le stress oxydant. Actualité Chimique , p 3-5.
- **Fici, S.** (2004) Micromorphological observations on leaf and pollen of *Capparis L.* sect. *Capparis* (Capparaceae). *Plant Biosystems*. 38: p 125–134.
- **Fontaine E.** (2007). Radicaux libres. Dans: Traité de nutrition artificielle de l'adulte. Springer-Verlag, France. P 251 .
- **Fu X, Aisa H, Abdurahim M, Yili A, Aripova S, Tashkhodzhaev B.** (2007). Chemical composition of *Capparis spinosa* fruit. *Chemy of Natural Compound*. 43: p 181– 183.

G

- **Gadgoli C et Mishra SH.** (1999). Antihepatotoxic activity of p-methoxybenzoic acid from *Capparis spinosa*. *Journal of Ethnopharmacology* . 66 (2): p 187- 192.
- **Garcia-Ruiz A., Bartolomé B., Martinez-Rodriguez A.J., Pueyo E., Martin-Alvarez P.J., and Moreno-Arribas M.V.** (2008). Potential of phenolic compounds for controlling lactic acid bacteria growth in wine. *Food Control*. 19; p:835–841.
- **Germano MP, De Pasquale R, D'Angelo V, Catania S, Silvari V, Costa C.** (2002). Evaluation of extracts and isolated fraction from *Capparis spinosa L.* buds as antioxidant source. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 50: p 1168- 1171.
- **Giuffrida D, Salvo F, Ziino M, Toscano G.** (2002). Initial investigation on some chemical constituents of capers (*Capparis spinosa L*) from the Island of Salina. *Italian Journal of Food Sciences*. 1 (14): p 25- 33.

Références bibliographiques

- **Goetz P et Ghedira K. (2012).** Mécanisme d'action antibactérienne des huiles essentielles. Dans: Phytothérapie anti-infectieuse. Collection phytothérapie pratique. Springer Verlag, France. P 193 .
- **Goudable A et Favier D. (1997).** Radicaux libres oxygénés et antioxydants. Nutrition Clinique et Métabolisme. P 5-11.
- **Guinoiseau E. (2010).** Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles : Séparation, identification et mode d'action. Thèse de Doctorat, option biochimie, biologie moléculaire. Université de Corse Pascale Paoli-France. P 114
- **Guo, B. M. Gao and C.Z. Liu (2007).** In vitro propagation of an endangered medicinal plant *Saussurea involucrate* Kar. Et Kir, Plant Cell Reports. 26, p 261–265. Badji Mokhtar-Annaba. P 22.23
- **Gupta A, Birhman K, Raheja I, Sharma SK, Kar HK. (2016).** Quercetin: A wonder bioflavonoid with therapeutic potential in disease management. *Asian Pacific Journal of Tropical Dis.* 6: p 248– 252.
- **Gurib-Fakim, A. (2006).** Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine.* Vol. (27); p 1-93.

H

- **Habtemariam S et Varghese GK. (2014).** The antidiabetic therapeutic potential of dietary polyphenols. *Current Pharmaceutical Biotechnology.* 15: p 391– 400.
- **Habtemariam S. (1997).** Flavonoids as inhibitors or enhancers of the cytotoxicity of tumor necrosis factor- α in L-929 tumor cells. *Journal of Natural Product.* 60: p 775– 778.
- **Habtemariam S. (2000).** Natural inhibitors of tumour necrosis factor-alpha production, secretion and function. *Planta Medicin.* 66: p 303– 313.
- **Habtemariam S. (2011).** A-glucosidase inhibitory activity of kaempferol-3-O-rutinoside. *Natural Product Commun.* 6: p 201– 203.
- **Halliwell .B . (2006).** The antioxidant paradox : less paradoxical now. *Clin pharmacol,* p 37-44.
- **Handa, S. S., Sharma, A., Chakraborti, K. K. (1986)** Natural products and plants as live protecting drugs. *Fitoterapia.* 57: p 307–349.
- **Hardy S.P. (2002).** Human microbiology. Taylor and Francis.P 257 .

Références bibliographiques

- **Herbert RB.** (1989). *The Biosynthesis of Secondary Metabolites*. London: Springer, p 200.
- **Higton, R.N., Akeroyd, J.R.** (1991) Variation in *Capparis spinosa L.* in Europe. *Botanical Journals of the Linnean Society*.106: p 104–112.
- **Huang Guangrong., Jiang Jiabin.,and Dai Dehui.** (2008). Antioxidative and antibacterial activity of the methanol extract of *Artemisia anomala S. Moore*. *African Journal of Biotechnol.*7 (9); p 1335-1338.

I

- **Inocencio C, Rivera D, Alcaraz F, Tomás-Barberán FA.** (2000). Flavonoid content of commercial capers (*Capparis spinosa*, *C. sicula* and *C. orientalis*) produced in Mediterranean countries. *European Food Reserch Technology*. 212: p 70–74.
- **Inocencio, C., Alcaraz, F., Calderòn, F., Obòn, C., Rivera, D.** (2002) The use of floral characters in *Capparis* sect. *Capparis* to determine the botanical and geographical origin of capers. *European Food Research and Technology*. 214: p 335–339.
- **Inocencio, C., Cowan, R., Alcaraz, F., Rivera, D., Fay, M.** (2005) AFLP fingerprinting in *Capparis* subgenus *Capparis* related to the commercial sources of capers. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 52: p 137–144.
- **Inocencio, C., Rivera, D., Obòn, C., Alcaraz, F., Barreña, J.** (2006) A systematic revision of *Capparis* section *Capparis* (*Capparaceae*). *Annals of the Missouri Botanical Garden*. 93: p 122–149.

J

- **Jacobs, M.** (1965) The genus *Capparis* (*Capparaceae*) from the Indus to the Pacific. *Blumea*.12: p 385–541.
- **Jürgen R., Paul .S., Ulrike S., and Reinhard S.** (2009). Essential Oils of Aromatic Plants with Antibacterial, Antifungal, Antiviral, and Cytotoxic Properties– an Overview: *Forsch Komplementmed*.16; p79–90.

K

Références bibliographiques

- **Kabera JN, Semana E, Mussa AR, He X. (2014).** Plant Secondary Metabolites: Biosynthesis, Classification, Function and Pharmacological Properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2: p 377-392.
- **Kaper J.B., Nataro J.P., et Mobley H.L. (2004).** Pathogenic Escherichia coli. *Nat Rev Microbiol*. 2(2); p 123-140
- **Karumi,Y., Onyeyili, P., Ogugbuaja, V. (2004).** Identification of active principles of M.balsamina (Balsam Apple) leafextract. *J Med Sci*. 4(3): p 179-182.
- **Kempf S. Zeitouni. (2009).** Coût biologique de la résistance aux antibiotiques: analyse et conséquences *Pathologie Biologie* : article in press.
- **Khatib M, Pieraccini G, Innocenti M, Melani F, Mulinacci N. (2016).** An insight on the alkaloid content of *Capparis spinosa L.* root by HPLC-DAD-MS, MS/MS and 1H qNMR. *Journal of Pharmaceutical and Biomedidical Analysis*. 123: p 53–62.
- **Koechlin R.C. (2006).** Oxygen, oxidative stress and antioxidant supplementation, or another way for nutrition in respiratory diseases. *Nutrition clinique et métabolique*. 20 ; p 165 .
- **Korkmaz A et Kolankaya D. (2010).** Protective effect of rutin on the ischemia/reperfusion induced damage in rat kidney. *Journal of Surgical Reserch*. 164: p 309– 315.

L

- **Li Y, Feng Y, Yang S, Xu L. (2007).** Research on chemical constituents of *Capparis spinosa L.* *Zhong Cao Yao*. 38: p 510– 512.
- **Lozniewski A., Rabaud C., (2010).** Résistance bactérienne aux antibiotiques, Fiches conseils pour la prévention du risque infectieux–Infections associées aux soins, CCLIN, Sud-Est, Nancy, p 4.

M

- **Manallah A. (2012).** Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea L.* Mémoire de Magister. Option biochimie appliquée. Université Farhet Abbes-Sétif-Algérie. P 1.15.20.29.30.77. 86 .
- **Manikandaselvi S et BrindhaP. (2014).** Chemical standardization studies on *Capparis spinosa L.* *International Journal of Pharmacy and Pharmacologic Sciences*. 6 (1): p 47- 54.

Références bibliographiques

- **Maurice, N. (1997).** L'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXI^e siècle. Ed. Tec et Doc, Paris. France, p 12-14.
- **Mazarei F, Jooyandeh H, Noshad M, Hojjati M. (2017).** Polysaccharide of caper (*Capparis spinosa L.*) Leaf: Extraction optimization, antioxidant potential and antimicrobial activity. *International Journal of Biological Macromoleculs.* 95: p 224-231.
- **Meddour, A., Yahia, M., Benkiki, N., Ayachi, A., (2013).** Étude de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'un ensemble des parties de la fleur du *Capparis Spinosa L.* *Lebanese Science Journal.* Vol. (14): p 49-60
- **Milde J, Elstner EF, Grassmann J. (2004).** Synergistic inhibition of low-density lipoprotein oxidation by rutin, gamma-terpinene, and ascorbic acid. *Phytomedicine.* 11: p 105– 113.
- **Miw. A. S, Muller F.L et Beckman K.B. (2008).** The basics of oxidative biochemistry. Dans: Oxidative stress in aging. *Aging Medicine.* P 11 .
- **Mohammedi, Z. (2006).** Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Mémoire de Magister. Université Abou Bakr Belkaïd Tlemcen. P 105.
- **Molyneux P. (2004).** The use of the stable free radical DiPhenylPicrylHydrazyl (DPPH°), for estimating antioxidant activity. Songklanakarin. *Journal of Science and Technology.* 26(2). P 211 .

N

- **Nathalie.C .(2014).** Effet protecteur du safran contre la cardiotoxicité de la doxorubicine en condition ischémique. Université de Reims Champagne-Ardenne, p 11-16.
- **Nauciel C., Vilde J-L., (2005).** Bactériologie médicale. 2^eème édition. Masson, Paris., p 78- 97
- **Nijveldt RJ, Van Nood E, Van Hoorn DE, Boelens PG, Van Norren K, Van Leeuwen PA. (2001).** Flavonoids: A review of probable mechanisms of action and potential applications. *American Journal of Clinical Nutrients.* 74: p 418– 425.

O

Références bibliographiques

- **Okuda T. (2005).** Systematics and health effects of chemically distinct tannins in medicinal plants. *Phytochemistry*. 66. P 2012 .
- **Orban J.C, Sibon S et Ichai C. (2007).** Ischémie/reperfusion, stress oxydant, pré conditionnement et insuffisance rénale aiguë. Dans: L'insuffisance rénale aiguë, Le point sur. Springer-Verlag, France. P 85
- **Ouerdane S et Ramdani F. (2007).** Etude du pouvoir antioxydant de deux agrumes : Le citron et le pamplemousse. Mémoire d'Ingénieur d'Etat. Option contrôle de qualité et analyse. Université Abderrahmane Mira-Bejaia-Algérie. P 34 .

P

- **Panico AM, CardileV, Garufi F, Puglia C, Bonina F, Ronsisvalle G. (2005).** Protective effect of *Capparis spinosa* on chondrocytes. *Life Sciences*. 77: 2479-2488.
- **Percival S., Chalmers R., Embrey M., Hunter P., Sellwood J. et Wynjones P., (2004).** Microbiology of waterborne diseases. Edition: Elsevier Academic Press, Amsterdam. P 480.
- **Pérez JAM, Aguilar TAF. (2013).** Chemistry of Natural Antioxidants and Studies Performed with Different Plants Collected in Mexico. Oxidative stress and chronic degenerative diseases-a role for antioxidants. P 59 .
- **Pibiri M.C. (2006).** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huile essentielle. Thèse de Docteur. Lausanne Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne (EPFL).
- **Pistelli L etGiorgi I. (2012).** Antimicrobial properties of flavonoids. Chapitre 2. Dietary phytochemicals and microbes. Springer Science, Business Media Dordrecht. P 33 .
- **Porter L. J, Hirtstich L. N et Change B.J. (1986).** The conversion of procianidins and prodlephinidins to cyanidines and delphenidins, *Phytochemistry*, 25. P 223 .
- **Prescott L.M, Harley J.PnetKlein D.A. (1995).**Microbiologie. De Boeck ed. P 1014

R

- **Ramezani Z, Aghel N, Keyghobadi H. (2008)** Rutin from different parts of *Capparis spinosa* growing wild in Khuzestan/Iran. *Pakistan Journal of Biological Sciences*.11(5): p 768-72.

Références bibliographiques

- **Roede J.R et Jones D.P. (2010).** Reactive species and mitochondrial dysfunction: mechanistic significance of 4-hydroxynonenal. *Environmental and molecular mutagenesis*. 51. P 380 .

S

- **Saffidine K. (2015).** Etude analytique et biologique des flavonoïdes extraits de *Carthamuscaeruleus L.* et de *Plantago major L.* Mémoire de Doctorat. Option microbiologie. Université Ferhat Abbas-Sétif-Algérie. P 92 .
- **Schraudolf H. (1989).** Indole glucosinolates of *Capparis spinosa*. *Phytochemistry*. 28: p 259– 260.
- **Sekli-Belaidi .F . (2011).** Fonctionnalisation de surface d'électrodes par un film de poly (3,4 éthylénedioxythiophène) PEDOT pour l'élaboration de microcapteur spécifique des acides ascorbique et urique : application à l'études des propriétés antioxydantes du sérum sanguin. Université de Toulouse, p 6-17.
- **Sharaf M, El-Ansari MA, Saleh NA. (2000).** Quercetin triglycoside from *Capparis spinosa*. *Fitotetrapia*. 71: p 46-49.
- **Siracusa L, Kulisic-Bilusic T, Politeo O, Krause I, Dejanovic B, Ruberto G. (2011).** Phenolic composition and antioxidant activity of aqueous infusions from *Capparis spinosa L.* and *Crithmum maritimum L.* before and after submission to a two-step in vitro digestion model. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 59: p 12453– 12459.

T

- **Tadeg, H., Mohammed, E., Asres, K., and Gebre-Mariam, T. (2005).** Antimicrobial activities of some selected traditional Ethiopian medicinal plants used in the treatment of skin disorders. *Journal of ethnopharmacology*. 100(1):p 168-175.
- **Tesoriere, L., D. Butera, D., Gentile, C., Livrea, M.A. (2007)** Bioactive Components of Caper (*Capparis spinosa L*) from Sicily and Antioxidant Effects in a Red Meat Simulated Gastric Digestion. *J. Agric. Food. Chem.* 55: p 8465–8471.
- **Tlili N, Munné-Bosch S, Nasri N, Saadaoui E, Khaldi A, Triki S. (2009a).** Fatty acids, tocopherols and carotenoids from seeds of Tunisian caper "*Capparis spinosa*". *Journal of Food Lipids*. 16: p 452 – 464.

Références bibliographiques

- **Tlili N., Elfalleh W., Saadaoui E., Khaldi A., Triki S., Nasri N. (2011)** • The caper (*Capparis L.*): Ethnopharmacology, phytochemical and pharmacological properties. Tunisia. *Fitoterapia* 82 : p 93-101.
- **Tlili N., Nasri N., Saadaoui E., Khalidi A. et Triki S. (2009b)**. Carotenoid and tocopherol composition of leaves, buds, and flowers of *Capparis spinosa* grown wild in Tunisia. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 57 (12): p 5381- 5385.
- **Trombetta D, Occhiuto F, Perri D, Puglia C, Santagati NA, De Pasquale A, Saija A, Bonina F. (2005)**. Antiallergic and antihistaminic effect of two extracts of *Capparis spinosa L.* flowering buds. *Phytotherapy Reserch*. 19: p 29-33.

V

- **Valko.M. et al .(2004)**. Metals,toxicity ans oxydative stress, p 1161-1208.
- **Van Delden C. et Iglewski B.H., (1998)**. Cell-to-cell signaling and *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Emerging Infectious Diseases*. 4; p 551-560.

W

- **Wagner, H., Bladt, S. (1996)**. Plant druganalysis: athinlayer chromatography atlas. Springer Science and Business Media. P 384.
- **Walker, J.E.M., Saraste, M. J., Runswick And N. J. Gay (1982)**. Distantly Related Sequences In The Alpha And Beta-Subunits Of ATP Synthase, Myosin, Kinases And Other ATP-Requiring Enzymes And A Common Nucleotide Binding Fold. *Embo J*, 1(8) .p 945-51
- **Wu, Z.Y. (1999)** Capparidaceae. *Flora of China*. Science Press, Beijing. 32: p 484–540.

X

- **Xia E.Q., Deng G.F., Guo Y. J. et Li H.B., (2011)**. Biological activities of polyphenols from grapes. *International Journal of Molecular Sciences*. 11(2) : p 622-646.

Y

Références bibliographiques

- **Yang T, Wang CH, Chou GX, Wu T, Cheng XM, Wang ZT.** (2010). New alkaloids from *Capparis spinosa*: structure and X-ray crystallographic analysis. *Food Chemistry*. 123: p 705–710.
- **Yu Y, Gao H, Tang Z, Song X, Wu L.** (2006). Several phenolic acids from the fruit of *Capparis spinosa*. *Asian Journal of Traditional Medicines*. 1: p 3-4.

Z

- **Zeghad N.** (2009). Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. Mémoire de Magister en biotechnologie végétale. Université Mentouri-Constantine. P 26-28-84 .
- **Zerargui.F.** (2015). Activité antioxydante des extraits de racines Tamus Communis et caractérisation des substances bioactives. Université Ferhat Abbas Sétif 1, p 3-10.
- **Zhang H et Feei Ma Z.** (2018). Phytochemical and pharmacological properties of *Capparis spinosa* as a medicinal plant. *Nutrients*. 10: p 116-130.
- **Zhang S, Hu DB, He JB, Guan KY, Zhu HJ.** (2014). A novel tetrahydroquinoline acid and a new racemic benzofuranone from *Capparis spinosa* L., a case study of absolute configuration determination using quantum methods. *Tetrahedron*. 70: p 869–873.
- **Zhou HF, Xie C, Jian R, Li Y, Zhuang CL, Yang F, Zhang LL, Lai L, Wu T, Wu X.** (2011). Biflavonoids from Caper (*Capparis spinosa* L.) fruits and their effects in inhibiting NF-kappa B activation. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 59: p 3060–3065.

Annexe 1

La Mc Farland standard 0.5 est une solution utilisée lors de la préparation des inocula bactériens.

Il se prépare en mélangeant 99.5ml d'Acide Sulfurique (0.18M) et 0.5ml de Chlorure de baryum (0.048 M) dans des tubes identiques aux tubes utilisés pour la préparation de l'inoculum. Il faut le stocker dans l'obscurité à une température de 22°C à 25°C.

Après la préparation de la solution, on doit vérifier l'exactitude de la densité de Mc Farland par le spectrophotomètre à longueur d'onde de 625nm devrait être compris entre 0.08 et 0.13. Avant chaque utilisation, agité le tube pour mélanger le fin précipité blanc de Sulfate de Baryum.

Annexe 2

Gélose de Muller Hinton est une gélose standardisée pour les tests de sensibilité aux antibiotiques et sulfamides.

Pour la préparation de la gélose de Muller Hinton, on a besoin :

- 38g de la poudre du Muller Hinton Agar.

Les étapes de préparation sont :

1. Dans un bécher, en dissolvant la poudre dans un litre de l'eau distillé, il faut l'homogénéiser et chauffer en agitant.
2. porté à ébullition environ une minute
3. met dans des flacons de verre bien fermé pour stériliser à l'autoclave pendant 15min à 121.1°C.

Pour l'utiliser, laisser le refroidir, puis couler en boîte de pétri (25ml par boîte) dans un milieu stérile et laisser reposer. Ils sont prêts à l'utilisation immédiatement ou stocker à 2°C à 8°C pendant une semaine au plus.

Nom et prénom : HAOUASSI abdelaziz
HASSAD rami

Date de soutenance :13/07/2021

Master Académique en : Biochimie Appliquée

Exploration phytochimique et évaluation *in vitro* des activités biologiques d'une plante médicinale locale «*Capparis spinosa L*»

Résumé

Les plantes médicinales sont devenues avec l'évolution de la science les extraits de base pour le traitement de nombreuses pathologies et afin de valoriser les plantes médicinales Algériennes; l'objectif de cette étude est l'exploration phytochimique et l'évaluation *in vitro* du pouvoir antioxydant et antibactérien des fractions organiques issues d'une plante de la pharmacopée traditionnelle, récoltée de la région de Khenchela (*Capparis spinosa L*).

Le screening phytochimique réalisé, a révélé la richesse de notre plante en métabolites secondaires dont nous avons constaté la présence des flavonoïdes, des saponines, des tanins, des alcaloïdes, des composés réducteurs et les coumarines.

Ainsi, l'étude qualitative par CCM des extraits a révélée une diversité remarquable des composés flavonoïques susceptibles d'exprimer les activités recherchées.

L'étude *in vitro* de l'activité antioxydante des extraits du Câprier en utilisant l'effet scavenger du radical libre DPPH a montré que l'extrait n-butanolique (En-B) a une très forte activité anti-radicalaire vis-à-vis ce radical suivis par l'extrait d'acétate d'éthyle(EAE) avec des IC50 égales à 0.003 mg/ml et 0.027 mg/ml respectivement.

Quant à l'activité antibactérienne, un test de sensibilité sur trois souches bactériennes, deux Gram négatif (*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*) et une Gram positif (*Staphylococcus aureus*), est réalisé en adoptant la méthode des disques, les résultats obtenus présentent une différence entre les souches testées dont l'effet inhibiteur le plus marqué est obtenu avec la souche *Staphylococcus aureus* par un diamètre de zone d'inhibition égal à 21mm.

En conclusion; *Capparis spinosa L* est doué d'une activité antioxydante et antibactérienne remarquables. De ce fait, il peut constituer une ressource naturelle afin d'atténuer les complications du stress oxydant associé ou déclenchant d'autres maladies et une bonne alternative aux antibiotiques contre les infections bactériennes.

Mots clés: activité antibactérienne, activité antioxydante, *Capparis spinosa L*, CCM, flavonoïdes.