

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

Université Mohamed Seddik Ben Yahia – Jijel



Faculté Des Sciences Exactes Et Informatique

Département : Chimie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Chimie

Spécialité : Chimie Pharmaceutique

Thème

Etude de l'activité anti-oxydante de l'espèce *Capparis spinosa L*

Réalisé par : *Mammeri Warda & Zelbah Meriem*

Jury :

- | | | | |
|--------------------------------|-----|--------------|---------------------|
| • M ^{me} . BOUTAOUIN | MCB | Présidente | Université de Jijel |
| • M ^{me} . TABTI N | MAA | Examinatrice | Université de Jijel |
| • M ^{me} . BOUCHAIR N | MCB | Encadreur | Université de Jijel |
| • M ^{me} . KEMEL M | MAA | Co-Encadreur | Université de Jijel |

Année universitaire : 2020/2021

Remerciement



*Avant tout, nous tenons à remercier infiniment
et profondément ALLAH le tout puissant pour nous avoir donné
le courage, la volonté, la santé et surtout la patience pour
achever ce travail.*

*Nous exprimons nos profonds remerciements à notre
Encadreur **Dr. Nabila Bouchair** maitre de conférence au département de chimie et co-
encadreur **M^{me}. Kemel M** maitre assistante département de chimie avoir accepté de
nous encadrer, et pour leur appui, leur aide, leurs remarques,
leurs conseils et leurs orientations tout au long de ce travail.*

Avec nos plus sincères remerciements.

*Nous tenons particulièrement à remercier les membres
Du jury ; la présidente **Dr. Boutaoui N** maitre de conférence au département de chimie et
l'examinatrice **Tabti N** maitre assistante département de chimie d'avoir accepté d'examiner
et de juger ce modeste travail.*

*Nous tenons également à remercier vivement tout le personnel
du laboratoire de pédagogie de chimie
« **ingénieurs et collègues** » pour leurs aides et leurs soutiens, sans oublier tous nos
enseignants et **le chef département.***

*Et finalement un grand merci à tous ceux qui nous
ont aidés de près et de loin à la
réalisation de ce travail.*

Dédicace

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

A l'homme, mon précieux offre de dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect

♥ Mon cher père Mohamed ♥

A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse

♥ Mon adorable mère Fatima ♥

A mes chères frères et leurs femmes « Ammar ; Massoud ; Mouloud ; Saleh ; Abd Albaki ; Mahfoud » pour leur sacrifiée.

A mes chères sœurs et leurs maris « Massouda ; Farida » qui n'ont pas cessée de me conseille, encourager et soutenir tout au long de mes études.

Que Dieu les protégé et leur offre la chance et le bonheur.

A mes très chères sœurs « Salima » Que Dieu lui fasse miséricorde.

A tous mon petit amour. Que Dieu vous protège ainsi que votre famille.

Ma belle grande mère « Zineb ». Que Dieu leur donne une longue et joyeuse vie.

A Mes chères amies, surtout « Khadija ; Halima ; Chafia ; Faiza ; Sabrina ; Nadjiba ; sommia ; Warda ».

A tous mes collègues de la promotion 2021 chimie pharmaceutique.

Meriem

Dédicace

A mes parents

*Qui m'ont transmis de l'amour la joie le courage et pour l'éducation qu'ils
m'ont prodigué*

*Aucun dédicace aucun mot ne pourrait exprimer mon respect ma
considération et mes profonds sentiment envers eux je prie mon dieu de les
bénir de veiller sur eux j'espère qu'ils seront toujours fiers de moi.*

A mes sœurs et mes frères

Ossama, Imen, Assma, Aya, Anis.

*Pour votre soutien moral et encouragements vous m'avez appris la patience
et la concentration sur mon travail.*

A mon binôme Meriem

*Je vous remercie pour votre soutien moral, ta patience et votre dévouement à ce
travail, Je vous dédie le fruit de nos efforts.*

A mes Amis

*Une dédicace spéciale pour mes chères copines : Nada, Maissa, Rokia, Meriem,
Imen, Nada, Madiha et Kaouter en témoignage de l'amitié qui nous uni, des
souvenirs, et de tous les moments que nous avons passés ensemble
Sans oublier toutes les personnes que je porte dans mon cœur
A ma très chère collègue de promotion 2021*

Warda

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des Figures

Liste des Tableaux

Introduction..... 1

Chapitre I : Etude bibliographique de la plante.

I.1. Etude botanique de <i>Capparis spinosa</i> L	3
I.1.1. Historique.....	3
I.1.2. Plante du câprier.....	4
I.1.3. la famille des caprier	4
I.1.4. Etat systématique.....	4
I.1.5. Aspect botanique de <i>Capparis spinosa</i> L	4
I.1.6. Répartition géographique.....	5
I.1.6.1. Distribution mondiale.....	5
I.1.6.2. Situation géographique du câprier en Algérie	6
I.1.7. Composition chimique de la plante.....	6
I.1.8. Utilisation et propriétés thérapeutiques du <i>Capparis spinosa</i>	7

Chapitre II :Généralités sur les métabolites secondaires.

II.1. Les métabolites secondaires	10
II.1.1. Définition.....	10
II.1.2. Classification des métabolites secondaires	10
II.1.2.1. Les composés phénoliques	10
II.1.2.1.1. classification.....	11

II.1.2.1.2. Activité biologiques des composés phénoliques	16
II.1.2.2. Les alcaloïdes.....	17
II.1.2.2.1. Propriétés des alcaloïdes.....	18
II.1.2.3. Les saponines.....	19
II.2. Huiles essentielles.....	19
II.2.1. Propriétés physico-chimiques des HE	20
II.2.2. Composition Chimiques de l'huile essentielle	20
II.2.2.1. Les terpénoïdes	20
II.2.2.2. Composés aromatiques dérivés du phénylpropane.....	24
II.2.3. Activité biologique des huiles essentielles.....	25

Chapitre III : Activité antioxydante.

III. Activité antioxydante	26
III.1.Définition du stress oxydatif	26
III.2.Définitions des radicaux libres	26
III.3. Antioxydants	27
III.3.1. Mécanisme d'action	27
III.3.2. Types des antioxydants	28
III.3.2.1. Antioxydants endogènes (enzymatiques).....	28
III.3.2.2. Antioxydants exogènes (non enzymatiques)	28
III.4. Conséquence du stress oxydatif	30

Chapitre IV : Matériels et méthodes.

IV. Matériels et méthodes	31
IV.1. Matériel végétal.....	31
IV.2. Extraction.....	31
IV.3. Obtention des huiles essentielles par hydrodistillation	33
IV.4. Dosage des phénols totaux	34

IV.5. Évaluation de l'activité antioxydante.....	34
IV.5.1. Pouvoir réducteur de l'ion ferrique (FRAP) :	34
IV.5.2. Mesure du pouvoir anti-radicalaire par le test DPPH	35
IV.5.3. Piégeage de l'ABTS ⁺	37

Chapitre V : résultats et discussions .

V.1. Détermination du rendement de l'extraction.....	39
V.2. Teneur en polyphénols	40
V.3. Évaluation de l'activité antioxydante des extraits de la plante.....	42
V.3.1. Test de réduction du fer	42
V.3.2. Test de piégeage du radical DPPH	43
V.3.3. Le piégeage du radical ABTS.....	45
V.4. Composition chimique de l'huile essentielle du <i>Capparis spinosa</i> L.....	47
V.5. Évaluation de l'activité antioxydante de l'huile essentielle de <i>Capparis spinosa</i>	49
Conclusion	52
Références bibliographiques	53

Listes des abréviations

ABTS	: Acide 2,2'azino-bis-(3-éthylbenzothiazoline-6- sulfonique)
AcOEt	: Acétate d'éthyle
AFNOR	: Association française de normalisation
CG/SM	: Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
Cu-SOD	: La superoxyde dismutase à cuivre
DPPH	: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl
ERO	: Espèces réactives de l'oxygène
EtOH	: Ethanol
Fe-SOD	: La superoxyde dismutase ferreux
FRAP	: Pouvoir réducteur de l'ion ferrique
g	: Gramme
GGPP	: Géranylgeranyl- pyrophosphate
GPx	: Glutathion peroxydase
h	: Heure
H ₂ O ₂	: peroxyde d'hydrogène
HE	: Huile essentielle
IC50	: Concentration inhibitrice médiane
m ₀	: Masse de la matière végétale
MeOH	: Méthanol
mg EAG/g Ext	: Milligramme équivalent de l'acide gallique par gramme de l'extrait
min	: Minute
ml	: Millilitre
Mn-SOD	: La superoxyde dismutase à manganèse
MS	: Métabolite secondaire
ms	: Masse en gramme de l'extrait obtenue
n-BuOH	: n-butanol

nm	: Nanomètre
$O_2^{\cdot -}$: l'anion superoxyde
OH^{\cdot}	: le radical hydroxyle
PP	: Polyphénols
Rdt	: Rendement
SOD	: La superoxyde dismutase
T	: Temps
UV	: Ultra-Violet
% PI	: Pourcentage d'inhibition
μM	: Micro-molaire

Listes des figures

Figure 01	: La plante de capparid.....	3
Figure 02	: Différentes parties de <i>Capparis spinosa</i> L.....	5
Figure 03	: Distribution naturelle du Câprier en Afro-Eurasie.....	5
Figure 04	: Structure de base des composés phénoliques.....	11
Figure 05	: Structures chimiques de quelques dérivés de l'acide benzoïque.....	12
Figure 06	: Structures chimiques de quelques dérivés de l'acide cinnamique.....	12
Figure 07	: Exemples de molécules de tanins hydrosolubles.....	13
Figure 08	: Exemples de molécules de tanins condensés.....	13
Figure 09	: Squelette de base des coumarines.....	14
Figure 10	: Le motif du 4-dicéto cyclohexa 2, 5-diénoïque.....	14
Figure 11	: Structure de base des flavonoïdes.....	15
Figure 12	: Structure chimique d'un alcaloïde vrai.....	18
Figure 13	: Structure chimique d'un pseudo alcaloïde.....	18
Figure 14	: Structure chimique d'un proto alcaloïde.....	19
Figure 15	: Structure de saponine de soja.....	19
Figure 16	: Structure de l'isoprène.....	21
Figure 17	: Structure de quelques monoterpènes.....	22
Figure 18	: Squelette « iridane ».....	22
Figure 19	: Squelette « farnésol ».....	23

Figure 20	: Squelette « acide abiétique ».....	23
Figure 21	: Squelette « Malabricane ».....	23
Figure 22	:Squelette « β -carotène ».....	24
Figure 23	:Squelette «l'anéthole ».....	25
Figure 24	Déséquilibre de la balance pro-oxydant /antioxydant.....	26
Figure 25	: Neutralisation d'un radical libre par un antioxydant.....	27
Figure 26	: Structure Acide ascorbique.....	29
Figure 27	: Structure de α -tocophérol.....	29
Figure 28	: Structure de l'apocaroténal, un dérivé de caroténoïde.....	30
Figure 29	: les différente étape d'extraction de la plante <i>Capparis spinosa</i> L	31
	
Figure 30	: Schéma récapitulatif de protocole d'extraction de la plante.....	32
Figure 31	: Montage de l'hydrodistillation.....	33
Figure 32	: les solution de l'extrait acétate après l'ajout du FeCl ₃	35
Figure 33	: Piégeage du radical DPPH avec l'antioxydant (AH).....	36
Figure 34	Formation du radical cation ABTS ^{•+} à partir de l'ABTS.....	37
Figure 35	Rendement des extraits de <i>Capparis spinosa</i> L.....	40
Figure 36	: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	40
Figure 37	Teneur en polyphénols des extraits ; CHCl ₃ ; AcOEt et n-BuOH	41
Figure 38	Pouvoir réducteur des extraits de <i>capparis spinosa</i> L et l'acide ascorbique.....	42
Figure 39	Pourcentage d'inhibition du radical DPPH des extraits de <i>Capparis spinosa</i> L de l'acide ascorbique.....	43
Figure 40	Histogramme représentantée les Valeurs des IC50 exprimées en μ g/ml des	44

	extraits.....	
Figure 41	Pourcentage d'inhibition du radical ABTS des extraits testés et l'antioxydant de reference.....	45
Figure 42	Histogrammes représentent les Valeurs des IC50 exprimées en mg/ml des extraits (AcOEt, n-BuOH, CHCl ₃).....	46
Figure 43	Le rendement de quelques constituants majeurs de l'huile essentielle.....	49
Figure 44	Pourcentage d'inhibition du radical DPPH de l'huile essentielle de <i>Capparis spinosa</i> L et de l'acide ascorbique.....	49
Figure 45	Pourcentage d'inhibition du radical ABTS de l'huile essentielle avec l'antioxydant de reference.....	50

Liste des tableaux

Tableau 01	: Classification botanique de <i>Capparis spinosa</i>	4
Tableau 02	: Quelques utilisations traditionnelles <i>du Capparis spinosa</i>	8
Tableau 03	: Quelques classes distinctes des flavonoïdes	15
Tableau 04	: Activités biologiques des composés phénoliques.....	17
Tableau 05	: Rendement des extraits d'une espèce du genre <i>Capparis</i>	39
Tableau 06	: Résultats de la quantification spectrophotométrique des phénols totaux	41
Tableau 07	: Valeurs des IC50 exprimées du test DPPH en (µg/ml) des extraits (chloroforme, n-butanolique et acétate d'éthyle) comparativement avec l'acide ascorbique	44
Tableau 08	: Valeurs des IC50 du test ABTS exprimées en (µg/ml) des extraits (chloroforme, n-butanolique et acétate d'éthyle) comparativement avec l'acide ascorbique.....	46
Tableau 09	: les structures de quelque composées majoritaire.....	47
Tableau 10	: Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Capparis spinosa</i> L.....	48
Tableau 11	: Valeurs des IC50 du test DPPH exprimées en (µg/ml) de l'huile essentielle et de l'acide ascorbique.....	50
Tableau 12	: Valeurs des IC50 du test ABTS exprimées en (µg/ml) de l'huile essentielle et de l'acide ascorbique.....	51

Introduction

Les plantes ont toujours fait partie de la vie quotidienne de l'homme. En effet, le monde des végétaux est plein de ressources et de vertus d'où l'homme puise non seulement sa nourriture mais aussi des substances actives qui procurent un bienfait à son organisme parfois affecté de troubles insidieux (Baba-Aïssa, 2000). Les médecines « douces », particulièrement la phytothérapie, connaissent un succès considérable dans de nombreuses régions d'Afrique, d'Asie et d'Europe. Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), plus de 80 % de la population mondiale, surtout dans les pays sous-développés, utilisent les plantes médicinales comme principal traitement, du fait de l'accessibilité de ce type de soins au coût abordable et surtout en raison du manque d'accès à la médecine moderne de ces populations

Il est actuellement largement reconnu que le monde végétal constitue une source importante de médicaments, grâce à sa richesse en produits intéressants du métabolisme secondaire; celui-ci produit des molécules variées permettant aux plantes de contrôler leur environnement animal et végétal (Eddouks *et al.*, 2007). De plus, un grand nombre de ces molécules ont également des intérêts multiples, dans l'industrie alimentaire et en cosmétologie (Bouzouita *et al.*, 2008). Parmi ces composés, on retrouve les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tannins, les terpènes et les flavonoïdes (Bahorun *et al.*, 1996).

Les composés antioxydants font actuellement l'objet de nombreuses études car, en plus de leur intérêt dans le traitement de certaines pathologies, ils sont aussi utilisés pour la conservation des denrées comestibles pour l'industrie agroalimentaire (par exemple empêcher l'oxydation des lipides).

De ce fait, l'importance des antioxydants s'est focalisée sur le développement de la recherche et l'isolation des antioxydants naturels à partir des végétaux et cela pour remplacer ceux qui sont synthétiques (Pan *et al.*, 2008 ; Atmani *et al.*, 2009).

Au cours de ces dernières décennies, une grande attention a été portée aux effets pharmacologiques de *Capparis spinosa* en raison de son utilisation en médecine traditionnelle, et de son grand nombre de constituants bioactifs, en particulier ses composés phénoliques, qui sont responsables, seuls ou en combinaison, de ses diverses activités pharmacologiques. Ses différentes parties ont été largement utilisées pour le traitement de diverses maladies humaines (Zhang *et al.*, 2018).

L'objectif global de notre travail vise à la recherche de l'activité antioxydante des extraits et de l'huile essentielle obtenus à partir de la partie aérienne de la plante *Capparis spinosa L.*, qui appartient à la famille des capparaceae. Ce travail est réparti en deux parties :

Le premier volet est une étude bibliographique divisée en trois chapitres ; nous aborderons dans le premier des études botaniques sur la plante *Capparis spinosa L.*, dans le deuxième chapitre des données générales sur les métabolites secondaires, leurs classifications et leurs propriétés pharmacologiques, le troisième chapitre aborde une étude bibliographique réalisée sur les radicaux libres et les antioxydants.

Le deuxième volet est une étude expérimentale qui consiste en un premier chapitre qui présente la méthodologie utilisée pour la réalisation des analyses phytochimiques et l'évaluation de l'activité antioxydante de la plante étudiée. Dans le second chapitre, nous discuterons les résultats obtenus lors de cette étude.

Notre travail sera achevé par une conclusion.

Partie

Bibliographique

Chapitre I

Etude

Bibliographique

de la plante

I.1. Etude botanique de *Capparis spinosa* L

I.1.1. Historique

Capparis Spinosa Lest une espèce d'arbrisseau méditerranéen, qui pousse spontanément dans les zones rocheuses. Les italiens ont été les premiers à parler de la culture du câprier et ce dès le 13^{ème} siècle. Les français l'ont connue vers le 17^{ème} siècle. Quant aux espagnols, c'est en 1875 qu'ils avaient commencé la production. Les marocains vers 1920 ont collecté et exporté sur les marchés les câpres. La culture de cette capparidacée remonte à l'antiquité. Dans la Grèce ancienne la câpre est très prisée comme condiment. Le Maroc est le premier exportateur mondial de câpres en 1920 (Benzidane., 2018).

En Algérie, les câpriers poussent spontanément et elles sont cultivées parfois, et nous trouvons que la population rurale en Algérie a un lien fort avec cette plante car elle possède de nombreuses propriétés thérapeutiques décrites dans beaucoup de recherches botaniques locales (Benzidane., 2018).

I.1.2. Plante du câprier

Capparis spinosa L, est une plante de la famille des *Capparidaceae* communément appelée le câprier, le Kabbar en Algérie. C'est un petit arbuste épineux, prosterné, largement répandu dans le bassin méditerranéen, et dans les milieux secs le long du littoral d'Europe, d'Afrique du nord, jusqu'au sud de l'Asie et l'Australie (Karnouf., 2009). Le câprier est cultivé pour ses boutons floraux appelés câpres au goût puissant. Il contient plus de 350 espèces utilisées pour différentes fins (alimentation, médecine, ornementation, cosmétique). Les bourgeons floraux, appelés également câpres, constituent la partie de la plante la plus recherchée pour la consommation humaine (Satyanarayana *et al.*, 2008).



Figure 01. La plante du capparidacée.

I.1.3. La famille de capparaceae

La famille des Capparaceae 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*, *Cleome* et *Crateva* (Aghel *et al.*, 2007).

Le câprier (*Capparis spinosa* L) est une espèce du genre *Capparis* de la famille des Capparaceae (Jiang *et al.*, 2007 ; Tlili *et 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 (Inocencio *et al.*, 2006).

I.1.4. Etat systématique

Tableau 01. Classification botanique de *Capparis spinosa* (Zeraoula *et al.*, 2018).

Règne	Plantae
Sous règne	<i>Tracheobiontae</i>
Division	<i>Magnoliophytae</i>
Classe	<i>Magnoliopsidae</i>
Sous-classe	<i>Dilleniidae</i>
Ordre	<i>Capparales</i>
Famille	<i>Capparaceae</i>
Genre	<i>Capparis</i>
Espèce	<i>Capparis Spinosa</i> L.

I.1.5. Aspect botanique de *Capparis spinosa* L

Le câprier est une plante vivace arbustive très répandue dans les pays du bassin méditerranéen (Lkrimi, 1997). Elle mesure, à l'âge adulte, 50 à 80 cm en hauteur et 1 à 1.5 m en largeur. Elle présente un tronc court avec plusieurs rameaux caractérisés par un aspect ascendant, une couleur verte ou rougeâtre selon les variétés et la présence d'épines stipulaires, les feuilles ont généralement des formes ovales à arrondies avec une grande variabilité entre individus portant sur la longueur du pétiole ainsi que sur la largeur et la forme du limbe (Lkrimi, 1997).

Les fleurs sont axillaires, solitaires, composées de quatre grands sépales verts et de quatre pétales blancs veinés de rose et de nombreuses étamines très longues et d'un étrange pistil, très long qui sort de la fleur. Le fruit est ovoïdes oblong, rougeâtre, s'ouvre à la fin de la

maturité. Les graines sont noire, matée, lisses en forme de rein de 3 mm de longueur (Satyanarayana *et al.*, 2008).



Figure 02. Différentes parties de *Capparis spinosa* L.

I.1.6. Répartition géographique

1.1.6.1. Distribution mondiale

Capparis spinosa L est répandu dans une vaste zone allant des côtes atlantiques des îles Canaries et du Maroc jusqu'à la Mer Noire en Crimée et en Arménie et à la Mer Caspienne en Iran. Elle a été naturalisée dans de nombreux pays au climat méditerranéen, comme les États-Unis (Californie) et l'Australie. Il est également produit dans différents pays méditerranéens comme l'Algérie, Espagne, Italie, Grèce, Türkiye et Maroc (Zeraoula *et al.*, 2018).

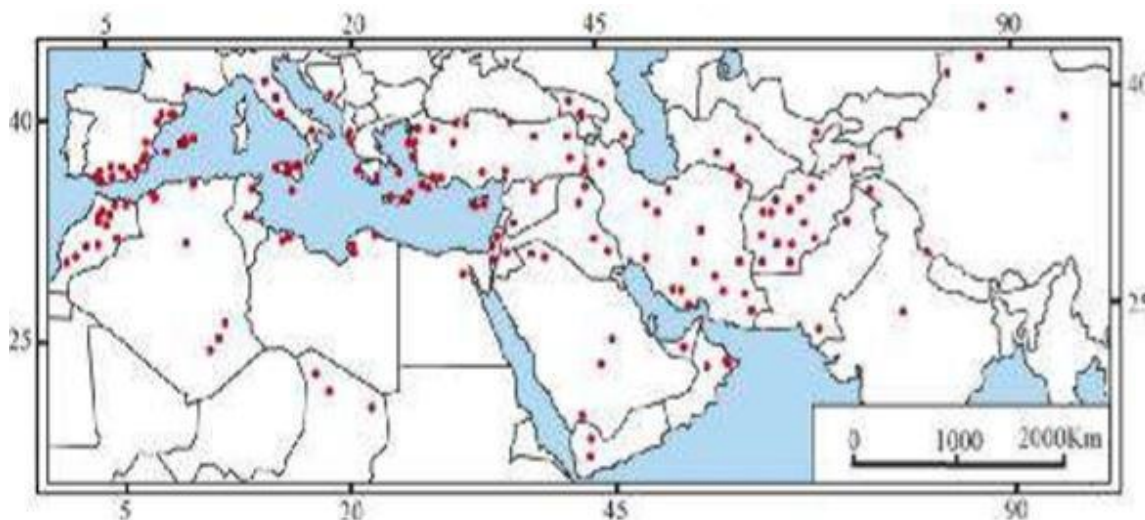


Figure 03. Distribution naturelle du Câprier en Afro-Eurasie (Zeraoula *et al.*, 2018).

On remarque alors qu'il s'est localisé de façoné par seaussien divers points, largement répandu dans les pays du pour tour méditerranéen, et dans les milieux secs le long du littoral d'Europe et d'Afrique du nord jusqu'au sud de l'Asie et dans l'Australie (Benzidane, 2018).

I.1.6.2. Situation géographique du câprier en Algérie

En Algérie, le câprier couvre de vastes surfaces mais de manière éparse. Il peut être planté dans les espaces inaptes à l'agriculture, pour la reconstitution végétale des zones où on ne saurait faire pousser des espèces délicates ; Il pousse spontanément dans des zones spéciales sur un terrain en pente, talus, ravins, gorges, la rocaille, et même sur les vieux murs. Il est répandu sur la bande qui traverse la wilaya de Taref, Annaba, Skikkda, Mila, Setif, Bordj bouariridje, Bouira, ...Jusqu'au Maroc. Une extension à certaines wilayas de l'intérieur, telles que : Khenchela, Tébessa, Ghilizane ; Cette plante est considérée comme résistante aux conditions arides, elle se développe sur un sol de nature schisteuse, sableuse, tolérance aux sels, craint les zones inondées, comme certaines zones désertiques telles que Ghardaïa (Benseghir *et al.*, 2007).

I.1.7. Composition chimique de la plante

Plusieurs études phytochimiques ont montré que *Capparis spinosa* L comporte un amalgame de composés actifs dans ses diverses parties.

Les polyphénols et les flavonoïdes sont présents dans le câprier (Panico *et al.*, 2005) (Satyanarayana *et al.*, 2008). Il est montré que les bourgeons floraux du câprier contiennent les flavonoïdes suivants : la quercétine, la rutine, la quercétine-3-rutinosides, la quercétine-7-O-glucorhamnoside, le kaempférole-3-rutinosides, le kaempférole 3-O-rhamnosyl-rutinoside (Inocencio *et al.*, 2000 ; Bonina *et al.*, 2002).

La partie aérienne de la plante contient aussi la quercétine 3-O-glucoside, la quercétine 3-O-glucoside-7-O-rhamnoside, la quercétine 3-O-[6''- α -L-rhamnosyl-6''- β -D-glucosyl]- β -D-glucoside et la quercétine-7-O-D-glucopyranoside- β -L-rhamnopyranoside (Satyanarayana *et al.*, 2008). Le câprier est également riche en acides hydroxycinnamiques y compris l'acide caféique, l'acide férulique, acide p-coumarique et l'acide cinnamique (Panico *et al.*, 2005).

Il contient aussi des composés homologues aux composés polyphénoliques en particulier : le cappaprenole-12, le cappaprenole-13 et le cappaprenole-14.

Les alcaloïdes sont aussi présents dans le câprier, ils sont distribués principalement dans les racines et les graines. La teneur élevée en alcaloïdes est trouvé dans les racines de la plante où la stachydrine représente 87,43 % des alcaloïdes totaux. Trois alcaloïdes spermidines (la

capparispine, la capparispine 26-O- β -D-glucoside et la cadabicine 26-O- β -D-glucoside hydrochloride) ont été identifiés dans les racines de la plante.

Environ 145 composés volatiles sont identifiés dans le câprier. Les aldéhydes (22.2%) et les esters (21%) représentent les classes chimiques les plus abondantes dans la plante. Les feuilles du câprier renferment principalement les isothiocyanates, les n-alkanes, les terpénoïdes, les phénylpropanoïdes, les aldéhydes, et les acides gras. Leurs huiles essentielles sont composées principalement de thymol (26.4%), de l'isothiocyanate d'isopropyle (11%), des 2-hexénal (10.2%) et de l'isothiocyanate butylate (6.3%).

Les composés volatils des fruits mûrs et des racines de la plante renferment principalement le méthyle isothiocyanate l'isopropyle isothiocyanate et le sec-butyl isothiocyanate. Plus de 40 composés sont identifiés dans les huiles essentielles de *Capparis spinosa* L., et les composés majoritaires sont le Carvacrol (28,82%) ; Bornéol (20,88 %) ; β -cymène (12,89 %) ; α -pinène (5,19%) et Linalol (4,59%).

Des triterpénoïdes (α -amyrin), des stérols, des saponines et des faibles quantités de la vitamine E, de β -carotène et de la vitamine C ont été détectées dans la plante. Les grains du câprier contiennent aussi des protéines, des lipides et des fibres (Tesoriere et al., 2007).

I.1.8. Utilisation et propriétés thérapeutiques du *Capparis spinosa*

Capparis Spinosa a été employé par l'homme depuis l'antiquité pour des fins ornementale, alimentaire où les câpres ou les bourgeons de fleur fournissent un condiment recherché et thérapeutiques (Fici, 2014).

Les boutons floraux et les fruits (câpres) de *Capparis Spinosa*, en raison de leur état nutritionnel élevé, sont un ingrédient commun de la cuisine méditerranéenne, notamment italienne, chypriote et maltaise (Megaloudi, 2005). Ils sont souvent marinés dans du sel ou dans une solution de sel et de vinaigre qui donne lieu à un arôme piquant ressemblant à celui de l'huile de moutarde (glucocapparine). Au cours de cette opération, une réaction enzymatique conduit à la formation de rutine et la présence de ce composé flavonoïde peut être vue sous la forme de taches blanches cristallisées à la surface des boutons de câpres (Panico et al., 2005).

Les câpres sont considérés comme un ingrédient unique dans la cuisine italienne, en particulier dans la cuisine sicilienne et du sud de l'Italie. Ceux-ci sont généralement utilisés pour garnir les pizzas et dans les salades, les sauces pour pâtes et les plats de viande (Panico et al., 2005).

Les feuilles de câprier séchées sont également utilisées comme substitut d'une enzyme, la présure, principalement utilisée lors de la préparation d'un fromage de qualité supérieure (Panico *et al.*, 2005 ; Musallam *et al.*, 2011).

Les différentes parties du *Capparis Spinosa* comprenant les fruits et les racines sont largement employées dans la médecine traditionnelle pour traiter plusieurs maladies, et elles ont jusqu'à maintenant (Mansour *et al.*, 2016) essentiellement utilisé comme remède contre : la fièvre, les maux de tête et des dents, le rhumatisme, les convulsions, les douleurs de menstruation, les maladies de la peau et les reins, l'affection hépatique, le diabète, les hémorroïdes, les ulcères, la goutte ...(Zhang et Feei, 2018).

Le tableau suivant résume quelques utilisations traditionnelles de *Capparis Spinosa*.

Tableau 02. Quelques utilisations traditionnelles du *Capparis Spinosa*.

Indication	Partie utilisée	Mode d'utilisation	Référence
Rhumatisme, rhume, migraine	Feuilles et fruits	Décoction, infusion, Pommade	(Ould El Hadj <i>et al.</i> , 2003)
Diabète	Fruits	Décoction	(Kusmenoglu <i>et al.</i> , 1997)
Hypertension et complications diabétiques	Fruits secs	Infusion	(Sher et Alyemini, 2010)
La grippe et infections relatives	Bourgeons à fleurs	Infusion	(Sher et Alyemini, 2010)
Hydropisie, anémie, et rhumatisme	Ecorces de racine	Décoction	(Chopra <i>et al.</i> , 1986) (Bown, 1995 ; Aghel <i>et al.</i> , 2007) (Aniyathi <i>et al.</i> , 2009)
Infections d'oeil	Bourgeons non-ouverts des câpres et écorces de racine	Usage externe	(Aniyathi <i>et al.</i> , 2009) (Sher et Alyemini, 2010)
Rhumatisme et complications gastro-intestinales	Boutons fleurant Racine	Infusion	(Sher et Alyemini, 2010)

Diurèse et pour stimuler l'appétit	Ecorces de tige	Décoction, avant les repas	(Sher et Alyemini, 2010)
Hépatoprotectif	Ecorces de racine	Infusion	(Sher et Alyemini, 2010)
Faiblesse capillaire et maladies de la peau	Boutons fleurant et écorces de racine	Usage externe	(Aghel <i>et al.</i> , 2007) (Sher et Alyemini, 2010)

Chapitre II

Généralités sur les métabolites secondaires

II.1. Les métabolites secondaires**II.1.1. Définition**

Le terme « métabolite secondaire », qui a probablement été introduit par Albrecht Kossel en 1891, est utilisé pour décrire une large gamme de composés chimiques dans les plantes, qui remplissent des fonctions périphériques indirectement essentielles à la vie des plantes, telles que la communication intercellulaire, la défense et la régulation des cycles catalytiques.

Les métabolites secondaires (SM) sont présents dans toutes les plantes supérieures, et ont une distribution restreinte dans l'organisme de la plante. Plus de 200.000 structures ont été définies et sont d'une variété structurale extraordinaire mais sont produits en faibles quantités. Ces molécules marquent de manière originale, une espèce, une famille ou un genre de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique (Hartmann, 2007).

II.1.2. Classification des métabolites secondaires

On peut classer les métabolites secondaires en trois grands groupes : les composés phénoliques, les alcaloïdes et les terpènes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine (Krief, 2003) .

II.1.2.1. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques ou les polyphénols (PP) constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal. Ils sont des produits du métabolisme secondaire des plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Ce qui signifie qu'ils n'exercent pas de fonctions directes au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal, comme la croissance, ou la reproduction (Fleuriet, 1982 ; Yusuf, 2006). Les composés phénoliques jouent un rôle essentiel, car ce sont des éléments importants de qualités sensorielles (couleur et caractères organoleptiques) et nutritionnelles des végétaux. Une alimentation équilibrée fournit à l'homme environ un gramme de polyphénols chaque jour, soit dix fois plus que de vitamine C et 100 fois plus que de caroténoïdes ou vitamine E (Scalbert *et al.*, 2005).

Les composés phénoliques sont des molécules caractérisées par la présence de phénol dans leur structure : un cycle aromatique portant un groupement hydroxyle libre. Ce sont des

composés chimiquement hétérogènes : certains solubles dans les solvants organiques, certains dans l'eau et d'autres des polymères insolubles (Anulika *et al.*, 2016).

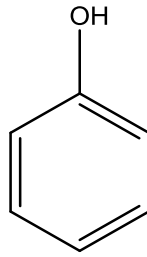


Figure 04. Structure de base des composés phénoliques (Dacosta, 2003).

II.1.2.1.1. Classification

Les principales classes de composants phénoliques sont : les acides phénoliques (acide caféique, acide hydroxy cinnamique, acide chlorogénique), les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols, les tanins, et les coumarines (King *et al.*, 1999 ; Tapiero, 2002).

a. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques, sont plutôt rares dans la nature. Ce sont des composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique (Bruneton, 2009). Ces composés sont représentés par deux sous-classes: les dérivés de l'acide hydroxy benzoïque et de l'acide hydroxy cinnamique.

❖ Acides phénols dérivés de l'acide benzoïque:

Les acides phénols en C6-C1 dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque, sont très communs aussi bien sous forme libre que combinés à l'états d'ester ou d'hétéroside (Bruneton, 2009). Ils sont principalement représentés par les acides p-hydroxybenzoïques, protocatéchiques, vanilliques, galliques, syringiques, salicyliques, o-hydroxybenzoïques et gentisiques.

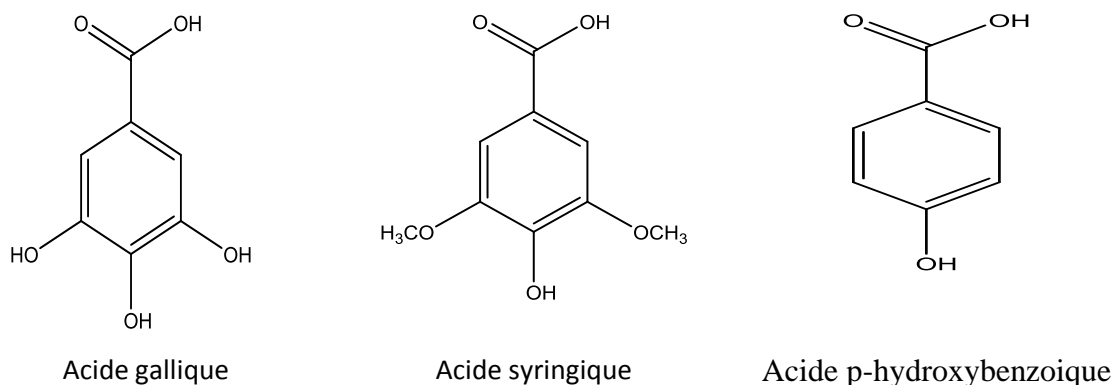


Figure 05. Structures chimiques de quelques dérivés de l'acide benzoïque .

❖ **Acides phénols dérivés de l'acide cinnamique :**

Ces acides possèdent une structure du type C6-C3, ils ont une distribution très large. Rarement libres, ils sont souvent estérifiés. Les acides hydroxy cinnamiques sont plus communs que les acides hydroxybenzoïques et consistent principalement en acide p-coumarinique, caféique, férulique et sinapique (Manach *et al*, 2004).

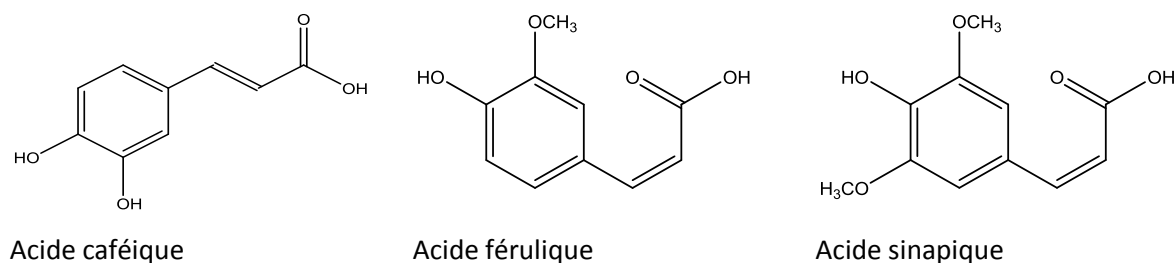


Figure 06. Structures chimiques de quelques dérivés de l'acide cinnamique .

b. Les tanins

Le mot tanin fait référence à un large groupe de composés (poly) phénoliques naturellement produits par les plantes. Ces composés, solubles dans l'eau, se caractérisent par leur faculté à se combiner aux protéines et à d'autres polymères organiques tels que des glucides, des acides nucléiques, des stéroïdes et des alcaloïdes, pour former avec eux des complexes stables (Ria, 2006). Ils sont subdivisés en deux groupes différents en fonction du type de l'acide phénolique et du type de liaisons qui déterminent la taille et la réactivité chimique de la molécule (Ria, 2006).

❖ Les tannins hydrolysables

Sont des esters d'acide gallique qui se lient aux molécules de glucose (Akroum, 2010). Ces derniers sont estérifiés avec l'acide gallique (cas des gallotannins) ou un dimère de l'acide gallique qui est l'acide hexahydroxydiphénique (cas des ellagitanins) (Ria, 2006).

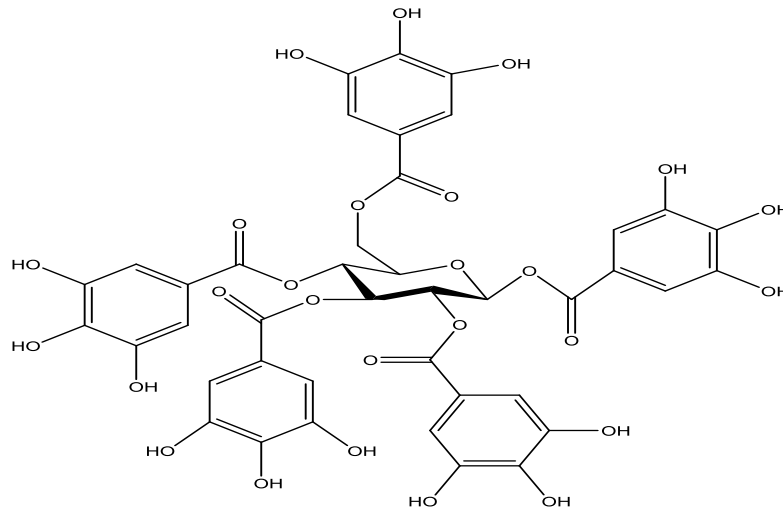


Figure 07. Exemple d'une molécule de tannin hydrolysable.

❖ Les tannins condensés

Ce sont des composés phénoliques hétérogènes. Ils se trouvent sous forme d'oligomères ou polymères de flavanes, flavan-3-ols, 5 désoxy-3-flavonols et flavan-3,4-diols (Akroum, 2010). Ils sont liés entre eux par des liaisons carbone-carbone très résistantes à l'hydrolyse (Ria, 2006).

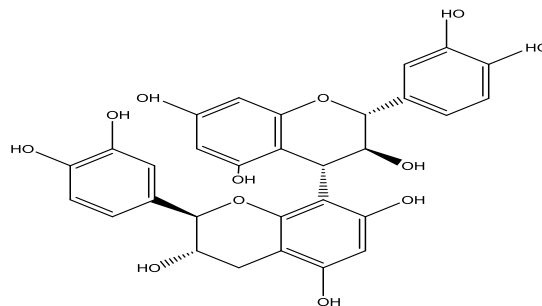


Figure 08. Exemple d'une molécule de de tanins condensés (Grillet et *al.*, 1994)

c. Les coumarines

Les coumarines sont des 2H-1-benzopyran-2-ones que l'on peut considérer comme étant les lactones des acides 2-hydroxy-Z-cinnamiques (Bruneton, 2009) (fig9). Elles sont substituées en C-7 par un hydroxyle. La 7-hydroxycoumarine, connue sous le nom d'ombelliférone, est le précurseur des coumarines 6,7-di- et 6, 7,8-trihydroxylées (Zakkad,

2017). A présent plus de 1000 composés cumariques sont isolés dont plus de 800 sont issus des plantes et des micro-organismes (Zakkad, 2017). Les coumarines de différents types, se trouvent dans de nombreuses espèces végétales, ils ont fréquemment un rôle écologique ou biologique, ils sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes. (Zakkad, 2017)

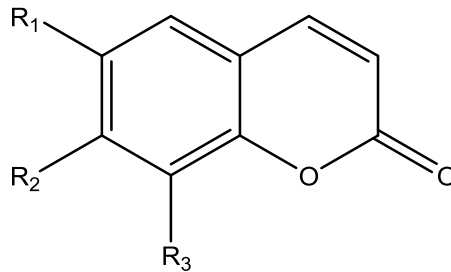


Figure 09. Squelette de base des coumarines (Djemoui, 2012).

d. Quinones

Ce sont des composés oxygénés qui correspondent à l'oxydation de dérivés aromatiques, avec deux substitutions cétoniques. Elles sont caractérisées par un motif 1,4-dicéto cyclohexa 2,5-diénique (para-quinones) (Bruneton, 1993). Elles sont ubiquitaires dans la nature, principalement dans le règne végétal et sont fortement réactifs (Cowan, 1999).

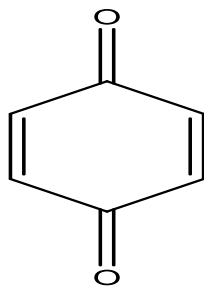


Figure 10. Le motif du 1, 4-dicéto cyclohexa2, 5-diénique.

e. Les flavonoïdes

Le terme flavonoïde (de flavus, «jaune» en latin) désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (Bouakaz, 2006). Les flavonoïdes constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux (Havasteen, 2002).

Ces composés se rencontrent à la fois sous forme libre (aglycone) ou sous forme deglycosides. Ils sont généralement présents dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organes : racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits. Ils jouent un rôle important dans la protection des plantes (Bruneton, 1993). Ils se trouvent également dans plusieurs plantes médicinales. Des remèdes à base de plantes renfermant ces composés sont utilisés en médecine traditionnelle à travers le monde entier (Delporte et al., 1999).

❖ Structure des flavonoïdes

Flavonoïde, est un terme générique pour des composés basés sur un squelette à 15 atomes de carbone formé de deux cycles aromatiques, les cycles A et B, connectés par un pont à trois carbones (structure en C6-C3-C6). Ce dernier est situé entre les cycles A et B est communément cyclisé pour former le cycle C (cycle centrale). Les atomes de carbone dans les cycles C et A sont numérotés de 2 à 8, et dans le cycle B de 2' à 6' (Bruneton, 1999). La Distinction des sous-classes se fait sur la conformation de la structure centrale (cycle C).

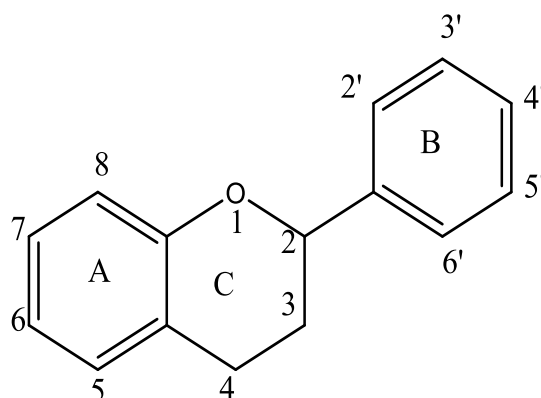
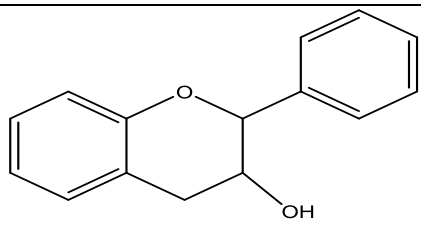
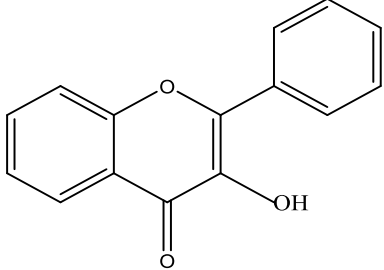
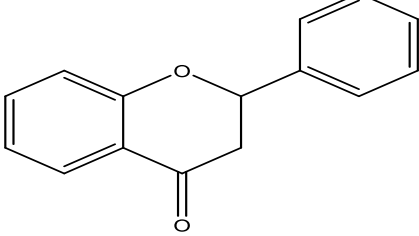
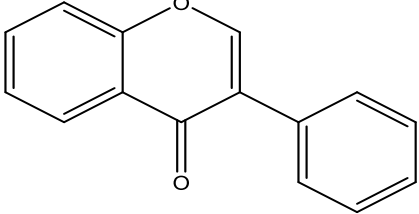
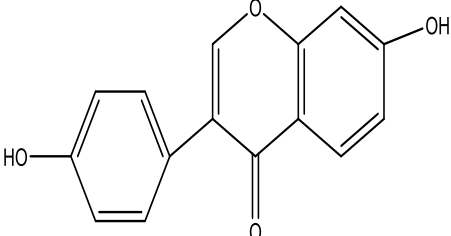


Figure 11. Structure de base des flavonoïdes (Dacosta, 2003).

❖ Classification des flavonoïdes

Tableau 03. Quelques classes distinctes des flavonoïdes (Bellebcir, 2008).

Classes	Formules	Sources	Propriétés
Flavanols		raisins, Thé, cacao	Antioxydants naturels Anti-cancéreuses

<p>Flavonols</p>		<p>Oignon, pomme, brocoli, fruits rouges</p>	<p>antihistaminique, antiinflammatoire et antioxydante.</p>
<p>Flavanones</p>		<p>Les Agrumes : orange, citron, pamplemousse, mandarine, orange amère</p>	<p>Antioxydante . amélioration de l'absorption de la vitamine C. la prévention des cancers de la peau.</p>
<p>Isoflavones</p>		<p>Soja</p>	<p>Source de phytoestrogènes.</p>
<p>Anthocyanes</p>		<p>Myrtille, mûre, raisin noir, aubergine, prune...</p>	<p>la lutte contre le vieillissement cellulaire en améliorant l'élasticité et la densité de la peau. - Présente comme des couleurs brillant dans les fruits et les légumes. - antiseptiques urinaires.</p>

II.1.2.1.2. Activité biologique des composés phénoliques

Les composés phénoliques forment le groupe des composés phytochimiques le plus important des plantes (Baharun, *et al.*, 1997). Ces substances sont dotées de certaines activités résumées dans le tableau 4.

Tableau 04. Activités biologiques des composés phénoliques (Bahorun *et al.*, 1997).

Polyphénols	Activités
Acides phénols (benzoïques et cinnamiques)	Antibactériennes et antifongiques Antioxydantes
Coumarines	Protectrices vasculaires et anti-oedémateuses
Anthocyanes	Protectrices capillaro-veineux.
Tanins galliques et ellagiques	Antioxydant

II.1.2.2. Les alcaloïdes

Le terme alcaloïde a été introduit par W. Meisner au début du XIX^{ème} siècle. La définition admise des alcaloïdes est celle donnée par Winterstein et Trier en 1910. Un alcaloïde est une substance organique azotée d'origine végétale à caractère alcalin et présentant une structure moléculaire hétérocyclique souvent complexe (Badiaga, 2011).

Généralement, les alcaloïdes sont produits dans les tissus en croissance : jeunes feuilles, jeunes racines, puis ils gagnent ensuite des lieux différents et, lors de ces transferts, ils peuvent subir des modifications. Ainsi, la nicotine, produite dans les racines, migre vers les feuilles où elle est diméthylée. Chez de nombreuses plantes, les alcaloïdes se localisent dans les pièces florales, les fruits ou les graines, ces substances sont trouvées concentrées dans les vacuoles (Krief, 2003). Ce sont des composés relativement stables qui sont stockés dans les plantes entant que produits de différentes voies biosynthétiques .

Le plus souvent, la synthèse de ces alcaloïdes s'effectue au niveau de site précis (racine en croissance, cellules spécialisées de laticifères, chloroplastes) ; ils sont ensuite transportés dans leur site de stockage (Rakotonanahary, 2012).

Bien que beaucoup d'alcaloïdes soient toxique (comme la strychnine ou l'aconitine), certains sont employés dans la médecine pour leurs propriétés analgésiques (comme la morphine, la codéine), dans le cadre de protocoles de sédation (anesthésie), ou comme agents antipaludéens (quinine, chloroquinine) ou agents anticancéreux (taxol, vinblastine, vincristine). La morphine, le principal alcaloïde de l'opium été isolé vers 1805. Puis, la découverte de la strychnine vers 1818.

Les autres alcaloïdes plus connus sont: la colchicine, l'atropine, le tubocurarine, la théine, la cocaïne, la mescaline, l'acide lysergique et l'aconitine.

II.1.2.2.1. Propriétés des alcaloïdes

Les alcaloïdes sont caractérisés par une solubilité faible dans l'eau, facilement soluble dans l'alcool et peuvent donner des colorations spécifiques avec certains réactifs (réactifs de Mayer, de Dragendorff, de Wasicky, de Bouchardat). Ils exercent en général de puissantes actions pharmacologiques. Les alcaloïdes possèdent des masses moléculaires très variables de 100 à 900 g/mol.

Les alcaloïdes se divisent en trois genres :

+ Les alcaloïdes vrais

Ces alcaloïdes disposent d'un large spectre d'activités biologiques. Ils dérivent d'acides aminés et comportent un atome d'azote dans un système hétérocyclique. Ils sont présents dans les plantes, soit sous forme libre, soit sous forme de sel, soit comme N Oxyde (Badiaga, 2011).

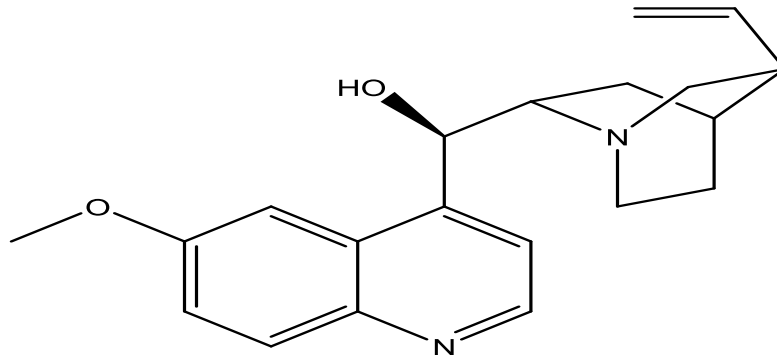


Figure12. Structure chimique d'un alcaloïde vrai

+ Les pseudo-alcaloïdes

Les pseudo-alcaloïdes présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivés des acides aminés (Badiaga, 2011).

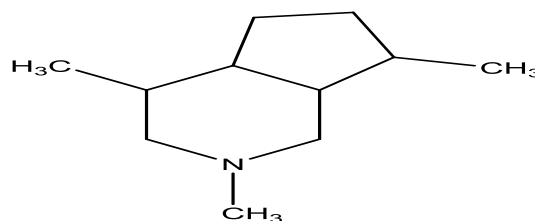


Figure13. Structure chimique d'un pseudo alcaloïde (skytanthine).

Les proto-alcaloïdes

Les proto-alcaloïdes sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un hétérocycle, ils ont un caractère basique et sont élaborés *in vivo* à partir d'acide aminé. Ils sont souvent appelés « amines biologiques » et sont solubles dans l'eau (Badiaga, 2011).

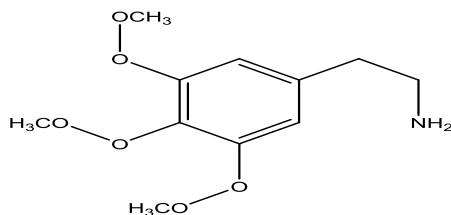


Figure14. Structure chimique d'un proto alcaloïde (Mescaline).

II.1.2.3. Les saponines

Le nom saponine dérive du mot latin «sapo», qui signifie savon, parce que ces composés moussent une fois agités avec de l'eau. Ils se composent d'aglycones non polaires liés à un ou plusieurs sucres. Cette combinaison d'éléments structuraux polaires et non polaires explique leur comportement moussant en solution aqueuse. Comme définition, on dirait qu'une saponine est un glycoside de stéroïde ou de triterpène. Fondamentalement, on distingue les saponines stéroïques et les saponines triterpéniques dérivant tous deux biosynthétiquement l'oxyde de squalène (Manach *et al.*, 2004). La saponine de soja en est un exemple.

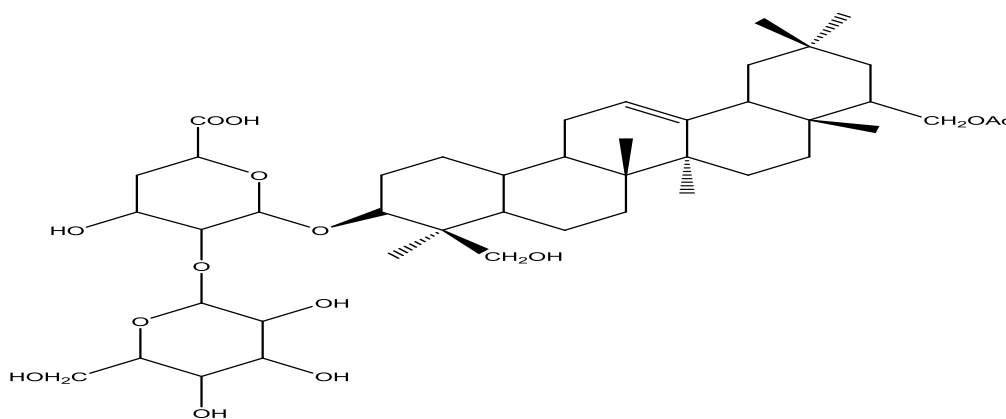


Figure15. Structure de saponine de soja (Manach *et al.*, 2004).

II.2. Huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges naturels complexes de métabolites secondaires volatils, isolés par une technique d'extraction comme l'hydrodistillation ou par expression mécanique. Elles sont obtenues à partir de feuilles, de graines, de bourgeons, de fleurs de brindilles, d'écorces, de bois, de racines, de tiges ou de fruits mais également à partir de

gommes qui s'écoulent du tronc des arbres. Les huiles essentielles sont obtenues par différentes techniques telles que l'hydrodistillation ou l'expression à froid, comme pour les agrumes. De nouvelles techniques permettant d'augmenter le rendement de production, ont été développées, comme l'extraction au moyen de dioxyde de carbone liquide à basse température et sous haute pression ou l'extraction assistée par ultrasons ou micro-ondes (Fekih, 2014).

Certains auteurs définissent les huiles essentielles comme étant des substances, extraites d'un végétal sous forme liquide. Elles proviennent d'une sécrétion naturelle, élaborée par certains végétaux et contenue dans les cellules de la plante. Selon l'huile désirée, on prendra tout ou une partie d'une plante spécifique pour en extraire l'essence aromatique très volatiles. Les huiles essentielles, sont solubles dans l'huile et dans l'alcool, mais pas dans l'eau.

II.2.1. Propriétés physico-chimiques des HE

On trouve généralement les HE incolores ou jaune pâle à l'état liquide à température ordinaire. Toutes les HE sont volatiles, odorantes et inflammables. Leur densité est le plus souvent inférieure à 1. Seules trois HE officinales ont une densité supérieure à celle de l'eau, ce sont les HE de cannelle, de girofle et de sassafras. Elles sont peu solubles dans l'eau, solubles dans les alcools et dans la plupart des solvants organiques. Elles sont altérables et très sensibles à l'oxydation (Jacques, 1997).

II.2.2. Composition Chimiques de l'huile essentielle

Les huiles essentielles (HE) sont habituellement classées selon la nature chimique des principes actifs majoritaires, plus rarement sur le mode d'extraction ou les effets biologiques (Nouioua, 2012). Dans les huiles essentielles on retrouve les composés terpéniques (hydrocarbures), ce sont les molécules les plus fréquemment rencontrés dans les HE. L'autre groupe correspond aux composés aromatiques dérivés du phénylpropane, les deux sont synthétisés à travers deux voies métaboliques séparées (Khenaka, 2011).

II.2.2.1. Les terpénoïdes

Les terpénoïdes, appelés aussi terpènes, constituent un vaste groupe de métabolites secondaires. Certains ont une structure acyclique et d'autres ont un ou plusieurs cycles dans leurs structures (Hellal, 2011). Ce sont des hydrocarbures naturels mais de nombreux dérivés (alcools, aldéhydes, cétones, acides) de structure apparentée sont considérés comme des composés terpéniques. Ils sont la famille de produits naturels la plus diverse structurellement,

stéréochimiquement et fonctionnellement avec plus de 55 000 molécules identifiées (Christianson, 2008). Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'une unité isoprénique à 5 atomes de carbone (C_5H_8) (Lamarti, 1994). Dans la composition de la plupart des huiles essentielles les monoterpénoïdes et les sesquiterpénoïdes forment la majeure partie (Benchaar, 2008) (Calsamiglia, 2007). Chez les végétaux, les terpénoïdes sont produits par tous les tissus végétatifs dont les racines mais aussi par les diverses pièces florales (dudareva, 2004).

Les terpénoïdes forment une partie essentielle des systèmes de défense directs et indirects contre les herbivores et les pathogènes. Ils peuvent agir dans la défense directe envers les bactéries, les champignons... (Bohlmann et Keeling, 2008).

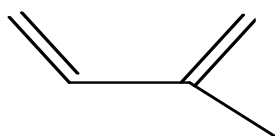


Figure 16. Structure de l'isoprène (2-méthylebut-1,3-diène).

La classification des terpénoïdes est basée sur le nombre de répétitions de l'unité de base isoprène en donnant des nomenclatures : hémiterpènes (une unité de l'isoprène) (C_5), monoterpènes (C_{10}), sesquiterpènes (C_{15}), diterpènes (C_{20}), sesterpènes (C_{25}), triterpènes (C_{30}), tétraterpènes (C_{40}) et polyterpènes (Mebarki, 2010).

❖ Hémiterpènes

Dans la nature, il existe peu de composés naturels ayant une formule de C_5 ramifiée ; parmi certains composés naturels trouvés chez les plantes qui peuvent être considérés comme hémiterpènes, seul l'isoprène a toutes les caractéristiques biogénétiques des terpènes (Malecky, 2005).

❖ Monoterpènes

Les monoterpènes sont les plus simples constituants des terpènes dont la majorité est rencontrée dans les huiles essentielles (90% des huiles essentielles sont des monoterpènes)(Ayad, 2008). Ils comportent dix (10) atomes de carbones et sont issus de la condensation de deux unités isoprène, selon le mode de couplage «tête-queue» (Ayad, 2008). Plus de 900 monoterpènes connus se trouvent principalement dans 4 catégories structurales :

Les monoterpènes linéaires (acycliques), les monoterpènes avec un cycle unique (monocycliques) et ceux avec deux cycles (bicycliques) et tricyclique (Malecky, 2005).

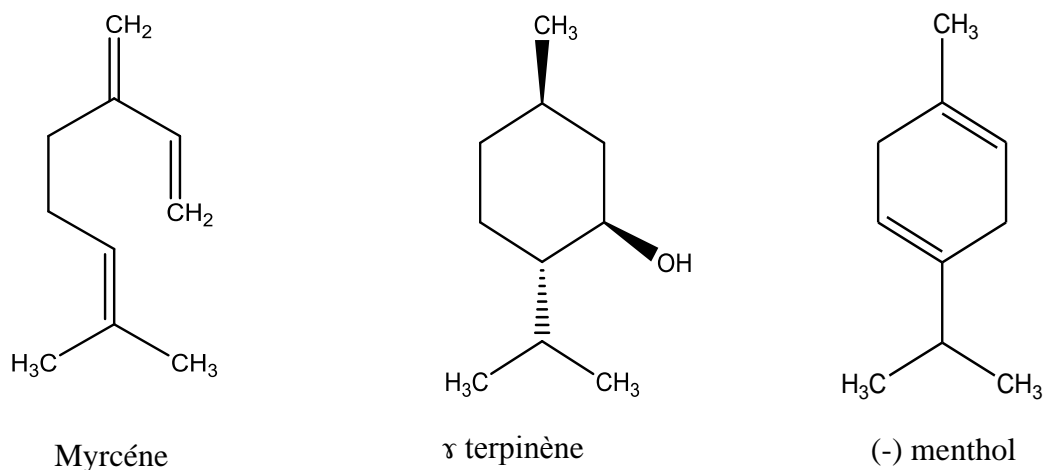


Figure 17. Structure de quelques monoterpènes.

Les iridoïdes sont des monoterpènes caractérisés par un squelette « cyclopenta[c] pyrane », ou le squelette « iridane » (Ayad, 2008).

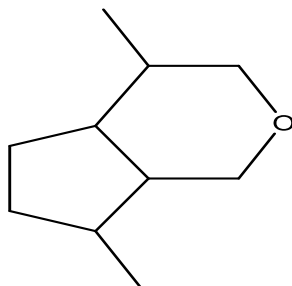


Figure 18. Squelette « iridane ».

❖ Sesquiterpène

Les sesquiterpènes forment une série de composés qui renferment 15 atomes de carbones, ils se trouvent sous forme d'hydrocarbures comme le β -Cadinène, ou sous forme d'hydrocarbures oxygénés comme : les alcools, les cétones, les aldéhydes et les acides dans la nature. Les sesquiterpènes et les monoterpènes sont souvent en mélange dans les huiles essentielles des plantes. On peut également rencontrer dans les plantes des sesquiterpènes lactones (Ayad, 2008).

Ils peuvent être acycliques, monocyclique, bicycliques, tricyclique ou polycyclique (Malecky, 2005).

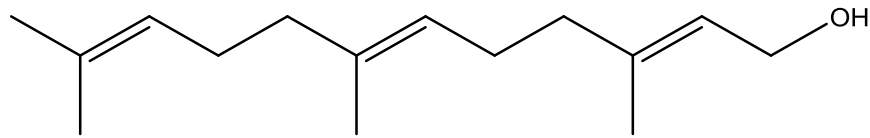


Figure 19. Squelette « farnesol ».

❖ Diterpènes

Les diterpènes sont des substances avec 20 atomes de carbone (C₂₀) élaborées à partir de 4 unités d'isoprène, ils se forment à partir de leur précurseur, le géranylgeranyl-pyrophosphate (GGPP) (Malecky, 2005).

Ils peuvent être acycliques comme le phytol ; dont il est le représentant le plus connu dans la chlorophylle ou dans les vitamines K et E, cependant après divers réarrangements, ils peuvent être monocycliques comme la vitamine A, bicycliques comme le sclaréol ou tricycliques comme l'acide abiétique (Malecky, 2005).

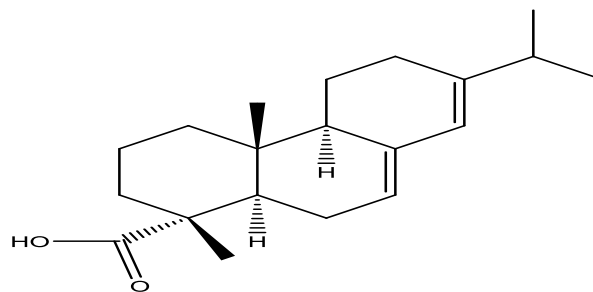


Figure 20. Squelette « acide abiétique ».

❖ Triterpènes

Les triterpènes sont des molécules à 30 atomes de carbone. Ils ont comme précurseur le squalène, il y a plus de 1700 triterpènes dans la nature dont la majorité est sous forme tétracyclique ou pentacyclique, la forme acyclique étant très rare (Malecky, 2005).

La plupart des triterpènes sont à l'état libre sous forme estérifiée ou hétérosidique, on les trouve notamment dans les résines.

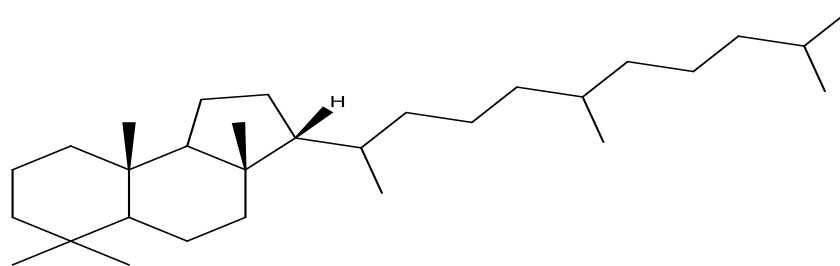


Figure 21. Squelette « Malabaricane ».

❖ Tétraterpènes

Les tétraterpènes contiennent une longue chaîne de 40 atomes de carbones, à doubles liaisons conjuguées de configuration « trans » dont les extrémités sont des chaînes ouvertes ou des cycles (Ayad, 2008). Les tétraterpènes les mieux connus sont les caroténoïdes. Ces derniers représentent un large groupe de pigments naturels de couleurs jaune, orange et rouge (Ayad, 2008).

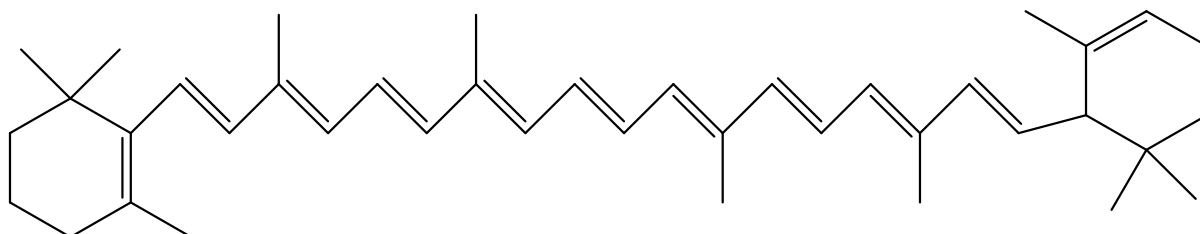


Figure 22. Squelette «β-carotène».

f. Polyterpènes

En général, les polyterpènes ou polyisoprènes se composent de plus de 8 unités d'isoprène (plus de C₄₀). Ces terpènes se trouvent souvent sous deux formes isomériques cis- et trans. Le cis-polyisoprène se trouve dans le caoutchouc indien (Malecky, 2005). Charles Marie a créé le mot français caoutchouc à partir de l'expression indienne «caotchu », qui signifie « bois qui pleure » qui est un produit naturel qui s'écoule de l'écorce d'un arbre (*Hévéa Brasiliensis*). Il se présente sous la forme d'un liquide d'apparence laiteuse, appelé latex.

II.2.2.2. Composés aromatiques dérivés du phénylpropane

Ils sont moins fréquents par rapport aux terpénoïdes. Néanmoins, certaines plantes possèdent ces composés avec des proportions significatives. Les phénylpropanoïdes dérivent majoritairement de la phénylalanine. Ils sont constitués d'une chaîne carbonée liée à un noyau aromatique à six carbones (Sangwan *et al.*, 2001).

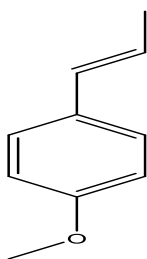


Figure 23. Squelette « l'anéthol ».

II.2.3. Activité biologique des huiles essentielles

Les plantes aromatiques possèdent plusieurs activités biologiques, parmi lesquelles on peut citer les activités Fongicide, Insecticide, Herbicide, Bactéricide, ...etc.

Les huiles essentielles sont connues pour être douées de propriétés antiseptiques et antimicrobiennes. Beaucoup d'entre elles, ont des propriétés antitoxiques, antivirales, antioxydantes, et antiparasitaires. Plus récemment, on leur reconnaît également des propriétés anticancéreuses (Lahlou,2004).

Chapitre III

Activité

Antioxydante

III. Activité antioxydante

III.1. Définition du stress oxydatif

Des molécules prooxydantes appelées espèces réactives de l'oxygène (ERO) telles que les radicaux libres sont produits quotidiennement dans l'organisme. Ces dernières sont cependant contrôlées par les antioxydants. Un stress oxydatif, également connu sous le nom de stress oxydant, survient lorsque l'équilibre est rompu en faveur des radicaux libres (figure 24). Toutefois, une production excessive de ces molécules réactives ou une insuffisance des mécanismes antioxydants peut déséquilibrer la balance oxydant/antioxydant (Christophe *et al.*, 2011).



Figure 24. Déséquilibre de la balance pro-oxydant /antioxydant

(Belkhiri et Bouab, 2018).

III.2. Définition des radicaux libres

Les radicaux libres sont des substances chimiques très réactives comportant un nombre impair d'électrons. Ces derniers peuvent provoquer le désordre dans la structure des protéines cellulaires, des lipides membranaires et des acides nucléiques. Ces radicaux peuvent éventuellement entraîner la mort cellulaire et des maladies telles que : Les maladies cardiaques, le cancer et la maladie d'Alzheimer. L'appellation espèces réactives de l'oxygène (ERO) inclut les radicaux libres de l'oxygène tels que l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), le radical hydroxyle (OH^{\cdot}) et certains dérivés oxygénés non radicalaires tels que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (Badeau, 2006).

Ces espèces sont formées de façon continue dans l'organisme sain, en particulier par fuite d'électrons à partir de la chaîne respiratoire. Elles peuvent également être générées suite à une respiration excessive, un exercice physique ou un stress, ou même à une exposition

environnementale à des facteurs pro-oxydants : tabac, alcool, amiante... etc (Aurousseau, 2002).

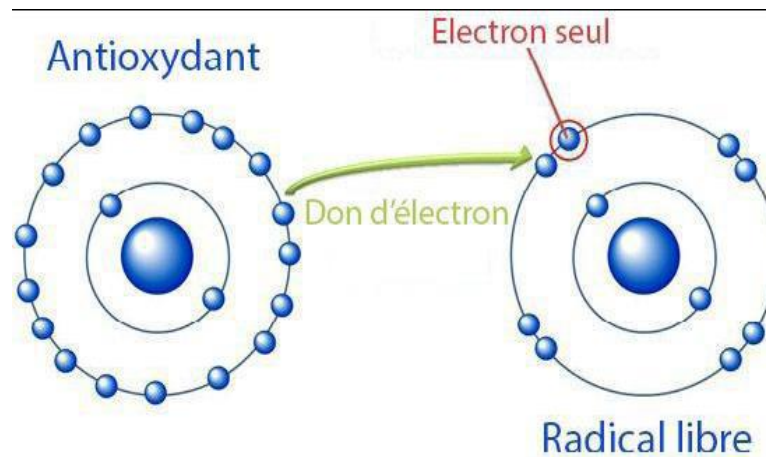


Figure 25. Neutralisation d'un radical libre par un antioxydant (Hocine et *al.*, 2017).

III.3. Antioxydants

Les antioxydants sont définis comme l'ensemble des molécules susceptibles de retarder ou d'inhiber directement le processus d'oxydation, même à une concentration relativement faible. Ces composés réagissent avec les radicaux libres et les rendent inoffensifs et ont donc divers rôles physiologiques dans le corps. Les constituants antioxydants du matériel végétal (les fruits, les légumes, le thé, etc.) agissent en tant que piègeurs de radicaux et contribuent à la conversion des radicaux en espèces moins réactives (Balasaheb et Palb, 2015).

III.3.1. Mécanisme d'action

Dans les conditions physiologiques, il y a un équilibre entre la production des radicaux libres et les mécanismes endogènes de défense antioxydante constituée par le système enzymatique composé principalement de trois enzymes : (la superoxyde dismutase (SOD), la catalase, et la glutathion peroxydase (GPx), les vitamines A, E, C et les polyphénols apportés par l'alimentation et les plantes (Djilal, 2017).

Dans le cas des dérivés du phénol, cet effet est causé par la structure donneuse d'hydrogène ou généralement d'électrons aromatiques. En plus, leurs radicaux intermédiaires sont relativement stables en raison de la délocalisation causée par la résonance et l'absence d'un emplacement approprié pour être attaqué par l'oxygène moléculaire (Djilal, 2017).

Les antioxydants sont en fait des agents préventifs, ils bloquent l'initiation en complexant les catalyseurs, en réagissant avec l'oxygène, ou des agents de terminaison capables de dévier ou de piéger les radicaux libres, ils agissent en formant des produits finis non radicalaires. D'autres antioxydants agissent en interrompant la réaction en chaîne de peroxydation, en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puisse réagir avec un nouvel acide gras. Tandis que d'autres absorberont l'excès d'énergie de l'oxygène, et le convertiront en chaleur (Djilal, 2017).

III.3.2. Types des antioxydants

Les antioxydants sont divisés en deux catégories : les antioxydants endogènes (enzymatiques) et exogènes (non enzymatiques), selon qu'ils soient produits ou non par l'organisme.

III.3.2.1. Antioxydants endogènes (enzymatiques)

Les défenses antioxydantes de notre organisme peuvent se diviser : en un système de défense primaire, composé d'enzymes et de substances antioxydantes (le superoxyde dismutase (SOD), la catalase, la glutathion peroxydase (GPx), l'acide urique, les protéines à groupement thiols), et en un système de défense secondaire composé d'enzymes protéolytiques, des phospholipases, des ADN endonucléases et ligase et des macroxyprotéinases (Guillouty, 2016).

le superoxyde dismutase (SOD)

Accélère la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène, il existe plusieurs isoenzymes de SOD ; SOD ferreux (Fe-SOD), SOD à cuivre (Cu-SOD) et SOD à manganèse (Mn-SOD) (Piquet et *al.*, 2007).

la catalase

Présente en particulier dans les hématies et les peroxyosomes hépatiques. Elle agit en synergie avec la SOD puisque son rôle est d'accélérer la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire (Piquet et *al.*, 2007).

III.3.2.2. Antioxydants exogènes (non enzymatiques)

L'alimentation est la source de divers composés antioxydants non-enzymatique, tels que la vitamine E (tocophérol) et C (acide L-ascorbique), les caroténoïdes, les flavonoïdes et les polyphénols. Ils agissent en piégeant les radicaux et en neutralisant l'électron non apparié, les transformant ainsi en molécules stables (koechlin-ramonatxo, 2006).

✚ La vitamine C ou acide ascorbique

La vitamine C est reconnue pour sa capacité à neutraliser les radicaux $O_2^{\bullet-}$ et $\cdot OR$ ainsi que les hydroperoxydes produits par la peroxydation lipidique (Carange, 2010).

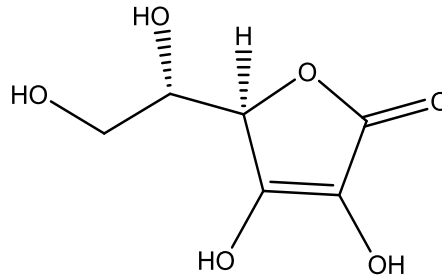


Figure 26. Acide ascorbique (Carange, 2010).

✚ Vitamine E ou tocophérol

C'est une vitamine liposoluble recouvrant un ensemble de huit molécules organiques. Elle est constituée de quatre isomères de tocophérol, α , β , γ et δ . La forme biologiquement la plus active est l' α -tocophérol, qui agit essentiellement comme antioxydant contre les dérivés réactifs de l'oxygène. Il se fixe à la membrane cellulaire et il inhibe la chaîne de réactions de peroxydation des lipides en capturant un radical lipidique peroxyde ($LOO\cdot$). À son tour, il devient un radical libre avec une activité inférieure à $LOO\cdot$ et il pourra alors être pris en charge par une autre molécule antioxydante (Benayoun *et al*, 2019).

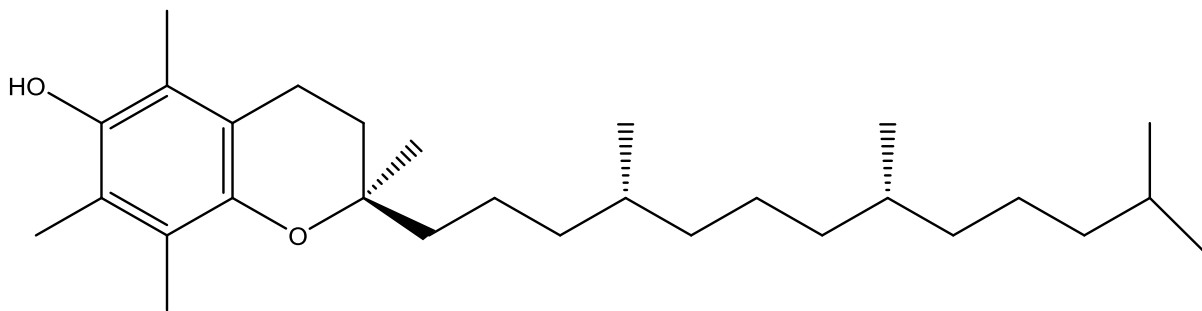


Figure 27. α -tocophérol (Carange, 2010).

✚ Caroténoïdes :

Sont des pigments liposolubles jaunes, orangée à rouge, synthétisés par les plantes et les microorganismes. En plus de leur activité de provitamine A, les caroténoïdes sont également capables d'inactiver l'oxygène singulet et les radicaux libres en neutralisant l'électron non apparié, les transformant ainsi en molécules ou ions stables (Benayoun *et al*, 2019).

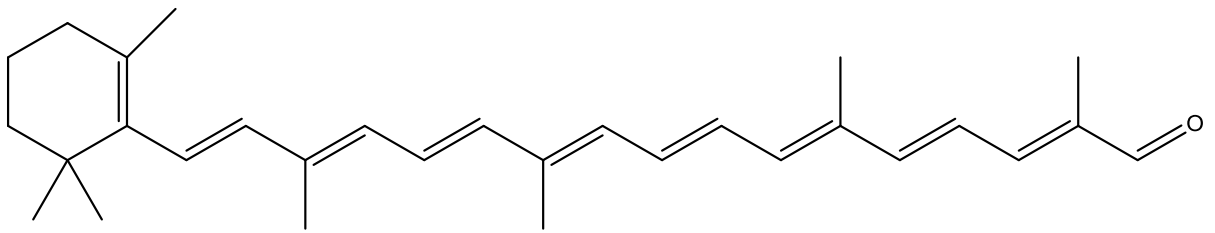


Figure 28. Structure de l'apocaroténal, un dérivé de caroténoïde (Carange, 2010).

III.4. Conséquence du stress oxydatif

Le principal danger des radicaux libres vient des dommages qu'ils peuvent provoquer lorsqu'ils réagissent avec des composants cellulaires importants, tels que l'ADN, les lipides (peroxydation), les protéines... etc. Cette oxydation provoque des dommages sur tout l'organisme accélérant le vieillissement (maladies cardiovasculaires et neuro-dégénératives, cancer, diabète...) et la dégradation des cellules et des tissus (Christophe P, 2011).

Partie

Expérimentale

Chapitre IV

Matériels

et méthodes

IV. Matériels et méthodes

IV.1. Matériel végétal

La plante *Copparis spinosa* L est récoltée de la région de Djelfa en mars 2019. Après la récolte, la partie aérienne de la plante est séchée dans un endroit sec à l'abri de la lumière solaire à la température ambiante pendant quelques jours avant l'utilisation.

IV.2. Extraction

400 g de la partie aérienne de la plante sèche sont coupé en petits morceaux, et mises à macérer dans un mélange hydroalcoolique (V/V ; éthanol : eau ; 70 /30) à température ambiante, à l'abri de la lumière pendant 72 heures. Cette macération est répétée trois fois avec renouvellement du solvant.

Après une filtration sur papier filtre, le filtrat est soumis à une évaporation à pression réduite à l'aide d'un rota-vapeur à 37°C. L'extrait brut obtenu est additionné à l'eau distillée environ 6 à 7 heures sous agitation à température ambiante. Après filtration la solution obtenue a subit à des extraction successives en utilisant des solvants de polarité croissante en commençant par L'éther de pétrole, puis le chloroforme, après l'acétate d'éthyle et en dernier le n-butanol



Figure 29. Les différentes étapes d'extraction de la plante *Copparis spinosa* L.

Les trois phases organiques ainsi obtenues (chloroforme, acétate d'éthyle, et n-butanol) sont séchées par le sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4), puis concentrées à sec sous pression réduite. Chaque résidu est pesé, reconstitué dans le méthanol puis conservé au frais à 4°C. Le protocole d'extraction est résumé dans la figure suivant :

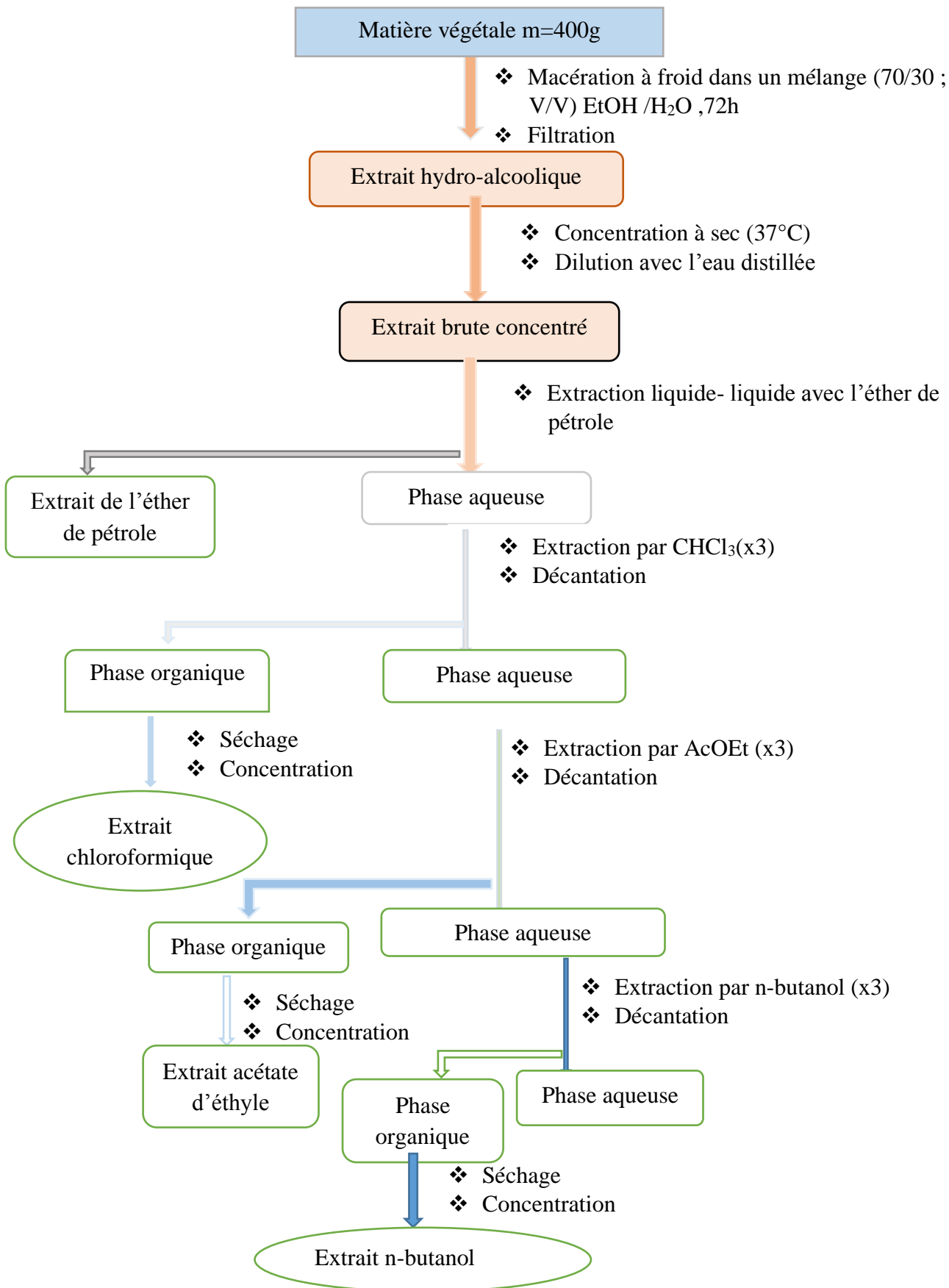
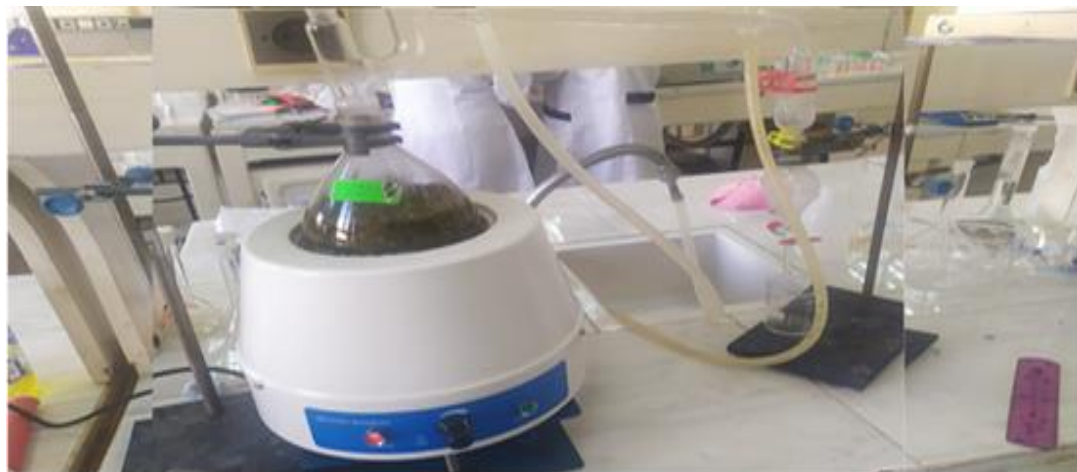


Figure 30. Schéma récapitulatif du protocole d'extraction de la plante.

IV.3. Obtention des huiles essentielles par hydrodistillation

L'hydrodistillation proprement dite est une méthode standard d'extraction des huiles essentielles et de contrôle de qualité (AFNOR, 1992), qui consiste à immerger des matières végétales dans l'eau. L'extraction est réalisée à partir des parties aériennes de la plante. Le montage expérimental consiste en un ballon dans lequel nous avons introduit 300 grammes de plante *Capparis spinosa* sèche, le mélange est porté à l'ébullition, la chaleur permet l'éclatement et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau un mélange azéotropique condensé sur une surface froide puis récupérée dans un autre récipient. L'hydrodistillat obtenu contient deux phases, l'une est la phase aqueuse et l'autre organique constituée par l'huile essentielle. Les deux phases sont séparées par la méthode extraction liquide-liquide, qui consiste à ajouter au distillat une solution saturée de chlorure de sodium afin de diminuer la solubilité des huiles essentielles dans l'eau, ce qui sépare les deux phases et ensuite il a facile de récupérer l'huile essentielle. La phase organique est séchée avec le sulfate de sodium anhydre et conservée à 4 ° C dans des tubes bien fermés à l'obscurité. Le rendement en huile essentielle est exprimé en pourcentage par rapport à la matière sèche.



. **Figure 31.** Montage de l'hydrodistillation

g. Détermination de la composition chimique des HE par Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM)

L'analyse chromatographique des huiles essentielles est effectuée à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse de type GC Shimadzu QP2010 couplé avec un spectromètre de masse. La fragmentation a effectué par impact électronique à 70eV.

La colonne utilisée est une colonne capillaire OV1701 (25mx0.25mm). La température de la colonne a programmé de 60°C à 200°C pendant 6 min. Le gaz vecteur est l'hélium (He) dont le débit est fixé à 1.2 ml/min. Les masses répertoriées s'insèrent dans un intervalle de 40-350m/z et la température d'interface est de 250°C. L'injection est faite en mode split (rapport de fuite 1/70, débit 0.77 ml /min). L'appareil est relié à un système informatique gérant une bibliothèque de spectre de masse Nist 05.

IV.4. Dosage des phénols totaux

La teneur en phénols totaux des extraits de la plante est déterminé par la méthode de Folin Ciocalteu. (Singleton et Ross, 1965).

Les composés phénoliques réagissent avec le réactif de Folin-ciocalteu. Ce dernier est composé d'un mélange jaune qui se réduit lors de l'oxydation des polyphénols, en complexe bleu. La coloration est proportionnelle aux taux des composés phénoliques (Ribereau et *al.*, 1982).

❖ Protocole expérimentale

A température ambiante, 0.125 ml d'extrait sont ajouté à 0.5 ml d'eau distillée dans des Tubes à essai, puis 0.125 ml du réactif de Folin-ciocalteu diluée à 50% sont ajouté, et le tout est bien mélangé. Après 6 min d'incubation, 1.25 ml d'une solution de carbonate de sodium (7 %p/v) est ajouté puis 3ml d'eau distillé. La préparation est laissé incubé pendant 90 min à l'obscurité, puis l'absorbance a mesurée à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre contre un témoin préparé suivant la même méthode, sauf que l'extrait est remplacé par le solvant.

Une courbe d'étalonnage est réalisée avec différentes concentrations de l'acide gallique dans les mêmes conditions que l'échantillon. La quantité des polyphénols totaux est exprimé en équivalent milligramme d'acide gallique par un gramme d'extrait sec (mg EAG/g d'extrait).

IV.5. Évaluation de l'activité antioxydante

IV.5.1. Pouvoir réducteur de l'ion ferrique (FRAP) :

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant. L'activité réductrice du fer de nos extraits est déterminé selon la méthode décrite par Oyaizu (Oyaizu, 1986), basée sur la réaction chimique de réduction du Fe^{3+} présent dans le complexe $[K_3Fe(CN)_6]$ en Fe^{2+} .

❖ protocole expérimentale

La réaction est révélée par le virement de couleur jaune du fer ferrique (Fe^{3+}) en couleur bleu vert du fer ferreux (Fe^{2+}). Cette capacité réductrice peut servir comme un indicateur significatif de l'activité antioxydante potentielle d'un composé.

1 ml de chaque extrait à différentes concentrations dilués dans le méthanol sont ajoutés à 2,5 ml de tampon phosphate (0.2 M ; pH 6.6) et 2,5 ml de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (1 %). Après avoir chauffé le mélange à 50 °C dans un bain marie durant 20 min, 2,5 ml de l'acide trichloroacétique (10 %) est ajouté, ensuite le mélange fut centrifugé à 1000 rpm pendant 10 min. Un volume de 2,5 ml du surnageant est ajouté à 2.5 ml d'eau, puis 0,5 mL de la solution de FeCl_3 à 0,1 % est ajouté à chacune des solutions précédentes. La lecture est faite à 700 nm. L'acide ascorbique est utilisé comme référence (Singleton et Rossi, 1965).

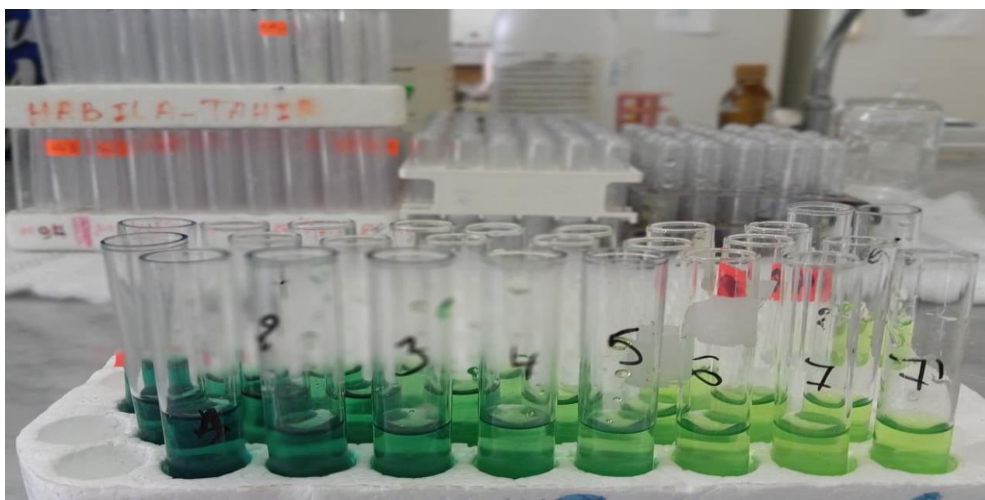


Figure 32. les solution de l'extrait acétate après l'ajout du FeCl_3

IV.5.2. Mesure du pouvoir anti-radicalaire par le test DPPH

Le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl est un radical libre renfermant dans sa structure un électron non apparié sur un atome du pont d'azote, de couleur violette en solution (Gülçin, 2012). Ce radical est réduit en présence d'une substance réductrice pour donner la couleur jaune du diphényl-picrylhydrazine (Blois, 1958). Le maximum de son absorption dans le visible se situe vers 515-517 nm (Gülçin, 2012) dans le méthanol et l'éthanol.

La réduction du radical par un donneur d'atome H (AH) conduit à la 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine (DPPH-H) et au radical (A·).

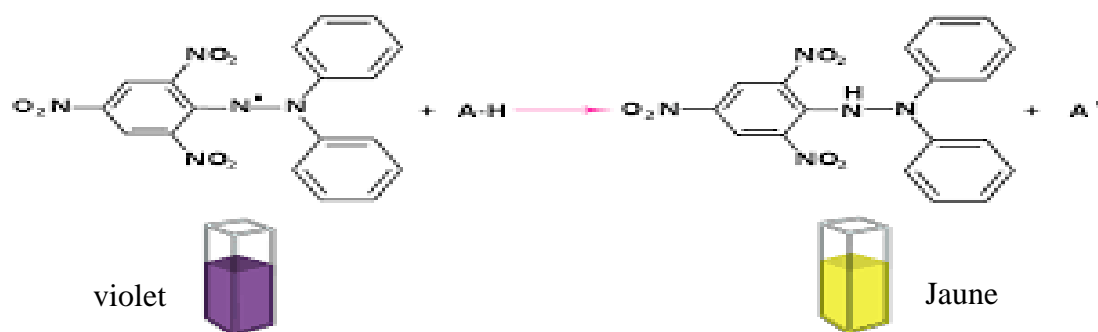


Figure 33. Piégeage du radical DPPH[•] avec l'antioxydant

La réduction du radical libre DPPH par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie UV-visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 515 nm provoquée par la présence des extraits (Wu, 2007).

❖ Protocole expérimentale

Une solution de DPPH à 60µM est fraîchement préparée. Pour les trois extraits (chloroforme, acétate d'éthyle et n-butanolique) et l'huile essentielle de *Capparis spinosa* L, de différentes concentrations sont préparé dans le méthanol.

Dans des tubes secs, des volumes de 50 µL de chaque solution méthanolique du soluté à différentes concentrations sont ajouté à 1950 µL de la solution méthanolique du DPPH..

Le mélange réactionnel est agité vigoureusement pendant 10 secondes ensuite gardé à l'abri de la lumière à la température ambiante. Après 30 min d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante, la lecture de l'absorbance est faite contre un blanc pour chaque concentration à 515 nm par un spectrophotomètre UV-Visible.

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance est mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons, et pour chaque concentration le test est répété 3 fois.

Le pourcentage d'ihinibition du radicale DPPH (%PI) a calculé selon l'équation suivante :

$$\%PI = [(A_{\text{contrôle négatif}} - A_{\text{extrait}}) / A_{\text{contrôle négatif}}] \times 100$$

- $A_{\text{contrôle négatif}}$ correspond à l'absorbance de la solution DPPH après incubation .
- A_{extrait} correspond à l'absorbance de la solution échantillon avec DPPH après incubation .

L'activité antioxydante est exprimé ensuite par la détermination d'IC₅₀, sachant que l'IC₅₀ est la concentration d'extrait nécessaire pour l'obtention de 50% de la forme réduite du radical DPPH.

IV.5.3. Piégeage de l'ABTS^{•+}

La méthode ABTS est très utilisée pour déterminer la concentration des radicaux libres. Cette méthode est basé sur la capacité des composés à piéger le radical cation ABTS^{•+}. L'ABTS^{•+} réagit rapidement avec les antioxydants et peut être utilisé sur une large gamme de pH. Il est soluble dans l'eau et dans les solvants, il peut donc déterminer la capacité antioxydante des solutés lipophile et hydrophile. Ce radical doit être régénéré par arrachement d'un électron à un atome d'azote de l'ABTS incolore en utilisant différents réactifs, tel que le persulfate de potassium K₂S₂O₈, le dioxyde de manganèse, ou le peroxyde d'hydrogène (Re *et al.*, 1999). Le composé à tester est ensuite ajouté au radical préformé provoquant une décoloration de la solution s'il possède une capacité à piéger les radicaux libres.

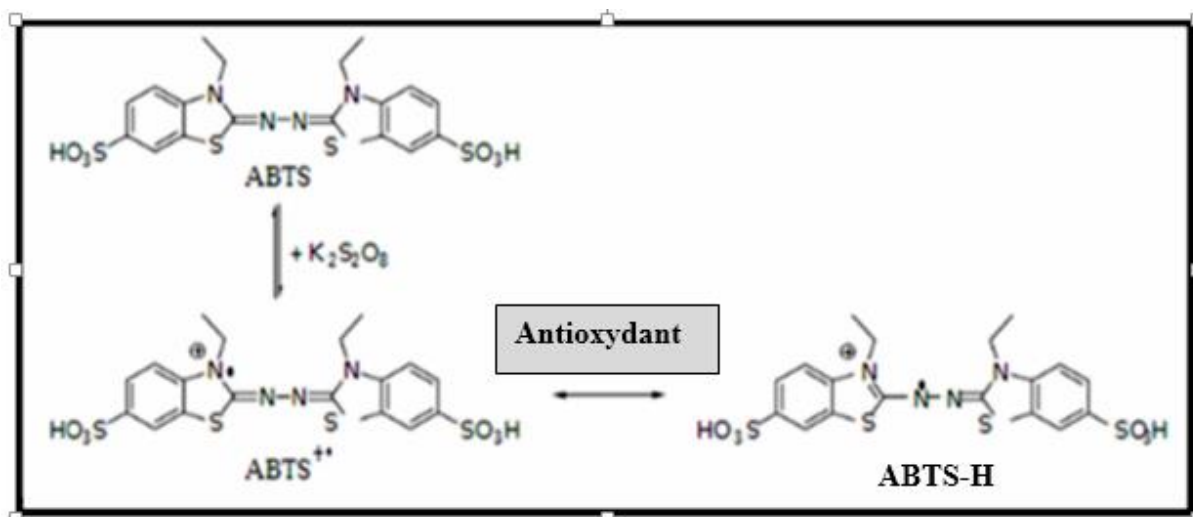


Figure 34. Formation du radical cation ABTS^{•+} à partir de l'ABTS.

❖ Protocole expérimentale

Le potentiel antioxydant radicalaire des extraits et de l'huile essentielle de *Capparis spinosa* L est mesuré, en utilisant le test de décoloration par cation radicalaire ABTS comme décrit par (Re *et al.*, 1999) avec quelques modifications.

La solution mère de radical cation ABTS^{•+} stable est préparé en mélangeant 7mM d'une solution aqueuse d'ABTS avec 2.45 mM d'une solution de persulfate de potassium (K₂S₂O₈). Le mélange est laissé à l'obscurité et à température ambiante pendant 12 à 16h avant l'utilisation. Cette solution est par la suite dilué avec l'éthanol afin d'avoir une absorbance de

0.700 (± 0.025) à 734nm. Après addition de 100 μ l d'échantillon (ou d'acide ascorbique utilisé comme contrôle positif) à différentes concentrations à 900 μ l de la solution ABTS \cdot^+ diluée, l'absorbance est mesuré après 10min d'incubation à température ambiante ($20 \pm 2^\circ\text{C}$). Toutes les déterminations est effectué 3 fois. La capacité à piéger le radical ABTS \cdot^+ est calculé à l'aide de l'équation suivante :

Activité de piégeage des radicaux ABTS (%) = $[1 - (A_{\text{extrait}} / A_{\text{contrôle}})] \times 100$

- A contrôle correspond à l'absorbance de la solution ABTS (test négatif).
- A extrait correspond à l'absorbance de la solution échantillon avec ABTS.

Chapitre V

Résultats

et discussions

V.1. Détermination du rendement de l'extraction

Selon la norme AFNOR (1986), le rendement en extraits (Rdt), est défini comme étant le rapport entre la masse des extraits obtenus après extraction (m') et la masse de la matière végétale utilisée (m_0). Il est donné par la formule suivante :

$$Rdt = \frac{\text{masse de l'extrait}}{\text{masse de la matière végétale}} \times 100 = \frac{m'}{m_0} \times 100$$

Rdt : rendement en extraits de la plante.

m' : masse de l'extrait obtenue en gramme.

m_0 : masse de la plante utilisée en gramme (matière sèche).

Les phases organiques récupérées sous pression réduite à sec et pesées. Les rendements d'extraction sont présentés dans le tableau 5.

Tableau 5. Rendement des extraits de l'espèce du genre *Capparis*.

	Extrait	Couleur	aspect	Masse (g)	Rendement (%)
400 g de la plante sèche	Ether de pétrole	Vert foncé	Pâteux	1.03	0.26
	Chloroformique	Vert	Pâteux	1.27	0.31
	Acétate d'éthyle	Marron jaune	Pâteux	2.26	0.56
	n-butanol	Couleur du miel	Pâteux	6.88	1.72

L'extraction liquide-liquide produit quatre extraits : l'extrait éther de pétrole, l'extrait chloroformique ($CHCl_3$), l'extrait acétate d'éthyle ($AcOEt$) et l'extrait n-butanol ($n-BuOH$).

En général, le rendement d'extraction est augmenté avec l'augmentation de la polarité des solvants utilisés. La fraction butanolique a représenté le rendement le plus élevé (1,72 %), suivi de la fraction acétate d'éthyle (0,56 %). Par contre, le rendement de la fraction chloroformique est plus faible (0,31 %). Les extraits obtenus sont de couleur et d'aspect différents (tableau 5).

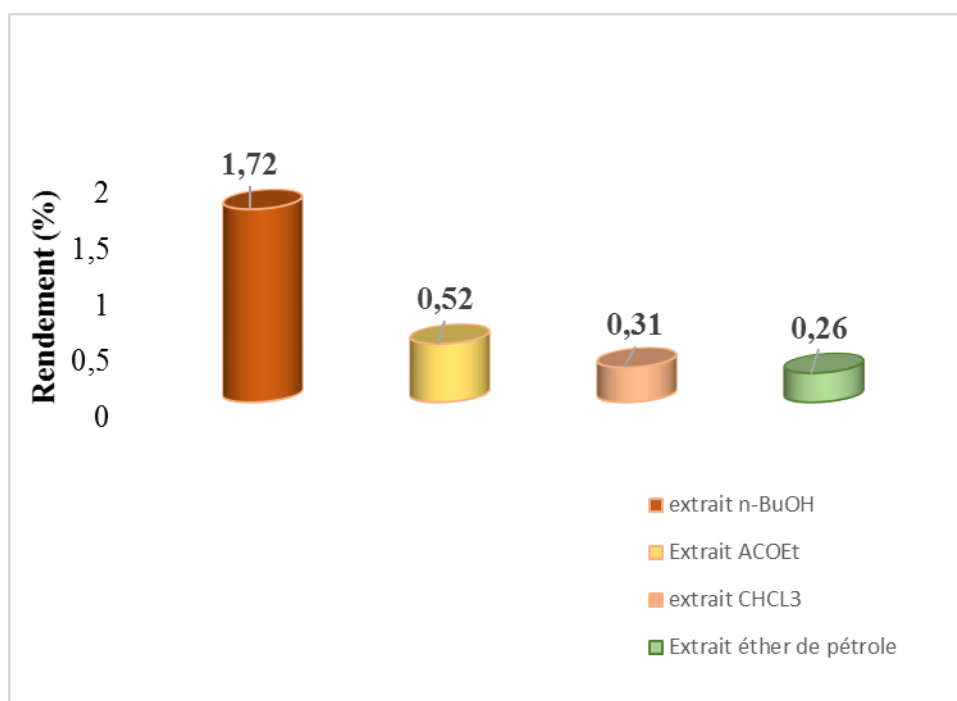


Figure 35. Rendement des extraits de *Capparis spinosa* L.

V.2. Teneur en polyphénols

La teneur en polyphénols totaux est estimée par la méthode de Folin- Ciocalteu pour chaque extrait à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec différentes concentrations d'acide gallique. (L'équation standard de la courbe : $y = 0,0022x + 0,0682$; $R^2 = 0,999$) (figure 36).

Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par un gramme de l'extrait sec (mg EAG/1g EXS). En plus de sa sensibilité, cette méthode de dosage représente une productibilité puisque l'absorbance est étroitement corrélée à la concentration de l'acide gallique utilisé dans la gamme étalon.

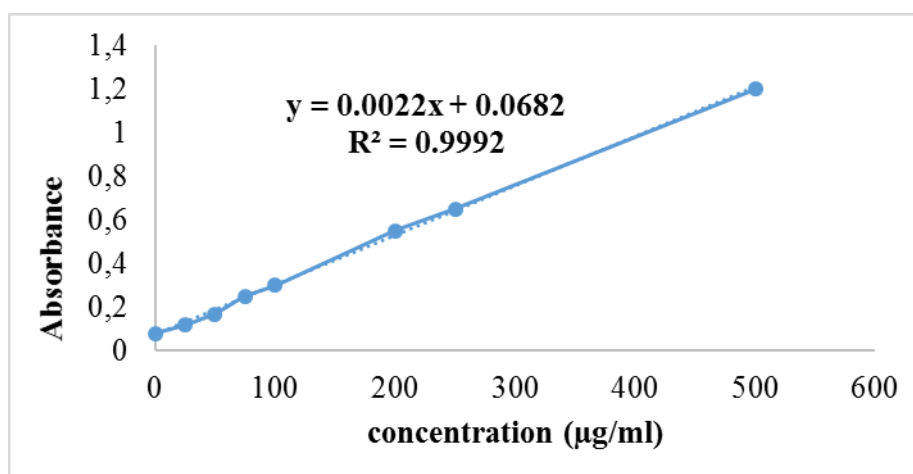


Figure 36. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Les résultats de l'analyse quantitative obtenus par spectrophotométrie UV-visible des trois extraits chloroformique, acétate d'éthyle et n-butanolique, des parties aériennes de la plante sont représentés dans la figure 37.

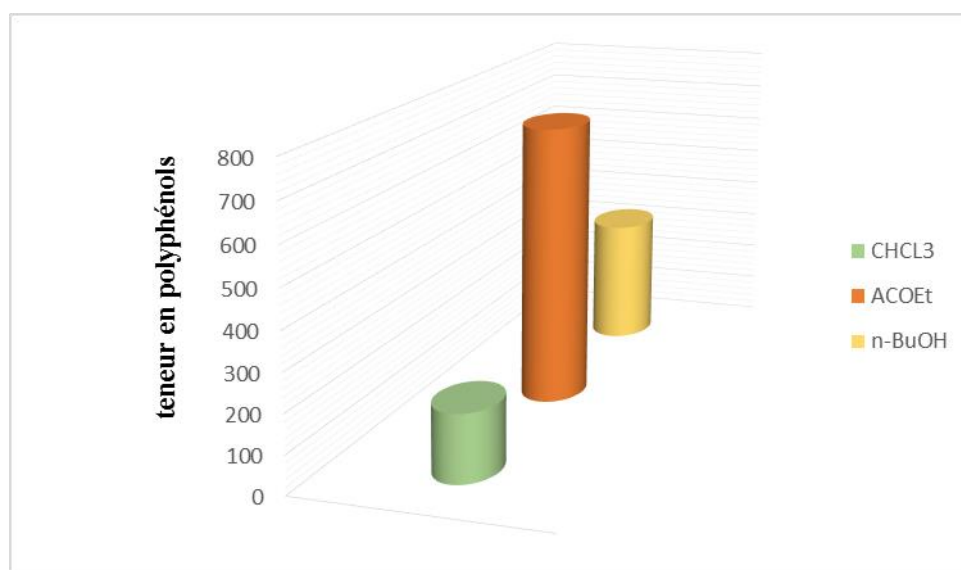


Figure 37. Teneur en polyphénols des extraits ; CHCl₃ ; AcOEt et n-BuOH.

D'après les résultats obtenus (tableau 6), on peut constater que la teneur en polyphénols varie d'un extrait à l'autre, et la teneur en polyphénols dans l'extrait d'acétate d'éthyle est plus élevée (735,47 mg EAG/g Ext).

Tableau 6. Résultats de la quantification spectrophotométrique des phénols totaux.

Phase	Chloroforme	Acétate d'éthyle	n-butanol
Teneur en mg EAG/g Ext	176.37 ± 0.03	735.47 ± 0.01	330.9 ± 0.04

Cette teneur est environ deux fois supérieure à la teneur enregistrée de l'extrait de n-butanol, qui contient également une quantité considérable de 330,9 mg EAG/g Ext. D'autre part, l'extrait chloroformique contient de faible teneur en polyphénols (176,37 mg EAG/g Ext). Par conséquent, il semble que les extraits d'acétate d'éthyle et de n-butanol sont riches en polyphénols, tandis que l'extrait chloroformique a une teneur en polyphénols relativement faible.

Les valeurs obtenues par la méthode colorimétrique fournissent des informations directes sur la quantité des groupes phénoliques antioxydants de chaque extrait qui dépend essentiellement du nombre des groupes hydroxyles de ces derniers.

V.3. Évaluation de l'activité antioxydante des extraits de la plante

L'activité antioxydante des différents extraits est déterminée par trois tests (le pouvoir réducteur des ions ferriques ; le piégeage du radical ABTS·+ ; le piégeage du radical DPPH).

V.3.1. Test de réduction du fer

Les résultats de l'activité de réduction de fer des extraits organiques de la plante étudiée sont présentés sur la figure 38. À partir des résultats obtenus, nous avons remarqué que le pouvoir réducteur des extraits de la plante est dose-dépendant, c'est-à-dire que le pouvoir réducteur est proportionnel à l'augmentation de la concentration de l'extrait.

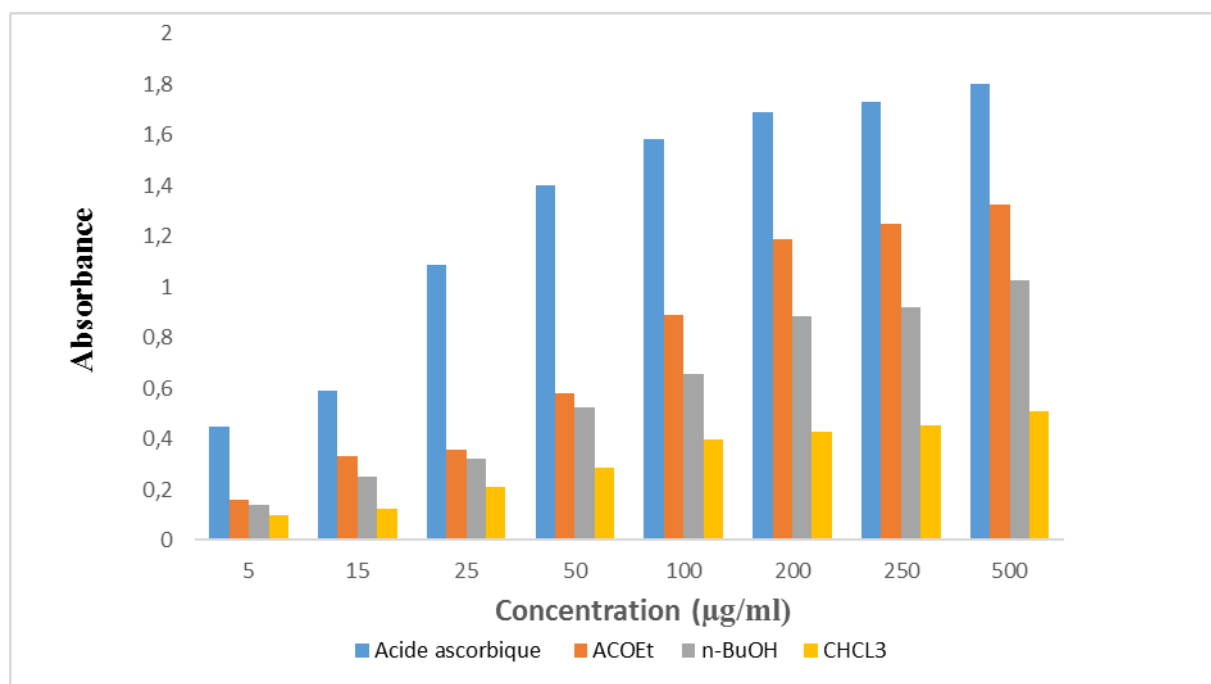


Figure 38. Histogramme représente le pouvoir réducteur de fer des extraits de *capparis spinosa* L et l'acide ascorbique

Les résultats obtenus sont montrés que l'extrait acétate d'éthyle a présenté le pouvoir le plus intéressant de réduire les ions Fe^{3+} comparativement avec l'extrait chloroformique, mais il est nettement inférieur à celui de l'acide ascorbique. Par contre l'extrait de n-butanol a montré un pouvoir réducteur moins élevée par rapport à l'extrait acétate d'éthyle.

Ces résultats pourront s'expliquer par le fait que l'extrait acétate (AcOEt) présentant un pouvoir réducteur important renferme des molécules ayant un potentiel réducteur donneur

d'électron plus élevée tandis que l'extrait n-butanolique et chloroformique qui montrent un pouvoir réducteur moins élevée peuvent renfermer des substances à potentiel réducteur donneur d'électron moins fort.

Nous constatons que le pouvoir réducteur des extraits de la plante est probablement dû à la présence des groupements hydroxyles dans les composés phénoliques qui peuvent servir comme des donneurs d'électrons. Par conséquent, les antioxydants sont considérés comme des réducteurs et inactivateurs des oxydants (Bougandoura et Bendimerad, 2012).

V.3.2. Test de piégeage du radical DPPH

La capacité antioxydante des trois extraits ; chloroformique ; acétate d'éthyle et n-butanolique est évaluée par leur réaction avec le radical DPPH. Le pourcentage d'inhibition PI (%) est calculé pour chaque concentration. La figure 39 représente la variation du pourcentage du pouvoir inhibiteur en fonction de la concentration de chaque extrait.

D'après les résultats obtenus, on remarque que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour le standard (l'acide ascorbique), ou pour les différents extraits de la plante.

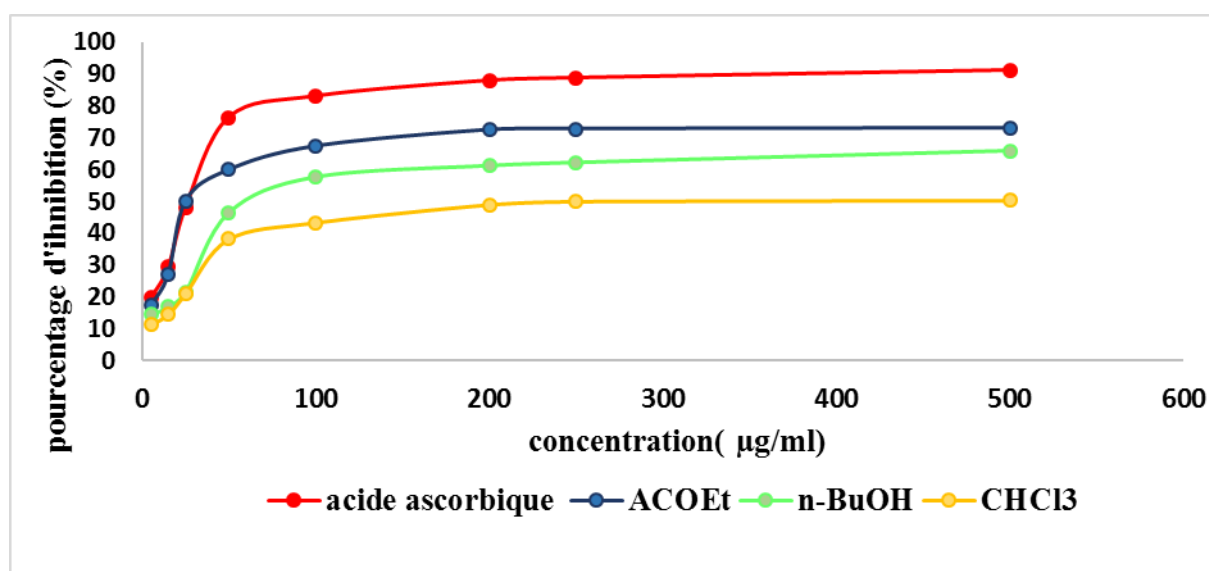


Figure 39. Pourcentage d'inhibition du radical DPPH des extraits de *Capparis spinosa* L et de l'acide ascorbique.

❖ Détermination d'IC50

L'IC50 est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé, car il a exprimé la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC50 est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande.

La capacité antioxydante des divers extraits et d'un témoin positif antioxydant, l'acide ascorbique sont rassemblés dans le tableau 7.

Tableau 7. Valeurs des IC₅₀ du test DPPH exprimées en (µg/ml) des extraits (chloroforme, n-butanolique et acétate d'éthyle) comparativement avec l'acide ascorbique.

La phase	IC ₅₀ (µg/ml)
Acide ascorbique	24.63
Acétate d'éthyle	42.52
n-butanol	102.51
Chloroforme	278.66

La figure ci-dessous représente les valeurs des IC₅₀ des trois extraits (AcOEt, n-BuOH, CHCl₃).

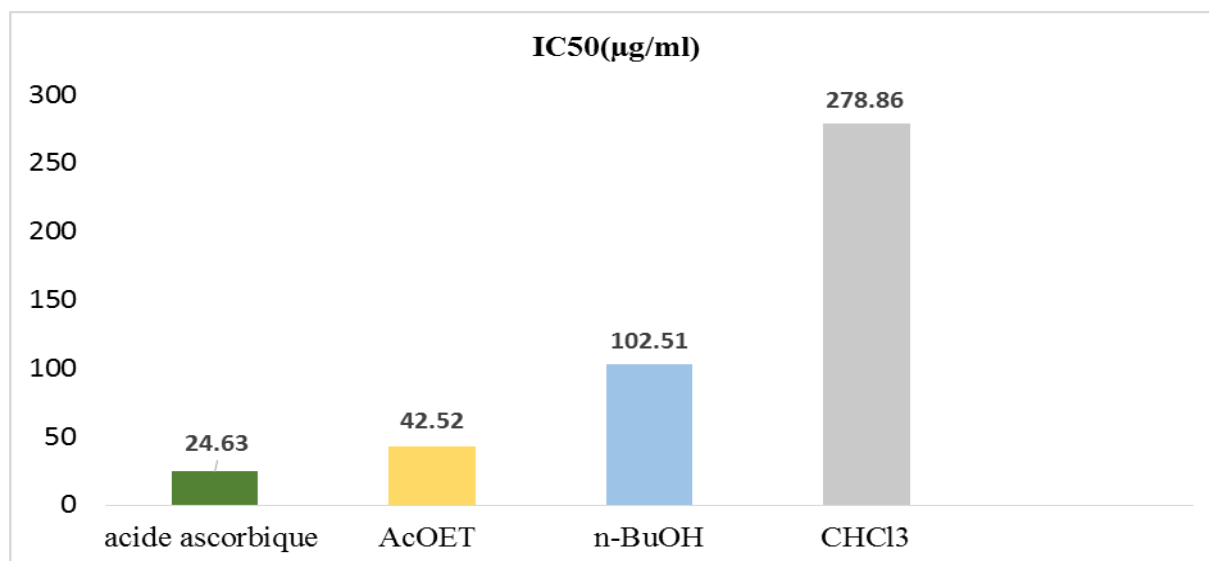


Figure 40. Histogramme représentant les Valeurs des IC₅₀ exprimées en µg/ml des extraits.

On remarque que les trois extraits étudiés possèdent une activité antioxydante mais inférieure à celle de l'acide ascorbique (IC₅₀ = 24.63 µg/ml). L'activité antioxydante est inversement proportionnelle à l'IC₅₀, l'extrait qui possède la plus basse valeur de IC₅₀ ; exerce l'activité anti-radicalaire la plus puissante. Nous constatons alors que l'extrait acétate d'éthyle montre la meilleure activité anti-radicalaire avec une valeur IC₅₀ égale à 42.52 µg/ml, suivi de l'extrait n-butanolique qui est presque 3 fois moins actif avec une IC₅₀ de l'ordre de 102.51 µg/ml.

Cependant l'extrait chloroformique a montré une activité relativement faible avec IC50 égale à 278.66 $\mu\text{g/ml}$.

Nous avons également remarqué qu'il existe une bonne corrélation entre la teneur en polyphénols et l'activité antioxydante des trois extraits de chloroforme, d'acétate d'éthyle et de n-butanol ; ayant un nombre élevé des groupements hydroxyles présentent une activité antioxydante très importante.

V.3.3. Le piégeage du radical ABTS

L'activité antioxydante des extraits est déduite de leur capacité à inhiber le radical $\text{ABTS}^{\cdot+}$, obtenu à partir de l'ABTS (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) comparativement à un antioxydant de référence : l'acide ascorbique. La figure 36 illustre la courbe représentative du pourcentage d'inhibition du radical en fonction des concentrations.

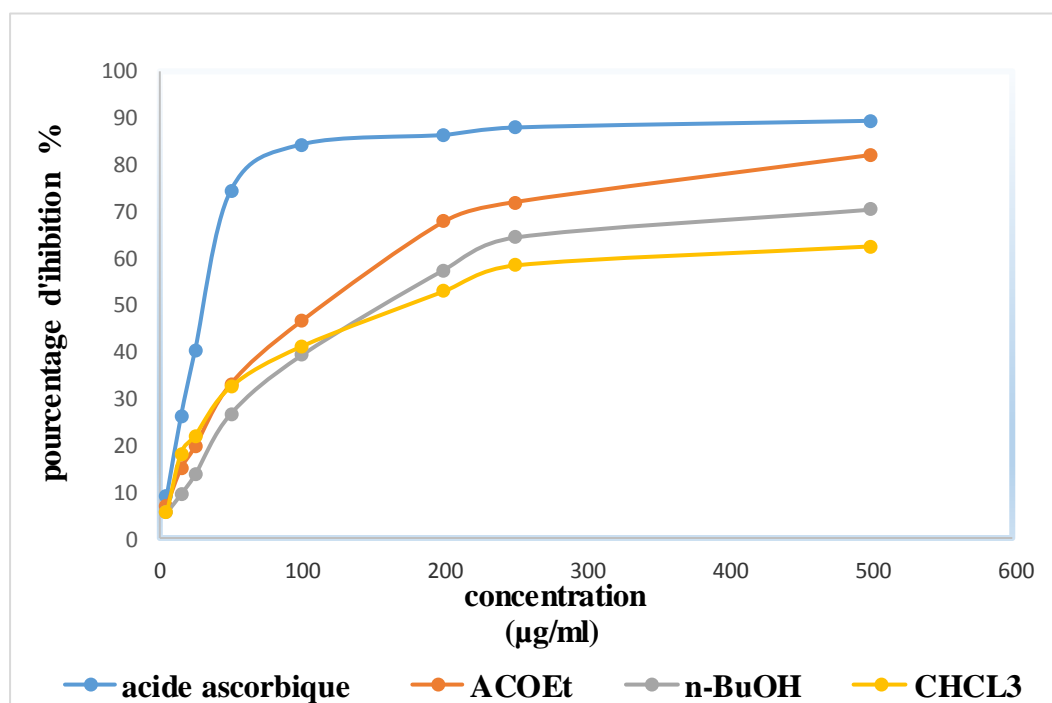


Figure 41. Pourcentage d'inhibition du radical ABTS des extraits testés et l'antioxydant de référence.

On a remarqué que le pourcentage d'inhibition du radical libre pour les extraits est inférieur à celui de standard pour toutes les concentrations utilisées. Pour une concentration de 500 $\mu\text{g/ml}$ le standard (l'acide ascorbique) a révélé un pourcentage d'inhibition d'ABTS de 89.48%. Pour la même concentration (500 $\mu\text{g/ml}$), les pourcentages d'inhibition d'ABTS

sont respectivement : 82.13%, 70.39% et 62.50% pour l'extrait d'acétate d'éthyle, n-butanolique et l'extrait chloroformique.

La capacité antioxydante des différents extraits est déterminée à partir de l'IC₅₀, c'est la concentration d'extrait nécessaire pour diminuer 50% du taux des radicaux libres. Nous avons déterminé pour chaque extrait l'IC₅₀, les valeurs sont représentées dans le tableau 8.

Tableau 8. Valeurs des IC₅₀ du test ABTS exprimées en (µg/ml) des extraits (chloroforme, n-butanolique et acétate d'éthyle) comparativement avec l'acide ascorbique.

La phase	IC ₅₀ (µg /ml)
Acide ascorbique	32.78
Acétate d'éthyle	92.75
n-butanol	151.41
Chloroforme	172.43

La figure suivante représente les valeurs des IC₅₀ des extraits (AcOEt, n-BuOH, CHCl₃).

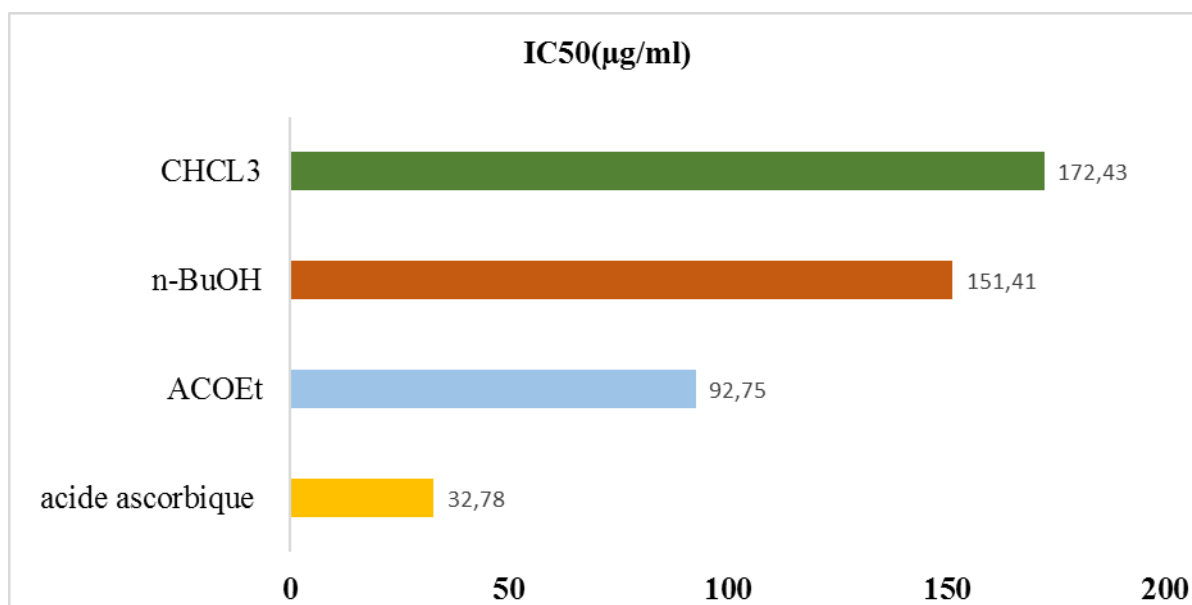


Figure 42. Histogrammes représentent les Valeurs des IC₅₀ exprimées en mg/ml des extraits (AcOEt, n-BuOH, CHCl₃).

D'après les résultats présentés dans le tableau 8, l'IC₅₀ obtenu pour l'acide ascorbique (32.78µg /ml), utilisés comme molécule de référence, est plus inférieure que celle des extraits et donc, possède une activité antioxydante très élevée. La fraction acétate d'éthyle présente une IC₅₀ de l'ordre de (92.75 µg /ml) largement inférieure à celle des extraits n-butanolique (151.41µg /ml) et chloroformique (172.43 µg /ml). Nous constatons que les trois extraits

possèdent une activité antioxydante relativement moyenne, tandis que l'extrait acétate d'éthyle présente la meilleure capacité à neutraliser le radical ABTS⁺, donc cet extrait s'est révélé le plus actif.

Selon les résultats des tests antioxydants, l'extrait qui présente une forte activité antioxydante possède une teneur élevée en polyphénols. Il a prouvé que les composés phénoliques présents dans les plantes sont principalement responsables de l'effet scavenger des radicaux libres (Amessis-Ouchemoukh *et al*, 2014).

V.4. Composition chimique de l'huile essentielle du *Capparis spinosa* L

L'huile essentielle obtenue avec un rendement de 0,46 % est analysé par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. Vingt-huit composants sont représenté respectivement 86.37% de l'huile totale sont identifiés par comparaison de leurs spectres SM avec ceux de notre propre bibliothèque de composés authentiques. L'analyse de la composition chimique de l'huile essentielle de *Capparis spinosa* L a permis d'identifier les composés dont la teneur est supérieure ou égale à 0,1 % (tableau 9).

Les résultats d'analyse de l'huile essentielle de *Capparis spinosa* ont montré la présence d'hydrocarbures mono terpéniques et certains composés oxygénés. Les principaux composés de l'huile essentielle de *Capparis spinosa* L sont : l'eugénol (38,02%) ; le 3-Butene-1,2-diol, 1-(2-furanyle) (5.59 %) ; le 2-Iodo-3-méthylbutane (5,29%) ; Dihydroactinidioide (4.83%) ; 2(4H) Benzofuranone, 5, 6, 7,7 α - tétra -hydro-4, 4,7 α -triméthyle (4.77%) ; acide palmitique (4,68%) et R-Dihydroactinidioide (3.33%).

Tableau 9. les structures de quelque composées majoritaire

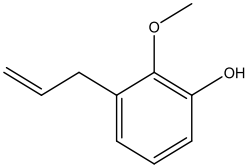
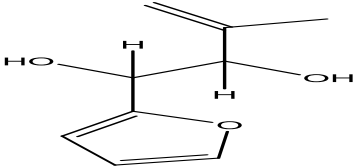
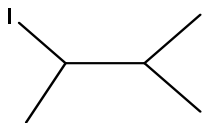
		
L'eugénol	Le 3-Butene-1,2-diol, 1-(2-furanyle)	2-Iodo-3-méthylbutane

Tableau 10. Composition chimique de l'huile essentielle de *Capparis spinosa* L.

N°	t _r	Composants	Aire (%)
1	3.091	2-méthylpropanol	0.99
2	18.808	2-Heptyl-1,3-dioxolane	0.33
3	20.335	Acide caproïque	0.88
4	20.487	1-(3-méthoxy phényl) éthanone	0.50
5	21.147	Di-isopropylglycol	1.47
6	21.603	Eugénol	38.02
7	25.667	n- butyle nitrate	0.50
8	26.619	Acide isobutyrique	0.87
9	30.808	1-cyclopropyl-éthanone	0.55
10	34.890	2-Iodo-3-méthylbutane	5.29
11	35.935	Anhydride isobutyrique	0.95
12	36.008	4-heptène-3-one, 5-méthyle	1.14
13	36.136	3, 5,9-Undecatrien-2-one, 6,10-diméthyle	0.46
14	38.359	2(4H) Benzofuranone, 5, 6, 7,7- α -tetrahydro-4, 4,7 α -triméthyle, (R)	3.33
15	37.702	Dihydroactinidioide	4.83
16	37.702	2(4H) Benzofuranone, 5, 6, 7,7 α -tetrahydro-4, 4,7 α -triméthyle	4.77
17	37.078	2,6-octadiène, 2,4-diméthyle	1.17
18	40.181	4', 6'-diméthoxy-2'-hydroxyacétophénone	1.83
19	41.822	Tétrahydro-géranyl-acétone	1.71
20	43.011	Tridécanoate de méthyle	1.01
21	33.650	2-méthoxy-2-méthyle Propanone.	0.32
22	35.050	Acide 2-thiophène acétique, ester de 2-tridécyle.	1.09
23	43.424	1- Iodoheptane	0.30
24	44.03	Acide 1,2-benzendicarboxylique, ester de bis (2-méthylpropyle).	3.10
25	4.649	Heptane, 2,2-diméthyle	0.36
26	45.057	2,2-diméthyle -3-hexanone.	0.40
27	46.260	Acide palmitique	4.68
28	34.890	3-Butene-1,2-diol, 1-(2-furanyle)	5.59

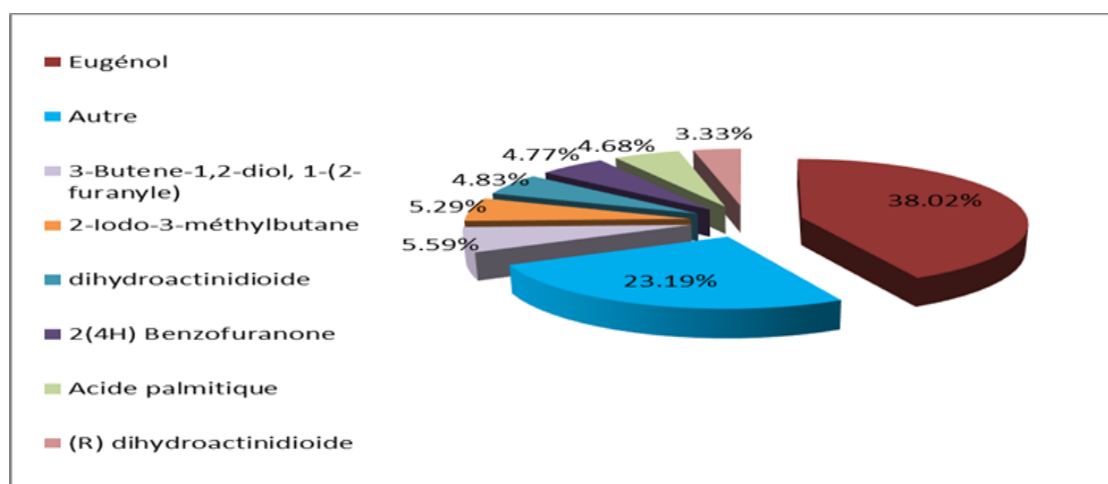


Figure 43. Le rendement de quelques constituants majeurs de l'huile essentielle.

V.5. Évaluation de l'activité antioxydante par le test DPPH de l'huile essentielle de *Capparis spinosa*

Le pouvoir antioxydant de l'huile essentielle de l'espèce étudiée est évalué au moyen du test DPPH. Les concentrations qui fournissent 50% d'inhibition (IC₅₀) sont calculées à partir de la courbe de la figure 45 et sont présentées dans le tableau 11. Le pouvoir antioxydant de l'acide ascorbique reste supérieur à celui de l'huile étudiée. L'essence de *Capparis spinosa* présente une faible activité antioxydante avec l'IC₅₀ de l'ordre de 265 µg/ml. La raison pour laquelle l'activité de cette essence est faible est peut-être parce que cette plante n'est pas récoltée pendant la phase de floraison où elle doit posséder plus de pouvoir antioxydant en comparaison à celle de la période végétative.

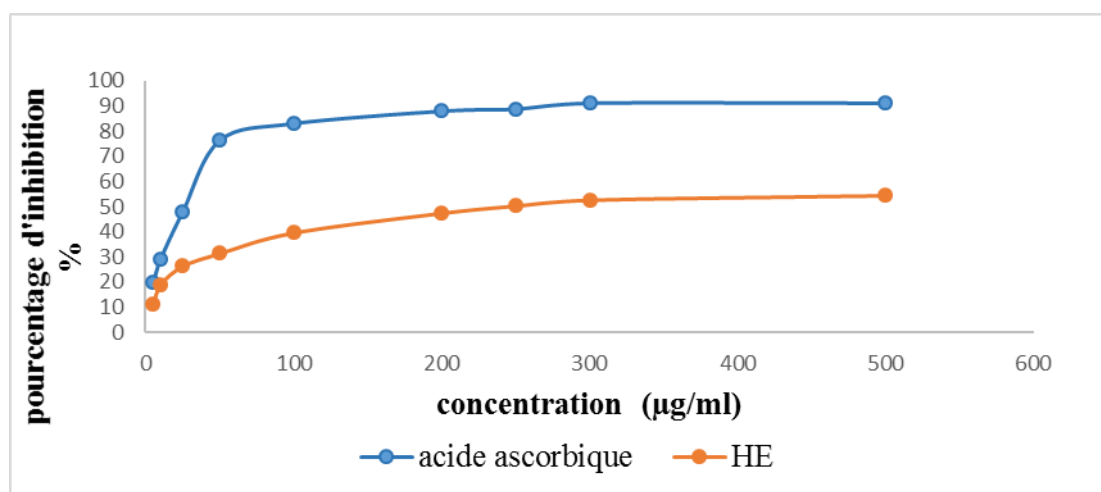


Figure 44. Pourcentage d'inhibition du radical DPPH de l'huile essentielle de *Capparis spinosa* et de l'acide ascorbique.

D'autre part, le pourcentage d'inhibition du radical libre pour la référence (acide ascorbique) est supérieur à celui de l'huile essentielle pour toutes les concentrations.

Par exemple pour la concentration de 500 µg/ml, le pourcentage d'inhibition du DPPH pour l'huile essentielle est de 54.48%, cette valeur est nettement inférieure à celle de la référence qui est de 91.19% pour cette concentration.

Tableau 11. Valeurs des IC50 du test DPPH exprimées en (µg/ml) de l'huile essentielle et de l'acide ascorbique.

Les extraits	IC50 (µg/ml)
L'acide ascorbique	24.63
L'huile essentielle	265

Concernant le test de l'ABTS, les IC50 de l'acide ascorbique et de l'huile essentielle sont 32.78 µg/ml et 254 µg/ml respectivement (tableau 11). Il a semblé que l'huile essentielle de *capris spinosa* L possède une activité antioxydante, mais elle est moins efficace que celle de l'acide ascorbique. Ces résultats sont en accord avec ceux déjà obtenus avec le test DPPH.

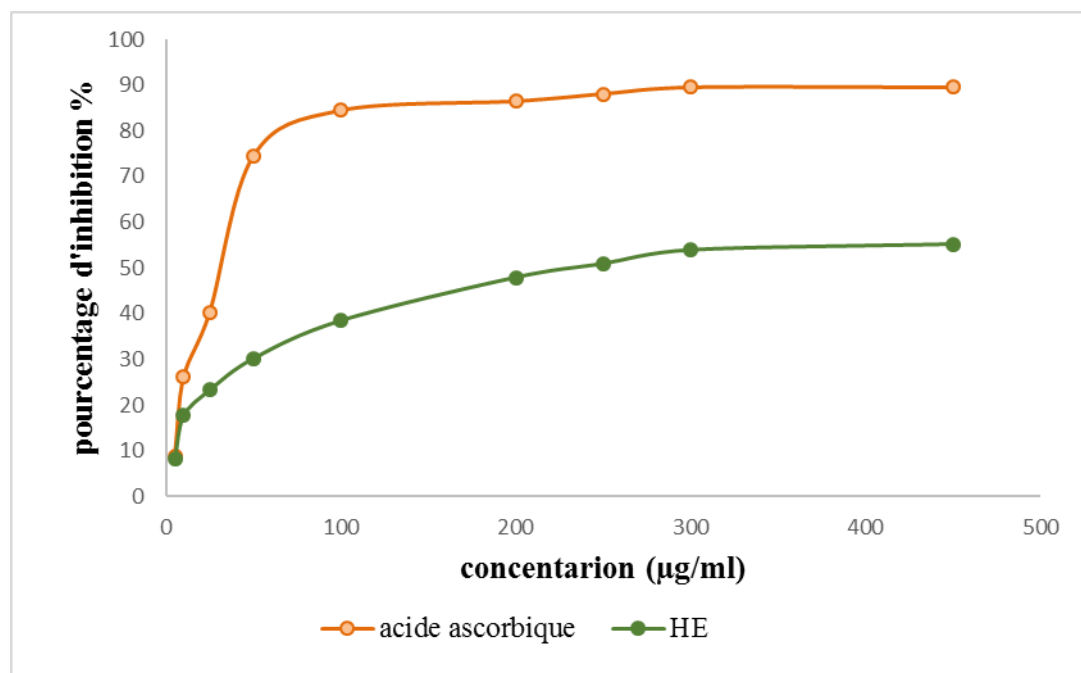


Figure 45. Pourcentage d'inhibition du radical ABTS de l'huile essentielle avec l'antioxydant de référence.

Les résultats d'évaluation de l'activité antioxydante par le test d'inhibition du radical ABTS montrent que le pourcentage d'inhibition de l'huile essentielle (55.20 %) sont faible par rapport à celui de la référence (89.50 %).

Tableau 12. Valeurs des IC50 de test ABTS exprimées en ($\mu\text{g/ml}$) de l'huile essentielle et de l'acide ascorbique.

Les extraits	IC50 ($\mu\text{g/ml}$)
Acide ascorbique	32.78
Huile essentielle	254

D'après ces résultats, l'huile essentielle étudiée présente une activité antioxydante (IC50= 254 $\mu\text{g/ml}$) inférieure à celle de l'acide ascorbique avec un IC50 de 32.78 $\mu\text{g/ml}$ (tableau 12). Cette activité est liée à la présence de composés oxygénés dans l'huile essentielle.

Il est établi dans de nombreux travaux que l'activité d'une huile essentielle est en rapport avec les composés majoritaires et les possibles effets synergiques entre les constituants.

L'analyse de la composition chimique de l'huile essentielle de notre plante a montré une forte proportion de composés terpéniques oxygénés, tel que l'eugénol qui est un composé majoritaire dans l'huile essentielle de *Capparis spinosa* avec une teneur de 38.02 % et qui possède une forte activité antioxydante.

L'huile essentielle a montré une activité antioxydante modérée, ceci est peut être dû à la présence de composés terpéniques hydrocarbonés présentant une faible capacité donatrice d'un atome d'hydrogène, et également il peut y avoir aussi d'autres composés minoritaires qui peuvent interagir d'une façon synergique ou antagoniste pour créer un système efficace vis-à-vis des radicaux libres.

L'ensemble de ces résultats obtenus *in vitro* ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances naturelles biologiquement actives. Des essais complémentaires seront nécessaires afin de trouver des formulations pour l'utilisation des propriétés Antioxydantes de cette espèce dans les domaines de l'industrie alimentaire, pharmaceutique et cosmétique.

Conclusion

Les extraits naturels issus des plantes contiennent une variété de composés phénoliques et des huiles essentielles au quelles on attribue un pouvoir antioxydant.

Dans ce contexte nous nous sommes intéressés à l'étude phytochimique et l'évaluation de l'activité antioxydante de *capparis spinosa* L., une plante utilisée en médecine traditionnelle.

L'activité antioxydante des extraits de la plante est évalué par la méthode de réduction du radical libre DPPH, le pouvoir réducteur du fer, et l'activité anti radicalaire ABTS, les 3 tests montrent que tous les extraits possèdent une activité antioxydante, grâce à leur constituants (composés polyphénoliques). L'extrait d'acétate d'éthyle et l'extrait n-butanolique possèdent respectivement la meilleure activité antiodioxydante par rapport à l'extrait chloroformique.

L'huile essentielle issue de la partie aérienne de la plante étudiée, est extraite par hydrodistillation à l'aide d'un hydrodistillateur. La composition chimique de l'huile essentielle extraite est réalisée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse. Les résultats de cette analyse de l'huile essentielle de *Capparis spinosa* L ont permis d'identifier environ 28 constituants. Les composés majoritaires sont l'eugénol (38,02%) ; le 3-Butene-1,2-diol, 1-(2-furanyle) (5.59 %);le 2-Iodo-3-méthylbutane (5,29%);Dihydroactinidoïde (4.83%) ; 2(4H) Benzofuranone, 5, 6, 7,7 α -tetrahydro-4, 4,7 α -triméthyle (4.77%) ; acide n-hexadécanoïque (4,68%).

D'autre part, l'évaluation de l'activité antioxydante de l'huile essentielle de *Capparis spinosa*, déterminée par la méthode de DPPH et ABTS a montré que l'huile essentielle de *capparis spinosa* possède un pouvoir antioxydant faible.

Notre étude montre bien que la plante médicinale *capparis spinosa* L. est très riche en différents composés métaboliques et présente une satisfaisante activité antioxydante et peut être utilisée dans le domaine pharmaceutique.

Cette plante pourrait sans doute faire partie des plantes médicinales à exploiter. En outre, certaines vertus médicinales révélées par les tradipraticiens sont probablement dues à leurs propriétés antioxydantes.

Référence

Bibliographique

-A-

Aghel N., Rashidi I., Mombeini A. (2007). Hepatoprotective activity of *Capparis spinosa* root bark against CCl₄ induced hepatic damage in mice. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 6 (4) : 285- 290.

Akroum S. (2010-2011). Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels. Physio-

Amessis-Ouchemoukh N., Madani K., Falé P.L.V., Serralheiro M.L., Araújo M.E.M. (2014). Antioxidant capacity and phenolic contents of some Mediterranean medicinal plants and their potential role in the inhibition of cyclooxygenase-1 and acetylcholinesterase activities. *Industrial Crops and Products*. 53: 6-15.

Aniyathi MJA., Latha PG., Manikili P., Suja SR., Shyamal S., Shine VJ., Sini S., Anuja GI., Shikha P., Vidiadharan MK., Rajasekharan S. (2009). Evaluation of hepatoprotective activity of *Capparis brevispina* DC. Stem bark. *Naturel Product Radiance*. 8 (5) : 514 - 519.

Anulika NP., Ignatius EO., Raymond ES., Osasere OI, Abiola AH. (2016). The chemistry of natural product : plant secondary metabolites. *International journal of technology enhancements and emerging engineering research*.4 (8) : 1- 8.

Atmani D., Chaher N., Berboucha M., Ayouni K., Lounis H., Boudaoud H., Debbach N. (2009). Antioxydant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chemistry*. 112: 303-309.

Ayad R. (2008). Recherche et détermination structurale des métabolites secondaires de l'espèce *Zygophyllum cornutum*. Mémoire de magister En Chimie Organique. Université Mentouri Constantine.

-B-

BABA-AISSA F. (2000). Encyclopédie des plantes utiles, flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique, d'orient et d'occident. Ed. EDAS, Alger. Algérie. P.368.

Badeau M. (2006). Effets d'un antioxydant, le tempol, sur les actions métaboliques et vasculaires de l'insuline chez le rat insulino-résistant avec un surplus de poids. Effets de l'insuline sur le transport du glucose dans le muscle squelettique, la réactivité vasculaire, l'expression des protéines eNOS, le stress oxydatif et les effets hémodynamiques régionaux, Université Laval.

- Badiaga M.** (2011). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea Latifolia* Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali. Thèse de doctorat. Université de Bamako.
- Bahorun T.** (1997). Substances naturelles actives : La flore mauricienne une source d'approvisionnement potentielle. Université de Maurice. AMAS, Food and Agricultural. Research Council. Réduit. Mauritius.
- Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Dine T., Luyckx M., Vasseur J., Cazin M., Cazin C., Pinkas M.** (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts
- Balasaheb SN., Palb D.** (2015). Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. The Royal Society of Chemistry. 5: 27986-28006.
- Bandalac V.** (2020). produits fonctionnels à base d'extraits de caroténoïde.
- Belkhiri B., Bouab.** (2018). Ch. Extraction, dosage des composés phénoliques et évaluation de l'activité antioxydante par le test DPPH de la propolis et pollen de l'est Algérien. Université L'Arbi Ben Mhidi Oum El Bouaghi. p.23.
- Benayoun B., Bouchraand I.** (2019). Contribution à l'étude phytochimique et l'activité antioxydante deux extraits des feuilles de Myrtus (Rayhane) de la région de Mila.
- Benchaar C., Calsamiglia S., Chaves A.V., Fraser G.R., Colombatto D., Mc Allister T.A.** (2008). Plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. Animal Feed Science and Technology. 145: 209–228.
- Benseghir-Boukhari LA., Seridi R.** (2007). Le câprier, une espèce arbustive pour le développement rural durable en Algérie. Méditerranée. 109: 100-105.
- Benzidane N.** (2018). Effets antioxydant vasoactif bronchorelaxant et cytotoxique des extraits de *Capparis spinosa*. Université Ferhat Abbas Sétif 1.p.44.
- Blois M.S.** (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 181(4617) : 11-99.
- Bohlmann J., Keeling C.I.** (2008). Biomatériaux terpénoïdes. The Plant Journal. 54 (4): 656-669.
- Bonina F., Puglia C., Ventura D., Aquino R., Tortora S., Sacchi A., Saija A., Tomaino A., Pellegrino ML., De Capraris P.** (2002). In vitro antioxidant and *in vivo* photoprotective

effects of a lyophilized extract of *Capparis spinosa* L. buds. *Journal of Cosmetic Science*, 53, 321-335.

Bouakaz I. (2006). Etude phytochimique de la plante *Genista Microcephala*, Mémoire de magister.

Bougandoura N., Bendimerad N. (2012). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. *Nature & Technologie*. 9: 14-19.

Bouzouita N ., Kachouri F., Ben halima M. Chaabouni MM. (2008). Composition chimique et activité anti oxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* .société chimique de Tunisie. 119_125

Bruneton J. (1993). *Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales*, 2ème Ed. Lavoisier, Paris.

Bruneton J. (1999). *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales*, 3ème Ed. *medicals internationaux and Tec & Doc* Lavoisier, Paris.

Bruneton J. (2009). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. 4éd. *technique et docomuntation*. Paris. pp. 261. ISBN 978-2-7430-1188-8.

-C-

Calsamiglia S., Busquet M., Cardozo P.W., Castillejos L., Ferret A. (2007). Invited review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *Journal of Dairy Science*. 90: 2580-2595.

Carange J. (2010). Rôle antioxydant et anti-apoptotique des brassinostéroïdes, une nouvelle stratégie de neuroprotection. Université du Québec à Trois-Rivières. p. 35.

Chopra RN., Nayar SC., Chopra IC. (1986). *Glossary of Indian medicinal plants* (National Institute of Scientific and Industrial Research, New Delhi.

Christianson D.W. (2008). Déterrer les racines du terpenome. *Opinion actuelle en biologie chimique*. 12(2): 141-150.

Christophe P., & Christophe S. (2011). *Physiologie, pathologie et thérapie de la reproduction chez l'humain*. Edition Springer, p.84.
conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits."

Cowan M.M. (1999). Produits végétaux comme agents antimicrobiens. *Clinical microbiology reviews*. 12 (4) : 564-582.

-D-

Dacosta Y. (2003). Les phytonutriments bioactifs. Edition YVES DACOSTA. Paris.

Delporte G., Mascolo N., Izzo A.(1999).*Life, Scien.*, 65(4), 337-53.

Djemoui D. (2012).Contribution à l'étude de l'activité antioxydante et antibactérienne de quelques coumarines synthétisées, Mémoire Master Académique.P.53.

Djilal H. (2017). Elaboration et caractérisation d'un composite à base de polyester biodégradable renforcé par la fibre d'Alfa. Université abou-bekr belkaid - Tlemcen. p. 12.

Dudareva N., Pichersky E., Gershenzon J. (2004). Biochemistry of plant volatiles. *Plant physiology*. 135(4): 1893-1902.

-E-

Eddouks M., Lemhadri A., Eddouks M., Sulpice T., Burcelin R. (2007). Anti-hyperglycaemic and anti-obesity Effects of *Capparis spinosa* and *Chamaemelum nobile* aqueous extracts in HFD mice. *American Journal of Pharmacology and Toxicology*. 2: 106-110.

-F-

FEKIH Nadia. (2014). Propriétés chimique et biologiques des huiles essentielles de trois espèce du genre pinus poussant en Algérie. Thèse de Doctorat. UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID – TLEMCEN. P.7.

Fici S. (2014). A taxonomic revision of the *Capparis spinosa* group (Capparaceae) from the mediterranean to central Asia. *Phytotaxa* 174 (1) : 001– 024.

Fleuriet A. (1982). Thèse Doc. Etat, Montpellier.

-G-

Grillet C. F. (1994) Villeneuve, Les tanins dans les fourrages ligneux.

Guignard J. L. (1998).Abrégé de botanique, Masson (Ed). Paris. P.212.

Guillouty A. (2016). Plantes médicinales et antioxydants. Université Toulouse Iii Paul Sabatier.p.32.

Gülçin İ. (2012). Antioxidant activity of food constituents : an overview. *Archives of toxicology*. 86(3) : 345-391.

-H-

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

Havsteen B.H. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol, Therapeut*. P. 96, 67– 202.

Hellal Z. (2011). Contribution à l'étude des propriétés antibacteriennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des citrus. Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*). Mémoire de Magister en biologie, université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou. Algérie.

Hocine F., Gorine M., Mohammed A. (2017). Evaluation de l'exposition au plomb et cadmium et impact sur quelques paramètres du statut oxydant/anti oxydant chez les ouvriers exposes aux fumées de soudage. Université Abou- Bekr Belkaid– Tlemcen. p.08.

-I-

Inocencio C., Rivera D., Concepción Obón M., Alcaraz F., Barreña JA. (2006). A systematic revision of *capparis* section *Capparis* (Capparaceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden*. 93: 122–149.

-J-

Jacques G., Paltz S.A. (1997). Le fascinant pouvoir des huiles essentielles. Fascicule du laboratoire "Jacque Paltz".

Jiang HE., Li X., Ferguson DK., Wang YF., Liu CJ., Li CS. (2007). The discovery of *Capparis spinosa* L. (*Capparidaceae*) in the Yanghai Tombs (2800 years b.p.), NW China, and its medicinal implications. *Journal of Ethnopharmacology*. 113 : 409- 420. Juni perusoxycedrus. Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila. p.17.

-K-

Karnouf N. (2009). Effet des extraits de *Capparis spinosa* L. sur la dégranulation et le chimiotactisme des neutrophiles humains. Mémoire de magister. Université de Farhat Abbas Sétif.p.99.

Khenaka K. (2011). Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogénèse ruminale chez l'ovin, Diplôme de Magister En Microbiologie Appliquée, Université Mentouri Constantine.

King A.M.Y., Young G. (1999). Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. *Journal of the American Dietetic Association*. 99(2) : 213-218.

Koechlin-Ramonatxo C. (2006). Oxygen, oxidative stress and antioxidant supplementation, or another way for nutrition in respiratory diseases. *Nutrition clinique et métabolique*. (20) : 165-177.

Krief S. (2003). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, thèse doctorat, muséum national d'histoire naturelle. P.32.

Kusmenoglu S., Tokern G., Başer KHC., Koca U. (1997) : Composition of the fruit oils of *Capparis species*. *Acta Pharmaceutica Turcica*. 2: 55-57. L'Arbi Ben Mhidi Oum El Bouaghi. p.18.

-L-

Lahlou M. (2004). Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research*. 18(6): p. 435-448.

Lamarti A., Badoc A., Deffieux G., Carde J. P. (1994). Biogénèse des Monoterpènes–II– La chaîne isoprénique. *Bull. Soc. Pharm.* Bordeaux. 133: 79-99.

Laraoui H. (2007). Etude phytochimique L'extrait chloroformique de *Bupleurumatlanticum*, Docteur de l'université Louis pasteur Chimie Organique.

Lkrimi M. (1997). Bulletin de Transfer de Technologie en Agriculture n°37 (Octobre 1997), direction de la production végétale, MAEE, RABAT.

-M-

Malecky M. (2005). Métabolisme des terpenoïdes chez les caprins, thèse Pour obtenir le grade de docteur de l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, Agro Paris Tech.

Manach C., Scalbert A., Morand C., Jiménez L. (2004). Polyphenols : food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition* 79:727 - 747.

Mansour RB., Jilani IBH., Bouaziz M, Gargouri B., Elloumi N., Attia H., Ghrabi-Gammar Z., Lassoued S. (2016). Phenolic contents and antioxidant activity of ethanolic extract of *Capparis spinosa*. *Cytotechnology*. 68: 135– 142.

Mebarki N. (2010). Extraction de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* et application a la formulation d'une forme médicamenteuse-antimicrobienne, magister en génie des procédés chimique et pharmaceutiques, université M'Hamed Bougara Boumerdes.

Megaloudi F. (2005). Wild and cultivated vegetables, herbs and spices in Greek antiquity (900 B.C. to 400 B.C.). *Environmental Archaeology*. 10: 73-82.

Musallam I., Duwayri M., Shibli RA. (2011). Micropropagation of caper (*Capparis spinosa* L.) from wild plants. *Function Plant Sciences and Biotechnology*. 5: 17-21.

-N-

Nouioua W. (2012). Biodiversité et ressources phylogénétiques d'un écosystème forestier « *Paeonia mascula* L. Mill. » Diplôme de Magister en biologie végétale et d'écologie université Ferhat Abbas Setif.

-O-

Ould El Hadj MD., Hadj-Mahammed M., Zabeirou H. (2003). Place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région d'Ouargla (Sahara septentrional est). *Courrier du savoir*. 03: 47 – 51.

-P-

Pan Y., Wang K., Huang S., Wang H., Mu X., He C., Ji X., Zhang J., Huang F. (2008). Antioxydant activity of microwave-assisted extract of longan (*Dimocarpus Longan* Lour.) peel. *Food Chemistry*. 106: 1264-1270.

Panico AM., Cardile TV., Garufi F., Puglia C., Bonina F., Ronsisvalle G. (2005). Protective effect of *Capparis spinosa* on chondrocytes. *Life sciences*, 77, 2479-2488.

Piquet M., Hdbuterne X. (2007). Nutrition en pathologie digestive ; Ed : doin ; p.16, 20. *Productions Animales*, 15(1) : 67-82.

-R-

Rakotonanahary M. (2012). *Peumus boldus* M. De la botanique à la thérapeutique : État des connaissances en 2012. Thèse doctorat. Université Joseph Fourier. France.

Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice E.C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*. 26(9-10) : 1231-1237.

Ria M. (2006). Effet des polyphénols et des tanins sur l'activité métabolique du microbioteruminal d'ovins. mémoire Présenté pour l'obtention du diplôme de Magister en : biochimie et microbiologie appliquées. p.95.

Ribeiro M.A., Gil B.M.G., Esquivel M.M. (2001). Melissa officinalis L : study of antioxidant activity in supercritical residues. *The Journal of Supercritical Fluids*. 21(1) : 51-60.

-S-

Sangwan N.S., Farooqi A.H.A., Shabih F., Sangwan R.S. (2001). Regulation of essential oil production in plants. *Plant growth regulation*. 34(1): 3-21.

Satyanarayana T., Anjana AM., Vijetha P. (2008). Phytochemical and Pharmacological Review of Some *Indian Capparis Species*. *Pharmacognosy Reviews [Phcog Rev.]*. 2 (4) : 36-45.

Scalbert A., Manach C., Morand C., Rémésy C. (2005). Dietary Polyphenols and the Prevention of Diseases, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. P.45, 287-306.

Sher H., Alyemeni MN. (2010). Ethnobotanical and pharmaceutical evaluation of *Capparis spinosa* L, validity of local folk and Unanisystem of medicine. *Journal of Medicinal Plants Research*. 4 (17) : 1751- 1756.

Singleton V. L., Rossi J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Technology and Viticulture*. (16) : 144-153.

-T-

Tapiero H., Tew K.D., Ba G.N., Mathe G. (2002). Polyphenols : do they play a role in the prevention of human pathologies. *Biomedicine & pharmacotherapy*. 56(4) : 200-207.

Tesoriere L., Butera D., Gentile C., Livrea MA. (2007). Bioactive components of caper (*Capparis spinosa* L.) from Sicily and Antioxidant Effects in a Red Meat Simulated Gastric Digestion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* , 55, 8465–8471.

Tlili N., Elfalleh W., Saadaoui E., Khaldi A., Triki S., Nasri N. (2011). The caper (*Capparis L.*): ethnopharmacology, phytochemical and pharmacological properties. *Fitoterapia* 82: 93–101.

-W-

Wu H. (2007). Isolation and characterization of natural products from ginger and *Allium Ursinum*. *ProQuest Edition*. p. 28.

-Y-

Yusuf Y. (2006). *Trends Food Sci. Tech.* P.17, 64-71.

-Z-

Zakkad F. (2017). Etude phytochimique et évaluation de quelques propriétés biologiques de trois espèces de l'Euphorbia. Thèse doctorat. Université Badji Mokhtar- Annaba.

Zeraoula H., Hamici M., Nouaddria Ch. (2018). Etude phytochimique et évaluation de l'activité anti-inflammatoire d'une plante médicinale : *Capparis spinosa L.* Université 8 Mai 1945 Guelma. p.23.

Zhang H., Feei Ma Z. (2018). Phytochemical and pharmacological properties of *Capparis spinosa* as a medicinal plant. *Nutrients*. 10: 116-130.

Résumé

L'objectif de ce travail est l'étude de l'activité antioxydante des extraits et de l'huile essentielle issus de la partie aérienne de l'espèce *Capparis spinosa* L. ; une plante utilisée en médecine traditionnelle, de la famille des *Capparaceae*.

Le dosage des polyphénols totaux montre que les extraits d'acétate d'éthyle et de n-butanol sont riches en polyphénols, tandis que l'extrait du chloroforme a une teneur en polyphénols relativement faible. L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits par le test du DPPH, le pouvoir réducteur du fer et le test ABTS montre que le pouvoir antioxydant des trois extraits est satisfaisant. La meilleure activité antioxydante est obtenue avec la fraction acétate d'éthyle.

L'analyse par CG/MS de l'huile essentielle issue par hydrodistillation a permis d'identifier environ 28 constituants. L'évaluation de l'activité antioxydante de l'huile essentielle par les tests de DPPH et ABTS montre qu'elle possède un pouvoir antioxydant..

Mots clés : *Capparis spinosa* L, *Capparaceae*, activité antioxydante, polyphénols, huile essentielle.

Abstract

The aim of this work is the study of the antioxidant activity of extracts and essential oil from the aerial part of the species *Capparis spinosa* L, a plant used in traditional medicine, of the family *Capparaceae*.

The determination of total polyphenols shows that the ethyl acetate and n-butanol extracts are rich in polyphenols, while the chloroform extract has relatively low polyphenol content. Evaluation of the antioxidant activity of the extracts by DPPH test, iron reducing power and ABTS test shows that the antioxidant power of the three extracts is satisfactory. The best antioxidant activity is obtained with the ethyl acetate fraction.

GC/MS analysis of the essential oil obtained by hydrodistillation identified about 28 constituents. The evaluation of the antioxidant activity of the essential oil by DPPH and ABTS tests shows that it has a moderate antioxidant.

Key words: *Capparis spinosa* L, *Capparaceae*, antioxidant activity, polyphenols, essential oil.

المخلص

الهدف من هذا العمل هو دراسة النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات والزيوت العطرية من الجزء الهوائي من نبات يسمى *Capparaceae* يستخدم في الطب التقليدي من عائلة *Capparis spinosa* L.

يوضح تحديد إجمالي البوليفينول أن مستخلصات إيثيل أسيتات و ن-بيوتانول غنية بالبوليفينول، بينما يحتوي مستخلص الكلوروفورم على محتوى منخفض نسبياً من البوليفينول. يُظهر تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات عن طريق اختبار DPPH والقدرة المرجعة للحديد واختبار ABTS أن المستخلصات الثلاثة لها نشاط مضاد للأكسدة. ويعود أفضل نشاط مضاد للأكسدة إلى مستخلص أسيتات الإيثيل.

حدد تحليل CG-MS للزيت العطري الذي تم الحصول عليه عن طريق التقطير المائي ما يقارب 28 مكوناً. يظهر تقييم النشاط المضاد للأكسدة للزيت العطري بواسطة اختبارات DPPH و ABTS أنه يحتوي على نشاط مضاد للأكسدة.

الكلمات المفتاحية: نشاط مضاد للأكسدة , بوليفينول , زيت عطري , *Capparaceae* , *Capparis spinosa* L :