

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Université de Mohamed Kheider –BISKRA-



Réf : .....

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département des Sciences de la Nature et de la Vie  
Mémoire de Magister en Biologie  
Spécialité :  
Biotechnologies

## THEME

Etude de l'activité biologique des extraits des  
bourgeons à fleurs, fleurs et fruits immatures du  
*Capparis spinosa L.*

Présenté par:

MEDDOUR Asma

Membres de jury :

Présidente : Pr HAMBABA L.

Faculté des sciences, Université de Batna

Rapporteur : Dr YAHIA M.

Faculté des sciences, Université de Batna

Examineurs : Pr LAROUI S.

Faculté de médecine, Université de Batna

Dr BENKIKI N.

Institut d'Hygiène et Sécurité, Université de Batna

Année Universitaire 2010/2011



## **Remerciement**

*Au terme de cette étude, je remercie le Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donné la force et la patience, et m'avoir guidé durant les années d'étude.*

*Je tiens à exprimer mes profonds remerciements et ma vive connaissance à mon encadreur : Mr YAHIA M, Maître de conférences à la faculté des sciences Université de Batna pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses précieux conseils, ses observations et la confiance qu'il m'a accordé, m'ont permis de réaliser ce travail.*

*Je tiens à exprimer ma très grande considération et ma vive reconnaissance à M<sup>me</sup> HAMBABA L. Professeur à l'université de Batna, qui m'a fait l'honneur d'accepter de présider le jury de ce mémoire.*

*Un grand merci aux : M<sup>r</sup> LAROUÏ Salah Professeur à l'université de Batna et Mme BEN KIKI Naima, Maître de conférences à l'Université de Batna Pour l'honneur qu'ils m'ont fait en acceptant de faire partie de jury.*

*J'aimerais exprimer ma gratitude à ma famille qui m'a aidé à la récolte de la plante, et son soutien durant la réalisation de ce travail.*

*Mes remerciements vont également à M<sup>me</sup> BEN KIKI Naima, M<sup>r</sup> KALA A, M<sup>r</sup> AYACHI A, M<sup>r</sup> ABDEDDAIM M et M<sup>elle</sup> BAISSIS S Maîtres assistants - chargés de cours de l'Université de Batna tout d'abord pour leur soutien*

*J'aimerais également remercier les techniciennes des laboratoires :*

*Chimie et environnement, Département d'hygiène et sécurité, Université de Batna*

*Biochimie, Département de biologie, Université de Biskra*

*Microbiologie, Département de vétérinaire, Université de Batna*

*Pour leurs patience et aides*

*Mes remerciements vont également à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

## **Dédicace**

*Je dédie ce travail, tout d'abord aux deux êtres, les plus chères à mon cœur, mes parents, qui sont l'idéal pour moi, d'affection, de tendresse, de sacrifices..., et qui m'ont aidé à être ce que je suis..., que dieu les garde.*

*A mes très chères frères et sœurs pour leur aide et soutien morale.*

*A toute la famille petite et grande.*

*A mes amies chacune à son nom.*

*A tout mes collègues.*

*A tout ce qui ont consacré leur temps, patience et conseils, surtout dans les moments difficiles.*

# Sommaire

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des Figures

Introduction

## Partie I: Etude bibliographique

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

I.1. Description botanique du <i>Capparis spinosa</i> L.....	01
I.2. Classification botanique du <i>Capparis spinosa</i> L.....	02
I.3. Ecologie et répartition géographique.....	03
I.3.1. Ecologie.....	03
I.3.2. Répartition géographique dans le monde.....	03
I.3.3. Répartition géographique en Algérie.....	04
I.4. Composition biochimique du <i>Capparis spinosa</i> .....	04
I.4.1. Teneur en métabolites primaires, eau et cendre.....	05
I.4.2. Teneur en métabolites secondaires.....	05
I.5. Utilisation du <i>Capparis spinosa</i> .....	06
I.6. Activités biologiques et thérapeutiques.....	06
I.6.1. Activité antioxydante du <i>Capparis spinosa</i> .....	06
I.6.2. Activité anti-inflammatoire du <i>Capparis spinosa</i> .....	07
I.6.3. Activité antivirale du <i>Capparis spinosa</i> .....	07
I.6.4. Activité hépatoprotective du <i>Capparis spinosa</i> .....	07

I.6.5. Autres activités.....	07
I.7. Quelques utilisations traditionnelles du <i>Capparis spinosa</i> .....	08
I.8. Toxicité du <i>Capparis spinosa</i> .....	09

## **Chapitre II. Données sur quelques métabolites secondaires**

II.1. Les composés phénoliques.....	10
II.1.1. Définition.....	10
II.1.2. Classification.....	11
II.1.3. Biosynthèse des composés phénoliques.....	12
II.1.4. Activités biologiques.....	12
II.2. Les flavonoïdes.....	13
II.2.1. Structure chimique.....	13
II.1.2.2. Localisation et distribution .....	14
II.1.2.3. Classification.....	14
II.2.4. Activités biologiques.....	16
II.2.4.1. Effet anticancéreux des flavonoïdes.....	16
II.2.4.2. Activité antioxydante des flavonoïdes.....	16
II.2.4.3. Les flavonoïdes comme inhibiteur enzymatique.....	17
II.2.4.4. Effet protecteur contre l'ostéoporose .....	17
II.2.4.5. Effets vasculaires des flavonoïdes .....	17
II.2.4.6. Autres activités des flavonoïdes.....	18
II.2.5. Rôles des flavonoïdes chez les plantes .....	18

II.3. Les alcaloïdes.....	18
II.3.1. Structure chimique et biosynthèse.....	18
II.3.2. Origine.....	19
II.3.3. Classification.....	19
II.3.4. Activités biologiques.....	19

### **Chapitre III : Les espèces réactives oxygénées et le stress oxydant**

III.1. Définition d'un radical libre oxygéné.....	20
III.2. Voie métabolique de l'oxygène et des espèces réactives de l'oxygène.....	20
III.3. Autres espèces réactives.....	22
III.4. Sources des ERO.....	23
III.5. Effets des ERO.....	23
III.5.1. Physiologie.....	23
III.5.2. Pathologie.....	24
III.6. Le stress oxydant.....	24
III.6.1. Définition.....	24
III.7. Les antioxydants.....	25
III.7.1. Les type d'antioxydants.....	26
III.7.1.1. Les antioxydants enzymatiques.....	26
III.7.1.2. Les antioxydants non enzymatiques.....	26

## Partie expérimental

### Chapitre I. Matériel et méthodes

I.1. Matériel.....	28
I.1. 1. Matériel végétal.....	28
I.1.2. Matériels techniques.....	29
I.1.3. Solvants.....	29
I.2. Méthodes.....	29
I.2.1. Détermination de la teneur en eau.....	29
I.2.2. Détermination de la teneur en cendre.....	30
I.2.3. Préparation des extraits à partir des bourgeons à fleur, fleurs et fruits de <i>Capparis spinosa</i> .....	31
I.2.3.1. Extractions avec des solvants à polarité croissante .....	32
I.2.3.2. Extrait aqueux à 10%.....	33
I.2.4. Analyse des extraits du <i>Capparis spinosa</i> .....	35
I.2.4.1. Analyse qualitative des extraits du <i>Capparis spinosa</i> .....	35
I.2.4.1.1. Tests préliminaires.....	35
A. Mise en évidence des flavonoïdes.....	35
B. Mise en évidence des tanins.....	35
C. Mise en évidence des alcaloïdes.....	35
I.2.4.1. 2. Analyse Chromatographique.....	36
A. Chromatographie sur couche mince .....	36
B. Chromatographie liquide à haute performance HPLC –RP-C18.....	37
I.2.4.2. Analyse quantitative des extraits du <i>Capparis spinosa</i> .....	39

I.2.4.2.1. Dosage des polyphénols.....	39
I.2.4.2.2. Dosage des flavonoïdes.....	39
I.2.5. Tests des activités biologiques.....	40
I.2.5.1. Test d'activité antioxydante.....	40
I.2.5.2. Activité antimicrobienne.....	41
I.3. Analyses statistiques.....	43

## **Chapitre II. Résultats et discussion**

II.1. Détermination de la teneur en eau .....	45
II.2. Détermination de la teneur en cendre .....	45
II.3. Préparation des extraits à partir des bourgeons à fleur, fleurs et fruits de <i>C. spinosa</i> .....	46
II.4. Analyse des extraits du <i>Capparis spinosa</i> .....	47
II.4.1. Analyse qualitative des extraits du <i>Capparis spinosa</i> .....	47
II.4.1.1. Tests préliminaires.....	47
II.4.1.2. Analyses chromatographiques.....	48
II.4.1.2.1. Chromatographie sur couche mince.....	48
II.4.1.2.2. Chromatographie liquide à haute performance HPLC –RP-C18.....	52
II.4.2. Analyse quantitative des extraits du <i>Capparis spinosa</i> .....	57
II.4.2.1. Dosage des polyphénols et des flavonoïdes.....	57
II.5. Tests des activités biologiques.....	59
II.5.1. Tests d'activité antioxydante.....	59
II.5.1.1. Effet scavenger du radical DPPH.....	59

II.5.2. Test d'activité antimicrobienne.....	61
--	----

**Conclusion**

**Références bibliographiques**

## Liste des abréviations

**·OH** : Le radical hydroxyle

**<sup>1</sup>O<sub>2</sub>** : L'oxygène singulet

**AAR%**: Pourcentage de l'activité Anti-Radicalaire

**Abs** : Absorbance

**AC** : Acide Caféique

**ADN** : Acide Désoxyribonucléique

**AG** : Acide Gallique

**AMPc** : Adénosine Mono-Phosphate cyclique

**Aq** : Extrait Aqueux

**ATCC** : American Type Culture Collection

**BER** : Base Excision Repair

**C%**: La teneur en cendres

**Cat** : Catéchine

**CCl<sub>4</sub>** : Tétrachlorure de Carbone

**CCM** : Chromatographie sur couche mince

**CHU** : Centre Hospitalo-Universitaire

**CLHP** : Chromatographie Liquide à Haute Performance

**DCM** : Extrait de dichlorométhane

**DMSO** : Diméthylsulfoxyde

**DPPH** : 1,1-Diphényl-2-Picrylhydrazyl

**e<sup>-</sup>** : Electron

**Ep** : Extrait d'éther de pétrole

**ERN** : Espèces Réactives de l'azote ;

**ERO** : Espèces Réactives de l'Oxygène ;

**GMH** : Gélose Mueller Hinton

**GPx** : Glutathion Peroxydase

**GSH** : glutathion réduit (thiol peptidique)

**H·** : Le radical hydrogène

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Le peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée)

**HOCl** : Des oxydants chlorés

**HOO·**: Le radical hydroperoxyde

**HPLC**: High Performance Liquid Chromatograph

**HSV-2**: *Herpes simplex virus type 2*

**LECS** : Extrait Méthanolique Lyophilisé du *C. spinosa*

**MDR** : Multidrug-Résistance

**MeOH**: Extrait méthanolique

**Mg EAG/g d'extrait** : Milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait

**Mg ER/g d'extrait** : Milligramme d'équivalent de la rutine par gramme d'extrait

**MO** : Matière Organique

**MS%**: La teneur en matière sèche

**NER** : Nucleotide Excision Repair

**NO·** : Monoxyde d'azote

**O<sub>2</sub><sup>-</sup>** : L'anion superoxyde

**ONOO·** : L'anion peroxydite

**OMS**: Organisation Mondiale de la Santé

**P-gp**: La P-glycoprotéine

**Qur**: Quercétine

**RF** : Rapport Frontal

**R-O·** : Le radical alcoxyle

**ROS:** Reactive Oxygen Species

**Rut:** Rutine

**SD :** Standard Deviation (la déviation standad)

**SOD :** Super-Oxydes Dismutases

**TR :** Temps de Réttention

**UV:** Ultra violet

**Vit C :** Vitamine C

**Vit E :** Vitamine E

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1.</b> Teneur des câpres en métabolites primaires, en eau et en cendre .....	05
<b>Tableau 2.</b> Composition de différents organes du <i>Capparis spinosa</i> en métabolites secondaires .....	05
<b>Tableau 3.</b> Quelques utilisations traditionnelles du <i>Capparis spinosa</i> .....	08
<b>Tableau 4.</b> Teneur en eau dans les bourgeons à fleurs, fleurs et les fruits immatures du <i>C.spinosa</i> .....	45
<b>Tableau 5.</b> Teneur en cendre dans les bourgeons à fleurs, fleurs et les fruits immatures du <i>C.spinosa</i> .....	45
<b>Tableau 6.</b> Résultats des rendements par rapport à la matière sèche, aspects et couleurs des extraits des bourgeons à fleurs, fleurs et fruits immatures du <i>C.spinosa</i> .....	46
<b>Tableau 7.</b> Résultats des tests préliminaires des flavonoïdes, des tanins et des alcaloïdes sur les différents extraits du <i>C.spinosa</i> .....	47
<b>Tableau 8.</b> Rapport frontaux et couleurs après révélation des standards dans le système éther de pétrole /acétate d'éthyle (80/20).....	49
<b>Tableau 9.</b> Rapport frontaux et couleurs après révélation des standards dans le système dichlorométhane/ méthanol (86/14).....	51
<b>Tableau 10.</b> Temps de rétention des standards analysés dans le système solvant est acétonitrile / eau bidistillée (25 / 75).....	55
<b>Tableau 11.</b> Temps de rétention des polyphénols présentes dans nos extraits, dans le système solvant acétonitrile / eau bidistillée (25 / 75).....	56
<b>Tableau 12.</b> Teneur des différents extraits de <i>Capparis spinosa</i> en polyphénols totaux.....	58
<b>Tableau 13.</b> diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne par l'extrait Ep.....	61
<b>Tableau 14.</b> diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne par l'extrait DCM.....	61

## Liste des figures

<b>Figure 1.</b> <i>Capparis spinosa</i> L. (mois d'Avril) .....	01
<b>Figure 2.</b> Feuilles et fleur de <i>Capparis spinosa</i> .....	02
<b>Figure 3.</b> La distribution naturelle du câprier .....	04
<b>Figure 4.</b> structure de base des composés phénoliques: phénol ou hydroxybenzène .	10
<b>Figure 5.</b> structures chimiques de quelques polyphénols .....	11
<b>Figure 6.</b> Structure de base des flavonoïdes .....	13
<b>Figure 7.</b> structures chimiques de quelques flavonoïdes .....	15
<b>Figure 8.</b> structures chimiques d'isoflavones et de flavanols .....	15
<b>Figure 9.</b> Principaux composés naturels (ou synthétisés) possédant des propriétés antioxydantes .....	26
<b>Figure 10.</b> Enzymes antioxydants et systèmes antioxydants non enzymatiques .....	27
<b>Figure 11.</b> Les différentes parties de <i>C. spinosa</i> .....	28
<b>Figure 12.</b> bourgeons à fleur, Fleurs et fruits immatures de <i>C. spinosa</i> avant broyage. ....	28
<b>Figure 13.</b> Broyeur électrique utilisé pour broyer le matériel végétal.....	31
<b>Figure 14.</b> Evaporateur rotatif utilisé pour concentrer les extraits Ep, DCM et MeOH.....	32
<b>Figure 15.</b> Extraction de la poudre des bourgeons à fleur, fleurs et fruits de <i>C. spinosa</i> par des solvants à polarité croissante.....	33
<b>Figure 16.</b> Lyophilisateur utilisé pour sécher l'extrait aqueux.....	34
<b>Figure 17.</b> Extraction aqueux de la poudre des bourgeons à fleur, fleurs et fruits de <i>C. spinosa</i> .....	34
<b>Figure 18.</b> Appareil HPLC utilisé.....	38
<b>Figure 19.</b> Le radical diphenylpicrylhydrazyl.....	41
<b>Figure 20.</b> La forme réduite de diphenylpicrylhydrazyl.....	41
<b>Figure 21.</b> Chromatographie des extraits apolaires des bourgeons à fleurs, fleurs et fruits du <i>C. spinosa</i> . Observation sous lampe UV à 254 nm.....	48

<b>Figure 22.</b> Chromatographie des extraits apolaires des bourgeons à fleurs, fleurs et fruits du <i>C. spinosa</i> . Observation sous lampe UV à 366 nm.....	49
<b>Figure 23.</b> Chromatographie des extraits apolaires des bourgeons à fleurs, fleurs et fruits du <i>C. spinosa</i> après révélation par la vanilline sulfurique.....	49
<b>Figure 24.</b> Chromatographie des extraits polaires et apolaires des bourgeons à fleurs, fleurs et fruits du <i>C.spinosa</i> Observation sous lampe UV à 254 nm.....	50
<b>Figure 25.</b> Chromatographie des extraits polaires et apolaires des bourgeons à fleurs, fleurs et fruits du <i>C.spinosa</i> Observation sous lampe UV à 366 nm.....	51
<b>Figure 26.</b> Chromatographie des extraits polaires et apolaires des bourgeons à fleurs, fleurs et fruits du <i>C.spinosa</i> Observation sous lampe UV à 366 nm.....	51
<b>Figure 27.</b> Chromatogramme d'HPLC de l'acide gallique enregistré à 254 nm, le système solvant est acétonitrile / eau bidistillée (25 / 75).....	52
<b>Figure 28.</b> Chromatogramme d'HPLC de l'acide caféique enregistré à 254 nm, le système solvant est acétonitrile / eau bidistillée (25 / 75).....	53
<b>Figure 29.</b> Chromatogramme d'HPLC de la rutine enregistré à 254 nm, le système solvant est acétonitrile / eau bidistillée (25 / 75).....	53
<b>Figure 30.</b> Chromatogramme d'HPLC de la quercétine enregistré à 254 nm, le système solvant est acétonitrile / eau bidistillée (25 / 75).....	53
<b>Figure 31.</b> Chromatogramme d'HPLC de la catéchine enregistré à 254 nm, le système solvant est acétonitrile / eau bidistillée (25 / 75).....	54
<b>Figure 32.</b> Chromatogramme d'HPLC d'extrait Aq du <i>C.spinosa</i> enregistré à 254 nm, le système solvant est acétonitrile / eau bidistillée (25 / 75).....	54
<b>Figure 33.</b> Chromatogramme d'HPLC d'extrait MeOH du <i>C.spinosa</i> enregistré à 254 nm, le système solvant est acétonitrile / eau bidistillée (25 / 75).....	54
<b>Figure 34.</b> Chromatogramme d'HPLC d'extrait DCM du <i>C.spinosa</i> enregistré à 254 nm, le système solvant est acétonitrile / eau bidistillée (25 / 75).....	55
<b>Figure 35.</b> Chromatogramme d'HPLC d'extrait Ep du <i>C.spinosa</i> enregistré à 254 nm, le système solvant est acétonitrile / eau bidistillée (25 / 75).....	55
<b>Figure 36.</b> Droite d'étalonnage d'acide gallique (moyenne $\pm$ SD de trois mesures).....	57
<b>Figure 37.</b> Droite d'étalonnage de la rutine (moyenne $\pm$ SD de deux mesures).....	58
<b>Figure 38.</b> Corrélation linéaire entre la quantité en polyphénols totaux et la quantité des flavonoïdes des différents extraits de <i>Capparis spinosa</i> .....	59

**Figure 39.** Activité antioxydante des différents extraits de bourgeons à fleurs, fleurs et les fruits immatures du *C.spinosa.*, de la rutine et de l'acide gallique.....60

**Figure 40.** Zones d'inhibition obtenues par les différents extraits de fleurs et fruits de *C. spinosa*.....63

## Introduction

Pendant longtemps, les remèdes naturels et surtout les plantes médicinales furent le principale, voir l'unique recours du médecin, grâce à leur richesse en substances et en composés naturels bioactifs. Récemment, il y a un intérêt croissant pour les substances présentant des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes pour l'homme qui les utilise comme composants de nourriture ou en tant que substances pharmaceutiques spécifiques (Aderogba *et al.*, 2005).

Actuellement, selon les estimations de l'organisation mondiale de la santé (OMS), plus de 80 % de la population dans le monde, et surtout dans les pays pauvres et celles en cours de développement, utilisent encore la médecine traditionnelle pour répondre à leurs besoins de soins de santé (Dramane *et al.*, 2010 et Moroh *et al.*, 2008).

Dans le cadre de la valorisation des substances naturelles des plantes médicinales de la flore Algérienne et méditerranéenne, nous nous sommes intéressés à l'étude d'une espèce endémique : *Capparis spinosa* L.

*Capparis spinosa* L. est une plante de la famille des Capparidaceae, largement développée dans les pays du bassin méditerranéen (Panico *et al.*, 2005). C'est un arbrisseau procombant qui se rencontre en terrain rocheux et montagneux (UNESCO, 1960).

Les fruits du *Capparis spinosa* sont utilisés, depuis longtemps, dans les remèdes traditionnels pour leurs propriétés hypoglycémiques (Eddouks *et al.*, 2005), diurétiques, anti-hypertensives et toniques (Turhan et Baytop, 1984). *Capparis spinosa* a été utilisé également dans le traitement du rhumatisme (Fu *et al.*, 2008).

Les études phytochimiques antérieurs ont montré la présence des alcaloïdes, des lipides, des polyphénols, des flavonoïdes, de l'indole et des glucosinolates aliphatiques (Rodrigo *et al.*, 2006). Les flavonoïdes jouent un rôle remarquable dans de différentes activités pharmacologiques telles qu'antiallergique, anti-inflammatoire et antioxydante (Middleton et Kandaswami, 1992).

Le but de cette étude est d'évaluer le contenu en quelques métabolites secondaires, l'activité antioxydante ou anti-radicalaire par le test au DPPH et antimicrobienne par la méthode de diffusion en milieu gélosé des extraits bruts.

Dans la première partie, nous aborderons les différentes connaissances bibliographiques sur la plante, quelques métabolites secondaires et le stress oxydant.

Dans la partie expérimentale, nous développerons dans le premier chapitre le matériel et les méthodes analytiques utilisées pour l'extraction, le dosage qualitatif des flavonoïdes, des tanins et des alcaloïdes, l'analyse par CCM et par HPLC des flavonoïdes, le dosage quantitatif des polyphénols et des flavonoïdes, l'activité antioxydante et finalement l'activité antimicrobienne. Le deuxième chapitre sera consacré aux résultats obtenus dans notre étude et leurs discussions.

# Partie bibliographique

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

**I.1. Description botanique du *Capparis spinosa* L.**

*Capparis spinosa* est une plante vivace arbustive très répandue dans les pays du bassin méditerranéen (Kenny, 1997; Aghel *et al.*, 2007; Romeo *et al.*, 2007).

C'est un arbuste glauque, à rameaux feuillés, étalés, atteignant plus d'un mètre de long. Feuilles alternes, courtement pétiolées, persistantes, un peu charnues et de forme ovale, pourvues de stipules épineuses. Grandes fleurs - révélant une beauté exceptionnelle -malheureusement très éphémère- pédonculées, solitaires et axillaires, mesurant jusqu'à environ 6 cm de diamètre, et pourvues de quatre sépales verts, concaves. Corolle à quatre grands pétales blanc rosé de forme ovale-arrondie. Nombreuses étamines à filets longs et pourprés, comme les anthères, dépassées par le petit ovaire porté par un "pied" allongé (Beniston, 1984). Les fruits sont des baies ovoïdes ou pyriformes longuement stipités, rougeâtres, à nombreuses graines réniformes (Quezel et Santa, 1962).



**Figure 1.** *Capparis spinosa* L. (mois d'Avril, 2010).



**Figure 2.** Feuilles et fleur de *Capparis spinosa* L.

(Beniston, 1984).

### **I.2. Classification botanique du *Capparis spinosa* L.**

*C. spinosa* appelé aussi localement Kebbar (le nom vernaculaire d'après Maiza *et al.*, 1993; Eddouks *et al.*, 2005), Taylalouth (le nom en tamazighte), le câprier commun ou câprier épineux (*Capparis spinosa*) est l'espèce type du genre *Capparis* de la famille des Capparidacées (Jiang *et al.*, 2007) .

**Règne :** Végétal

**Sous règne :** Eucaryotes

**Embranchement :** Spermaphytes

**Sous embranchement :** Angiospermes

**Classe :** Dicotylédones

**Ordre :** Rhoedales (Benseghir, 1988).

**Famille :** Capparidacées

**Genre :** *Capparis*

**Espèce:** *Capparis spinosa* L. (Quezel et Santa, 1962; Benseghir, 1988).

Maintenant l'ordre des Capparidales a été séparé des Rhoedales (Diallo, 2005).

### I.3. Ecologie et répartition géographique

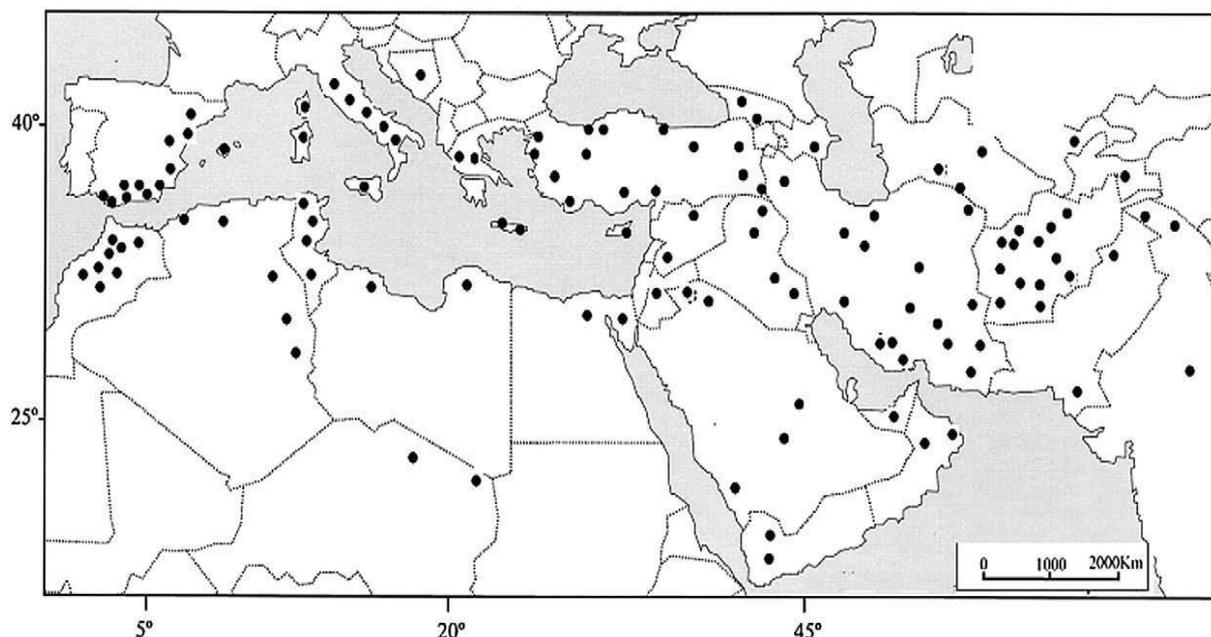
#### I.3.1. Ecologie

*C. spinosa* est une plante spontanée, xérophyte et héliophile, elle est très répandue dans le bassin méditerranéen. Elle tolère les conditions climatiques contraignantes des zones arides et semi-arides ainsi que des températures extrêmes selon Gyan *et al.*, (2009). Elle peut donc jouer un rôle écologique très utile dans ces régions pour la protection contre l'érosion (Benseghir-Boukhari et Seridi, 2007).

*C. spinosa* a la particularité de se développer sur les sols les plus ingrats et sur de fortes pentes (Kadik, 1986). Et selon Benseghir-Boukhari et Seridi, (2007), pour cette espèce, il y a une constante écologique correspondant à un décor minéral toujours ensoleillé : gorges, falaises, pentes rocailleuses, éboulis, ravins et vieux murs de pierres en zones urbaines.

#### I.3.2. Répartition géographique dans le monde

*Capparis spinosa* L, se trouve depuis les côtes Atlantiques des Iles Canaries et du Maroc jusqu'à la Mer Noire en Crimée et en Arménie et à la Mer Caspienne en Iran (Romeo *et al.*, 2007; Demir *et al.*, 2008; Özlem Sultan et Aşkin Çelik 2009). Leur origine est le bassin méditerranéen, mais probablement, elle est provenue des zones arides d'Asie occidentale (Aghel *et al.*, 2007; Demir *et al.*, 2008; Yang *et al.*, 2010).



**Figure 3.** Distribution naturelle du câprier dans le monde (Inocenio *et al.*, 2006).

### I.3.3. Répartition géographique en Algérie

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

### I.4. Composition biochimique du *Capparis spinosa*

*C. spinosa* contient des saccharides et des glucosides, des flavonoïdes, des alcaloïdes, des terpénoïdes et des huiles essentielles, des acides gras et des stéroïdes ainsi que des glucosinolates (Matthous et Ozcan, 2005; Panico *et al.*, 2005; Liu *et al.*, 2008).

Il contient aussi de la vitamine C (Tesoriere *et al.*, 2007), des caroténoïdes, des tocophérols (Tlili *et al.*, 2009) et des protéines (Demir *et al.*, 2008), et également des éléments minéraux, essentiellement le K, Mg, Ca, Na, Zn, Cu, Fe, P (Rodrigo *et al.*, 2006; Giuffrida *et al.*, 2002).

## I.4.1. Teneur en métabolites primaires, eau et cendre

**Tableau 1.** Teneur des câpres en métabolites primaires, en eau et en cendre (Giuffrida *et al.*, 2002).

Le composant	Le pourcentage
<b>Eau</b>	De 80,41 ± 0,78 à 84,08 ± 0,81
<b>Cendre</b>	De 01,21 ± 0,09 à 01,50 ± 0,01
<b>Protéines</b>	De 04,60 ± 0,02 à 08,98 ± 0,06
<b>Lipides</b>	De 01,25 ± 0,06 à 02,01 ± 0,02
<b>Glucides</b>	De 07,10 ± 0,05 à 08,86 ± 0,06

## I.4.2. Teneur en métabolites secondaires

**Tableau 2.** Composition de différents organes du *Capparis spinosa* en métabolites secondaires

Organe végétal	Composition biochimique	référence
<b>Fleurs et fruits</b>	Polyphénols: Acides phénoliques Flavonoïdes (rutine, des dérivés de kaempférol et de quercétine) flavanols Alcaloïdes Tocophérols, Stérols et glucosinolates	Yu <i>et al.</i> , 2006. Giuffrida <i>et al.</i> , 2002. Panico <i>et al.</i> , 2005. Sultan et Celik, 2009 Matthous et Ozcan, 2005
<b>Feuilles et tige</b>	Alcaloïdes Flavonoïdes Terpénoïdes, Tocophérols et Caroténoïdes	Liu <i>et al.</i> , 2008 Sharaf <i>et al.</i> , 2000 Tlili <i>et al.</i> , 2009
<b>Ecorces des racines</b>	Alcaloïdes Flavonoïdes	Fu <i>et al.</i> , 2008. Ramezani <i>et al.</i> , 2008.

### **I.5. Utilisation du *Capparis spinosa***

Le câprier est l'une des rares espèces arbustives qui présente autant de qualités avec de nombreux usages. Il fournit un condiment recherché, la câpre, qui correspond au bouton floral de la plante (Douieb et Benlemlih, 2010; Yu *et al.*, 2006). Il est utilisé également comme fourrage, plante mellifère et ornementale. Surtout, il possède des qualités médicinales importantes utilisées dans la médecine traditionnelle. (Benseghir-Boukhari et Seridi, 2007).

### **I.6. Activités biologiques et thérapeutiques**

Les différentes parties du *C. spinosa* ont été largement utilisées en médecine traditionnelle et elles sont jusqu'à maintenant (Sessiz *et al.*, 2007; Aytac *et al.*, 2009; Sher and Alyemeni, 2010)

Les câpres sont utilisées pour réduire la flatulence, dans le traitement du rhumatisme (Aniyathi *et al.*, 2009), de l'anémie, de la goutte et encore pour améliorer le fonctionnement du foie, comme diurétique et désinfectant du rein (Ozcan *et al.*, 2005; Demir *et al.*, 2008).

L'écorce de racines est analgésique, anthelminthique, anti-hémorroïdal, laxatif, dépuratif, diurétique, emménagogue, expectorant, hépatoprotectif, tonique et vasocontractif (Chopra *et al.*, 1986; Huseini *et al.*, 2005; Sher and Alyemeni, 2010). Extérieurement l'écorce de racines est utilisée pour le traitement des plaques rouges et de la faiblesse capillaire (Chevallier *et al.*, 1996).

De ses effets analgésique, antiphlogistique et coagulant, la tige est employée pour traiter l'arthrite (Yu *et al.*, 2006).

#### **I.6.1. Activité antioxydante du *Capparis spinosa***

L'extrait méthanolique du *C. spinosa* montre une forte activité antioxydante, piégeage des radicaux libres, dans les différents essais *in vitro*. *In vivo*, l'application topique de cet extrait montre une protection significative contre les rayons ultraviolets induisant l'érythème de la peau, chez les sujets volontaires (Bonina *et al.*, 2002).

Cette activité peut être attribué à la présence des polyphénols surtout les acides phénoliques et les flavonoïdes (Bonina *et al.*, 2002 et Germano *et al.*, 2002), et aussi aux caroténoïdes et aux tocophérols (Tilili *et al.*, 2009).

### **I.6.2. Activité anti-inflammatoire du *Capparis spinosa***

L'extrait aqueux du *C. spinosa* montre une activité anti-inflammatoire (Yu *et al.*, 2006 et Al-Said *et al.*, 1988).

L'extrait méthanolique lyophilisé du *C. spinosa* (LECS) possède un effet chondroprotectif. L'addition de LECS à la culture des chondrocytes humaines stimulées par une cytokine pro-inflammatoire, l'interleukine-1beta, oppose l'activité des molécules clés libérées durant le processus inflammatoire chronique (oxyde nitrique, glycosaminoglycanes, prostaglandines et espèces réactives oxygénées) (Panico *et al.*, 2005).

### **I.6.3. Activité antivirale du *Capparis spinosa***

L'extrait méthanolique des câpres riche en flavonoïdes, inhibe la réplication de HSV-2, *Herpes simplex* virus type 2, et augmente l'expression des cytokines pro-inflammatoires comprenant interleukine-12, interféron- $\gamma$  et le facteur  $\gamma$  nécrosant des tumeurs ou "tumor necrosis factor- $\gamma$ " (Arena *et al.*, 2008).

### **I.6.4. Activité hépatoprotective du *Capparis spinosa***

L'extrait hydro-alcoolique d'écorce de racines du *Capparis spinosa* montre des effets hépatoprotectives contre CCl<sub>4</sub> qui induit des dommages au niveau du foie chez les rats (Aghel *et al.*, 2007).

La fraction méthanolique de l'extrait aqueux de *C. spinosa* contient de l'acide p.méthoxybenzoïque qui possède des propriétés anti-hépatotoxiques (Gadgoli et Mishra, 1999; Lam et Ng, 2009)

### **I.6.5. Autres activités**

L'extrait aqueux de *C. spinosa* possède des activités anti-hyperglycémiques (Bnouham *et al.*, 2002; Eddouks *et al.*, 2004) et hypolipidémiques (Eddouks *et al.*, 2005).

*C. spinosa* a d'autres effets tels qu'antiallergique, antihistaminique (Trombetta *et al.*, 2005; Caruso *et al.*, 2008), antifongique (Ali-Shtayeh et Abu Ghdeib, 1999), anti-Leishmania (Jacobson et Schlein, 1999) et antimicrobien (Mahasneh, 2002).

### I.7. Quelques utilisations traditionnelles du *Capparis spinosa*

**Tableau 3.** 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
Tough et diabète	fruits	Décoction,	Kusmenoglu <i>et al.</i> , 1997
Hypertension et complications diabétiques	fruits secs	oralement avec un verre de l'eau	Sher et Alyemini, 2010
La grippe et infections relatives.	Bourgeons à fleurs	infusion,	Sher et Alyemini, 2010
infections d'œil	Les bourgeons non-ouverts des câpres Ecorce de racine	extérieurement	Sher et Alyemini, 2010 Aniyathi <i>et al.</i> , 2009
hydropisie, anémie, et rhumatisme	écorce de racine	Décoction,	Brown, 1995; Chopra <i>et al.</i> , 1986; Aghel <i>et al.</i> , 2007; Aniyathi <i>et al.</i> , 2009
rhumatisme et complication intestinogastrique	Bourgeons à fleurs racine	infusion,	Sher et Alyemini, 2010
diurèse et pour stimuler l'appétit.	l'écorce de tige	Décoction avant les repas	Sher et Alyemini, 2010
hépatoprotectif.	écorce de racine	extrait une fois quotidiennement pendant 4	Sher et Alyemini, 2010
faiblesse capillaire et les maladies de la peau	les bourgeons écorce de racine	extérieurement	Aghel <i>et al.</i> , 2007 Sher et Alyemini, 2010

**I.8. Toxicité du *Capparis spinosa***

Il n'y a aucun rapporte disponible dans la littérature scientifique sur des manifestations de toxicité après un traitement aigu, subaigu, ou chronique par *Capparis spinosa* (Sher and Alyemeni, 2010). Cependant, une dermatite allergique a été rapportée par Angelini *et al.*, 1991).

## **Chapitre II**

### **Données sur les métabolites secondaires**

Tous les êtres vivants ont un métabolisme primaire qui fournit les molécules de base (acides nucléiques, lipides, protéines, acides aminés et glucides) (Richter, 1993).

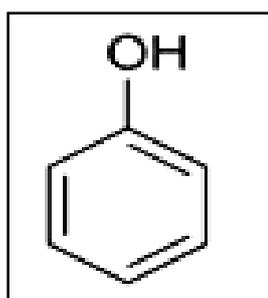
Les végétaux synthétisent une profusion de substances chimiques, qui sont souvent spécifiques d'un groupe taxonomique particulier et qui ne paraissent jouer aucun rôle dans le métabolisme primaire, ce sont les métabolites secondaires. Ces métabolites sont, soit des produits terminaux ou des déchets du métabolisme, soit des substances de réserve manifestant une mobilisation réorientée (Richter, 1993).

Il y a trois types de métabolites secondaires chez les plantes : les alcaloïdes, les terpénoïdes et les substances phénoliques (Raven *et al.*, 2000).

## II.1. Les composés phénoliques

### II.1.1. Définition

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines et la maturation des fruits (Boizot et Charpentier, 2006).

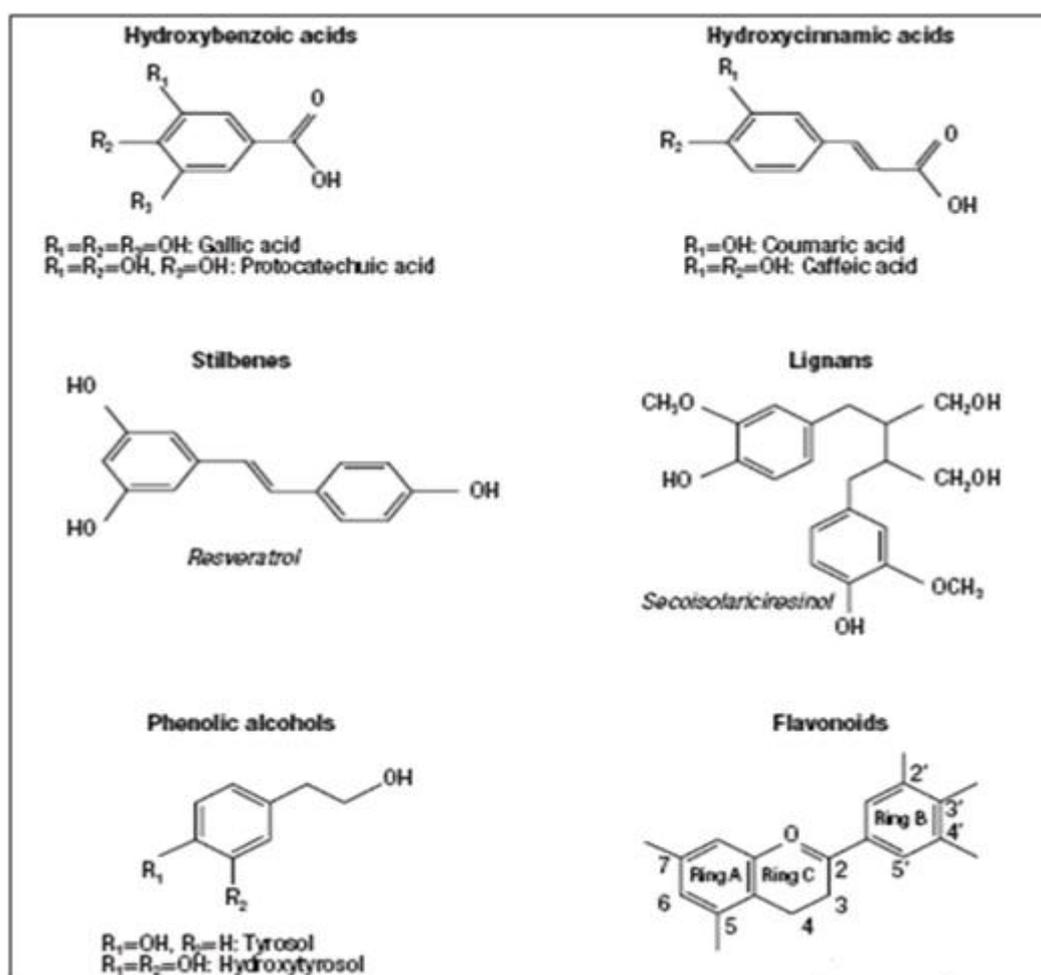


**Figure 4.** Structure de base des composés phénoliques : phénol ou hydroxybenzène (Dacosta, 2003).

## II.1.2. Classification

Les polyphénols forment une immense famille de plus de 8000 composés naturels spécifiques du monde végétal (Svobodova *et al.*, 2003). Ils sont répartis en plusieurs classes : Les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les stilbènes, les phytostérols et les phytostanols, les lignanes et les coumestans, autres phytoestrogènes et les saponines (triterpénoïdes)

Bien qu'ils ne soient pas des polyphénols, on ajoute ordinairement à cette liste de phytonutriments bioactifs les isothiocyanates, qui dérivent de l'hydrolyse des glucosinolates (Dacosta, 2003).



**Figure 5.** Structures chimiques de quelques polyphénols (D'Archivio *et al.*, 2007).

### II.1.3. Biosynthèse des composés phénoliques

Les composés phénoliques des végétaux sont issus de deux grandes voies d'aromagenèse: La voie de shikimate et La voie de l'acétate (Bruneton, 1999).

➤ **La voie d'acide shikimique**, la plus courante, conduit des oses aux acides aminés aromatiques (phénylalanine et tyrosine) puis par désamination de ces derniers aux acides cinnamiques et à leur très nombreux dérivés: acides benzoïques, acétophénones, lignanes et lignines, coumarines, etc. (Bruneton, 1999);

➤ **La voie de l'acétate**, conduit à des poly- $\beta$ - cétoesters de longueur variable – les polyacétates - qui engendrent, par cyclisation, des composés souvent polycycliques: chromons, isocoumarines, orcinols, depsides, depsidones, xanthonés, quinones, etc. (Bruneton, 1999);

La pluralité structurale des composés phénoliques due à cette double origine biosynthétique est encore accrue par la possibilité, très fréquente, d'une participation simultanée du shikimate et de l'acétate à l'élaboration des composés d'origine mixte (flavonoïdes, stilbènes, pyrones, xantons, etc.) (Bruneton, 1999).

La participation d'un troisième syntone élémentaire- le mévalonate – est également possible bien que moins fréquente: dérivés mixte du shikimate et du mévalonate comme certaines quinones ou comme les furano- et pyrano-coumarines, composés mixtes acétate mévalonate comme les cannabinoïdes. Dans quelques cas les trois précurseurs concourent à l'élaboration de la même structure: c'est entre autres celui des rétinoïdes (Bruneton, 1999).

### II.1.4. Activités biologiques

Plusieurs expérimentations (essentiellement *in vitro*) montrent que les polyphénols limitent les oxydations (Blache, 2001). Comme antioxydants, les polyphénols peuvent protéger les constituants cellulaires contre l'oxydation et, en conséquence, limiter le risque des diverses maladies dégénératives associées au stress oxydant. (D'Archivio *et al.*, 2007 et Gülçin *et al.*, 2010).

Les études expérimentales, en fait, montrent le rôle des polyphénols dans la prévention des maladies cardiovasculaires, du cancer, de l'ostéoporose, de la myélite de diabète et de la maladie neurodégénérative (Scalbert *et al.*, 2005).

La consommation des polyphénols limite le développement des lésions athéromateuses, en empêchant l'oxydation de la lipoprotéine de faible densité, qui est le mécanisme principal dans les lésions endothéliales se produisant dans l'athérosclérose (Marrugat *et al.*, 2004 et Covas *et al.*, 2006).

Les polyphénols seraient impliqués dans la prévention des cancers, Ils sont actifs contre de nombreux cancers (colon, estomac, foie, sein, prostate, poumon, peau, vessie, etc.) à tous les stades de la cancérogenèse (Scalbert, 2003).

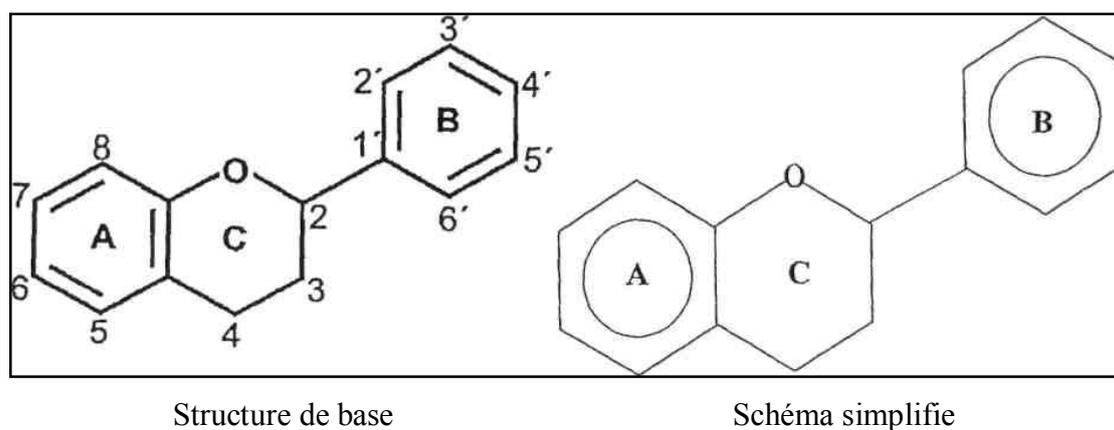
Les polyphénols possèdent d'autres activités biologiques: antivirale, antibactérienne, immunostimulante, antiallergique, antihypertensive,... (Svobodova *et al.*, 2003).

## II.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des produits largement distribués dans le règne végétal et sont couramment consommés quotidiennement sous forme de fruits, légumes et boissons telles que le thé (Ghedir, 2005).

### II.2.1. Structure chimique

Les flavonoïdes sont des dérivés benzo- $\pi$ -pyran (Ghedir, 2005). Leur structure de base est celle d'un diphenylpropane : le C6-C3-C6 (Lopez-Lazaro, 2009). Deux noyaux aromatiques A et B reliés par une chaîne de trois atomes de carbone qui forme le plus souvent un hétérocycle C (D'Archivio *et al.*, 2007).



**Figure 6.** Structure de base des flavonoïdes (Dacosta, 2003).

### **II.1.2.2. Localisation et distribution**

Occupant une place prépondérante dans le groupe des phénols, les flavonoïdes sont des métabolites secondaires ubiquistes des plantes (Kinoshita *et al.*, 2005).

Ce sont plus de 4000 micronutriments principaux des agrumes, on les trouve dans un grand nombre de fruits et de légumes, d'oléagineux, d'herbes et épices, de fleurs et de boissons, comme le thé et le vin rouge (Gibault, 2001).

### **II.1.2.3. Classification**

Les flavonoïdes constituent une famille relativement diverse des molécules aromatiques réparties en six sous-groupes principaux qui sont : les chalcones, les flavones, les flavonols, les flavandiols, les anthocyanines et les tannins condensés (ou proanthocyanidins);

Un septième groupe, les aurones, est répandu, mais n'est pas ubiquitaire. Certaines plantes synthétisent également des formes spécialisées de flavonoïdes, comme les isoflavonoids et 3-deoxyanthocyanins (ou phlobaphenes sous la forme polymérisée) (Winkel-Shirley, 2001).

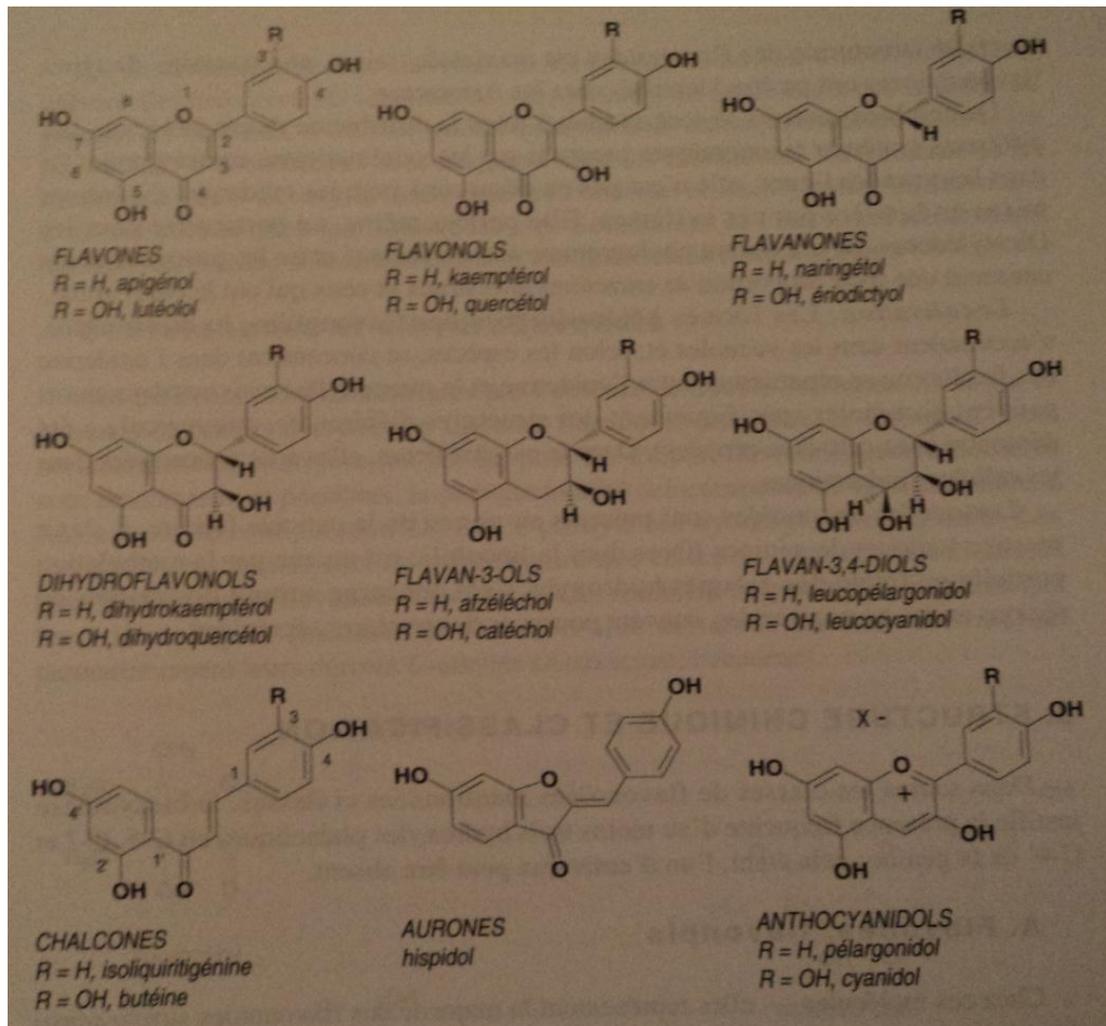


Figure 7. Structures chimiques de quelques flavonoïdes (Bruneton, 1999).

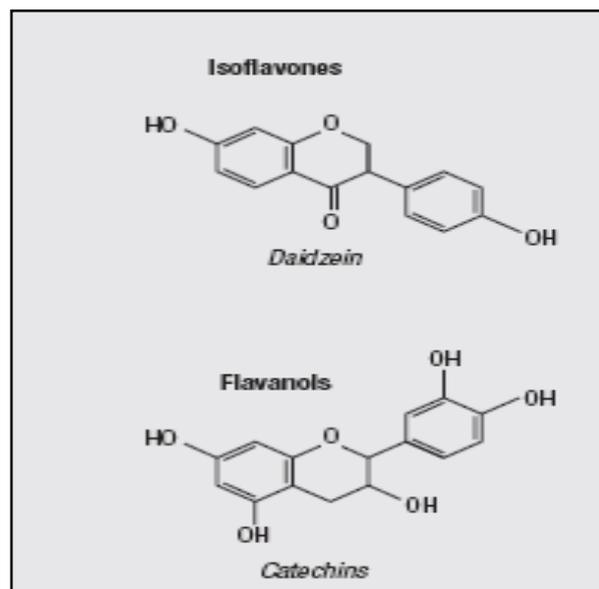


Figure 8. Structures chimiques d'isoflavones et de flavanols (D'Archivio *et al*, 2007).

## II.2.4. Activités biologiques

### II.2.4.1. Effet anticancéreux des flavonoïdes

Plus de 4000 flavonoïdes distincts identifiés en fruits, légumes et d'autres aliments végétaux sont actives contre le cancer et d'autres maladies chroniques principales. Ces substances Chimopréventives montrent leurs effets supprimant ou renversant le processus de la carcinogenèse à de divers points (Patel *et al.*, 2010):

- Elles modulent la P-glycoprotéine (P-gp), protéine de MDR (multidrug-résistance) joue un rôle important dans la résistance de drogue, qui est un problème majeur dans le traitement de cancer (Walle *et al.*, 2001).
- Elles empêchent également beaucoup d'enzymes qui sont les cibles dans le traitement anticancéreux, par exemple le topoisomérase I d'ADN des eucaryotes. L'interaction entre les flavonoïdes et les enzymes P450 réduit l'activation des substrats des procarcinogènes aux carcinogènes qui leur fait des substances anticancéreuses putatives (Mukhtar *et al.*, 1988).
- Certains membres des flavonoïdes possèdent des effets antiprolifératives sur différentes lignes cellulaires cancéreuses (Kuntz *et al.*, 1999). Le kaempferol (Knowles *et al.*, 2000), le genistein (Polkowski et Mazurek, 2000) et les polyphénols de thé ont une capacité antiproliférative forte (Valcic *et al.*, 1996). Certaines flavonoïdes ont des effets synergiques, par exemple la quercétine peut augmenter l'efficacité de certains agents chimiothérapeutiques tels que le doxorubicine, l'adriamycine, le diamminedichloroplatinum (II) et le cisplatine (Scambia *et al.*, 1992, Scambia *et al.*, 1994 et Patel *et al.*, 2010). La quercétine et le genistein toutes les deux ont augmenté la concentration du daunorubicine dans quelques lignes multidrug-résistantes de cellules (Versantvoort *et al.*, 1993).

### II.2.4.2. Activité antioxydante des flavonoïdes

Les propriétés antioxydantes des flavonoïdes sont largement reconnues (Pietta, 2000; Rice-Evans, 1996). De nombreuses études précliniques montrent que les flavonoïdes alimentaires, particulièrement les flavanols, peuvent inhiber l'expression de protéines intervenant dans le stress oxydant

Certains flavonoïdes peuvent, par des mécanismes incomplètement élucidés, diminuer l'expression de gènes codant pour des mécanismes oxydants ou

inflammatoires, et au contraire augmenter l'expression de gènes de défense contre le stress oxydant et les réactions inflammatoires (Stoclet, 2010).

#### II.2.4.3. Les flavonoïdes comme inhibiteur enzymatique

En règle générale, les flavonoïdes sont, *in vitro*, des inhibiteurs enzymatiques, ils inhibent l'histidine-décarboxylase, l'élastase, la hyaluronidase ce qui permettrait de conserver l'intégrité de la substance fondamentale de la gaine vasculaire et d'une manière non spécifique la catéchol-*O*-méthyltransférase ce qui augmenterait la quantité de catécholamines disponible et donc provoquerait une élévation de la résistance vasculaire (Bruneto, 1999).

Ils inhibent aussi la phosphodiesterase de l'AMPc ce qui pourrait expliquer leur activité anti-agrégante plaquettaire, l'aldolase réductase, la protéine-kinase, 5-lipoxygénase et la cyclo-oxygénase. Ces propriétés démontrées *in vitro* pourraient expliquer en partie les activités anti-inflammatoires et antiallergiques (Bruneto, 1999).

#### II.2.4.4. Effet protecteur contre l'ostéoporose

Certains polyphénols et plus particulièrement les isoflavones du soja très étudiées aujourd'hui, ont une affinité remarquable pour les récepteurs des œstrogènes et sont qualifiés pour cela de phyto-œstrogènes. Les fruits et légumes contiennent aussi des polyphénols tels la quercétine de l'oignon ou le kaempferol de la chicorée qui possèdent également des propriétés pseudo-oestrogéniques où inhibent la perte osseuse chez la rate ovariectomisée. Là encore, de nouvelles études restent nécessaires pour confirmer ces effets chez l'homme (Scalbert, 2003).

#### II.2.4.5. Effets vasculaires des flavonoïdes

Les polyphénols et particulièrement les flavonoïdes ont un effet bénéfique sur le système cardiovasculaire. En effet, de nombreuses études expérimentales indiquent que diverses sources de polyphénols sont capables d'induire de nombreux effets vasoprotecteurs et en particulier réduire l'oxydation des lipoprotéines de faible densité, l'adhésion et l'agrégation plaquettaire, la migration et la prolifération des cellules musculaires lisses vasculaires, ainsi que la réponse inflammatoire (Schinikerth, 2010).

#### II.2.4.6. Autres activités des flavonoïdes

Les flavonoïdes possèdent d'autres activités (*in vitro*): activités anti-thrombotiques, antibactérienne et antiviral. Ils ont également le pouvoir d'inhiber les contractions intestinales et la diarrhée qui en résulte (Dacosta, 2003). Aussi ils ont des activités hépatoprotectrices, antispasmodiques, hypocholestérolémiantes, diurétiques, antimutagène, etc. (Bruneto, 1999).

#### II.2.5. Rôles des flavonoïdes chez les plantes

Les flavonoïdes sont des métabolites polyphénoliques végétaux qui interviennent dans les processus de pigmentation des fleurs, la protection de plantes contre les radiations UV et aussi dans leurs mécanismes de défense contre les herbivores et les attaques microbiennes (Radu, 2006).

### II.3. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances azotées basiques, d'origine naturelle et de distribution restreinte. Ils ont une structure complexe, leur atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique, et ils possèdent une activité pharmacologique significative (Bruneton, 1999).

#### II.3.1. Structure chimique et biosynthèse

Dans ces composés, le groupe contenant l'azote a été en général transformé en un hétérocycle, à travers de diverses voies réactionnelles, à partir de la molécule aliphatique d'un acide aminé, et il leur confère un caractère basique. A part la chaîne carbonée d'un acide aminé aliphatique, d'autres éléments peuvent entrer dans la structure moléculaire des alcaloïdes, en particulier des groupes méthyle et acétyle, des unités en C<sub>5</sub> et C<sub>10</sub> (isoprène, monoterpène), des dérivés de l'acide cinnamique (unité C<sub>6</sub>C<sub>3</sub>) et des composés phénoliques (C<sub>6</sub>C<sub>1</sub>). Il y a souvent deux ou plusieurs atomes d'azote dans la molécule (Richter, 1993).

Chaque espèce semble plutôt adapter le système de biosynthèse en fonction d'exigences particulières. Ainsi une régulation importante (qui peut s'exercer en particulier au niveau de l'expression enzymatique) est dépendante du stade de différenciation (Richter, 1993).

### **II.3.2. Origine**

Le nombre total d'alcaloïdes isolés jusqu'à présent est énorme, Il est estimé à plus de 10 000 composés (Bélanger, 2009).

Les alcaloïdes sont retrouvés dans plusieurs organismes vivants. Bien que la majorité provient des plantes (Bélanger, 2009).

On peut retrouver les alcaloïdes aussi dans les champignons, les mousses, les bactéries et les animaux supérieurs (Bélanger, 2009).

### **II.3.3. Classification**

Les alcaloïdes sont probablement les composés aux structures les plus variées, comparativement à d'autres classes comme les stéroïdes, les saccharides, etc. qui ont des squelettes de bases bien définis (Bélanger, 2009).

Les critères de classification généralement utilisés pour les alcaloïdes sont suivant leur biogénèse, leur structure, leur origine biologique (ex. espèce de plante) et leurs propriétés spectroscopiques et/ou spectrométriques (chromophores en spectroscopie UV, systèmes cycliques en spectrométrie de masse). Il n'y a pas de classification taxonomique générale et systématique (Bélanger, 2009).

### **II.3.4. Activités biologiques**

De nombreux alcaloïdes se distinguent par une action physiologique caractéristique sur l'homme et sur les animaux, en particulier au niveau du système nerveux, et ceci a conduit à leur utilisation thérapeutique dans l'Antiquité déjà (Richter, 1993).

## **Chapitre III**

# **Les espèces réactives oxygénées et le stress oxydant**

A l'exception de certains organismes anaérobies et aérotolérants, l'oxygène est nécessaire à tous les animaux, plantes et bactéries pour produire de l'énergie par l'intermédiaire de chaînes de transport d'électrons telles que celle existant dans les mitochondries des cellules eucaryotes (Gardès-Albert *et al.*, 2003).

Près de 2% de l'oxygène utilisé par la chaîne respiratoire mitochondriale génère des espèces réactives de l'oxygène: ERO (Droge, 2002; Kohen et Nyska, 2002; Jones *et al.*, 2003; Favier, 2006; Bonnefont-Rousselot, 2007).

Au cours de l'évolution, l'adaptation des espèces vivantes à l'oxygène s'est traduite par l'apparition d'enzymes facilitant non seulement sa consommation, mais également la détoxification de ses métabolites réduits que sont les espèces réactives de l'oxygène (ERO) ou "reactive oxygen species" (ROS), car elles sont beaucoup plus toxiques que ne l'est l'oxygène lui-même (Gardès-Albert *et al.*, 2003).

### III.1. Définition d'un radical libre oxygéné

On appelle radicaux libres oxygénés des molécules, neutres ou chargées, qui possèdent un électron célibataire, parfois plusieurs. Cela leur confère une grande réactivité chimique. On les représente par le symbole R $\cdot$ . Les principaux radicaux libres qu'on rencontre dans le corps humain sont:

- l'anion superoxyde O<sub>2</sub> $\cdot^-$
- le radical hydroxyle  $\cdot$ OH
- le radical hydroperoxyde HOO $\cdot$
- le radical alcoxyde R-O $\cdot$
- l'oxyde nitrique NO $\cdot$
- le radical hydrogène H $\cdot$

Il y a aussi des composés réactifs qui ne sont pas des radicaux libres: l'oxygène singulet <sup>1</sup>O<sub>2</sub>, le peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (eau oxygénée), l'anion peroxyde ONOO $\cdot$  (Dacosta, 2003).

La demi-vie des ERO est très courte et leur production peut être compartimentée (Barouki, 2006; Halliwell et Whiteman, 2004).

### III.2. Voie métabolique de l'oxygène et des espèces réactives de l'oxygène

L'oxygène est un radical libre peu réactif, présent le plus souvent sous forme de dioxygène. Il est en réalité bi-radicalaire, possède deux électrons célibataires sur des

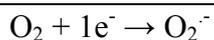
orbitales différentes. Le dioxygène est susceptible de récupérer quatre électrons (Barouki, 2006).

La majeure partie de l'oxygène que nous respirons subit une réduction tétravalente (addition de 4 électrons, réaction (1)) conduisant à la production d'eau. Cette réaction est catalysée par la cytochrome oxydase, accepteur terminal d'électrons présent dans la chaîne de transport des électrons située dans la membrane interne mitochondriale (Gardès-Albert *et al.*, 2003).



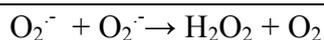
Réaction (1)

L'oxygène peut subir des étapes successives de réduction conduisant à la formation d'ERO. En présence de métaux, de molécules organiques ou d'enzymes (oxydases ou complexes de la chaîne respiratoire), il est capable de capter un électron pour donner le radical superoxyde  $\text{O}_2^-$  (Réaction (2)). Ce radical présente une certaine toxicité (Lopez-Lazaro, 2009 et Gardès-Albert *et al.*, 2003).



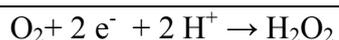
Réaction (2)

Le radical superoxyde est le substrat d'enzymes essentielles, les superoxydes dismutases (SOD) qui le transforment en eau oxygénée  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Réaction (3)) (Jones *et al.*, 2003).



Réaction (3)

$\text{H}_2\text{O}_2$  ainsi formée n'est pas elle-même un radical libre mais une molécule (ayant tous ses électrons périphériques appariés). Sa production peut également résulter de la réduction biélectronique de l'oxygène (réaction (4)) en présence d'oxydases (Gardès-Albert *et al.*, 2003).

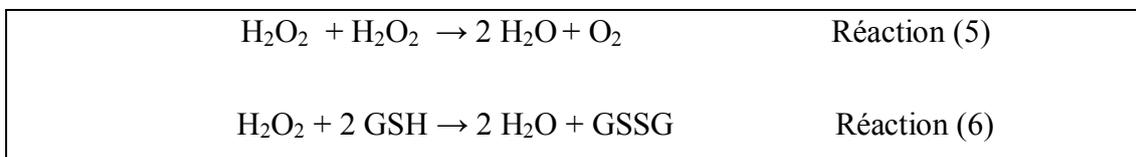


Réaction (4)

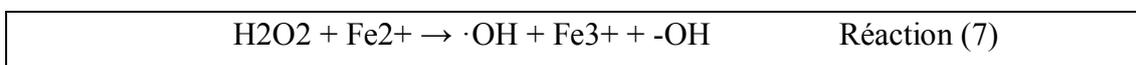
L'eau oxygénée est un intermédiaire réduit de l'oxygène qui est relativement toxique (Gardès-Albert *et al.*, 2003).

L'eau oxygénée peut avoir plusieurs destinées. En présence de la catalase il subit une réaction de dismutation en oxygène et en eau (réaction (5)), tandis que la

présence de la glutathion peroxydase accélère la réaction d'oxydation du glutathion (thiol peptidique, symbolisé ici par GSH) par l'eau oxygénée (réaction (6)). (Gardès-Albert *et al.*, 2003 et Jones *et al.*, 2003).



Et en présence de métaux, en particulier le fer  $\text{Fe}^{2+}$ , elle est transformée en radical hydroxyl  $\cdot\text{OH}$  par la réaction de Fenton (Réaction (7)). Ce dernier est extrêmement réactif et va oxyder très rapidement les molécules voisines formant parfois d'autres radicaux libres (Gardès-Albert *et al.*, 2003 et Halliwell, 2009).



Sous l'influence de rayonnements UV, l'oxygène peut être transformé en oxygène singulet. Le métabolisme de l'oxygène croise celui de l'azote puisque  $\text{O}_2^{\cdot-}$  interagit avec un autre radical, le monoxyde d'azote  $\text{NO}^{\cdot}$  et conduit au composé toxique, le peroxy-nitrite  $\text{ONOO}^{\cdot-}$  (Morel et Barouki, 1999, Gardès-Albert et Jore, 2005 et Halliwell, 2009).  $\text{NO}$  et  $\text{ONOO}^{\cdot-}$  sont des composés extrêmement réactifs et toxiques. Ils interagissent avec des protéines et peuvent altérer leurs propriétés (Barouki, 2006).

### III.3. Autres espèces réactives

Il existe, dans la cellule, d'autres oxydants très puissants, qu'ils soient des radicaux libres ou non (Beaudeau et Vasson, 2005). Par exemple, des oxydants chlorés ( $\text{HOCl}$ ) sont libérés par les macrophages et ont une activité bactéricide importante. D'autres molécules, comme les hydroquinones se retrouvent sous forme de radicaux libres après leur réaction avec le radical  $\cdot\text{OH}$ , et, de par leur structure, stabilisent leur électron célibataire (radical semi-quinonique). Elles sont ainsi susceptibles de diffuser dans la cellule et d'oxyder d'autres molécules à distance, propageant ainsi une chaîne de réactions radicalaires (Barouki, 2006).

### III.4. Sources des ERO

Les ERO peuvent provenir de différents compartiments cellulaires : la mitochondrie (Gülçin *et al.*, 2010), même en cas d'hypoxie (chaîne respiratoire), le réticulum endoplasmique (mono-oxygénases), la membrane plasmique (oxydases), les peroxysomes et le cytoplasme. Ils peuvent être produits directement par des rayonnements, des molécules endogènes ou des xénobiotiques (Barouki, 2006).

Les radicaux libres nocifs sont produits dans l'organisme au cours du métabolisme normal. L'exposition à des agressions de l'environnement, comme les agents infectieux, la pollution, les UV, la fumée de cigarette et le rayonnement, s'est avérée augmenter la formation des radicaux libres (Pelli *et Lyly*, 2000 ; Gülçin *et al.*, 2010).

L'exposition prolongée au soleil et à différentes radiations, l'absorption d'alcool ou de médicaments, sont autant de situations qui provoquent dans notre organisme des réactions chimiques de type radicalaires (Pincemail *et al.*, 1999).

En effet, toute réaction impliquant de l'O<sub>2</sub> et un système réducteur de transfert d'électrons est susceptible de libérer des ERO (Barouki et Morel, 2001).

### III.5. Effets des ERO

#### III.5.1. Physiologie

Il serait erroné de ne voir les ERO que sous l'angle de leur toxicité. Les ERO, et plus généralement les réactions d'oxydo-réduction, jouent un rôle physiologique considérable, en particulier dans les cascades de signalisation (Finkel, 2003).

Le NO<sup>•</sup> en est un exemple classique, puisqu'en activant la guanylate cyclase cytosolique, il exerce des fonctions physiologiques dans le système vasculaire, immunitaire, neuronal et métabolique. Il en est de même de l'anion superoxyde et de l'eau oxygénée qui activent plusieurs voies de signalisation. Ces composés jouent un rôle crucial au cours de l'inflammation et de l'équilibre entre la croissance, l'apoptose et la sénescence cellulaires. La production des ERO est stimulée par des hormones, des facteurs de croissance et des cytokines (Morel et Barouki, 1998).

### III.5.2. Pathologie

Toutes les macromolécules cellulaires sont des cibles potentielles des ERO (Beckman et Ames, 1999 ; Koechlin-Ramonatxo, 2006).

Ainsi, les bases nucléiques sont susceptibles d'être oxydées, conduisant notamment à la formation de 8-oxo-guanine, à l'origine de mutations géniques. C'est sans doute ce qui explique la génotoxicité des radicaux libres (Morel et Barouki, 1998). Notons que l'ADN mitochondrial, du fait de sa proximité avec la chaîne respiratoire, site éminent de production des ERO, et du fait de l'absence de chromatine organisée, est particulièrement exposé à l'oxydation (Beckman et Ames, 1999; Pincemail *et al.*, 2001).

Les protéines sont aussi des cibles des ERO, en particulier certains acides aminés comme la cystéine, la méthionine et la tyrosine. Cette oxydation joue un rôle dans la maturation et dans la signalisation mais peut aussi conduire à une toxicité cellulaire. Une oxydation plus franche des protéines peut conduire à leur carbonylation et à leur dénaturation. Les ERO réagissent aussi avec les acides gras insaturés (Pincemail *et al.*, 2001; Barouki, 2006).

De part leur réactivité et leurs cibles, les ERO ont été incriminés dans la pathogénie d'un grand nombre de pathologies comme le cancer, les maladies cardiovasculaires, les maladies dégénératives et le diabète. Notons que ces pathologies sont intimement associées au vieillissement (Barouki, 2006; Dramane *et al.*, 2010)

## III.6. Le stress oxydant

### III.6.1. Définition

Le stress oxydatif correspond à une perturbation du statut oxydatif intracellulaire, un déséquilibre entre la production d'oxydants et les mécanismes de défense antioxydant (Cuvelier *et al.*, 2003; Delbosc *et al.*, 2003), induite soit par production excessive de radicaux libres, soit par diminution de la capacité de défense antioxydante (Morel et Barouki, 1999; Tibiri *et al.*, 2010).

Les effets des radicaux libres sont proportionnels à l'intensité et à la durée de leur production :

➤ une production transitoire et modérée de radicaux libres correspond à un mécanisme de défense de la cellule lui permettant, par exemple, de détruire des cellules cancéreuses ou des microorganismes pathogènes (Morel et Barouki, 1999);

➤ lorsque cette production est récurrente ou chronique mais reste modérée dans son intensité, la balance entre production de radicaux libres et systèmes de détoxification de la cellule est perturbée de manière continue, et on parle alors de stress oxydatif (Morel et Barouki, 1999);

➤ si la production de radicaux libres est suffisamment importante pour altérer de manière irréversible des processus cellulaires vitaux, elle déclenche l'apoptose et la mort cellulaire. Lorsque les radicaux libres sont générés en quantités massives, ils entraînent la nécrose cellulaire (Morel et Barouki, 1999).

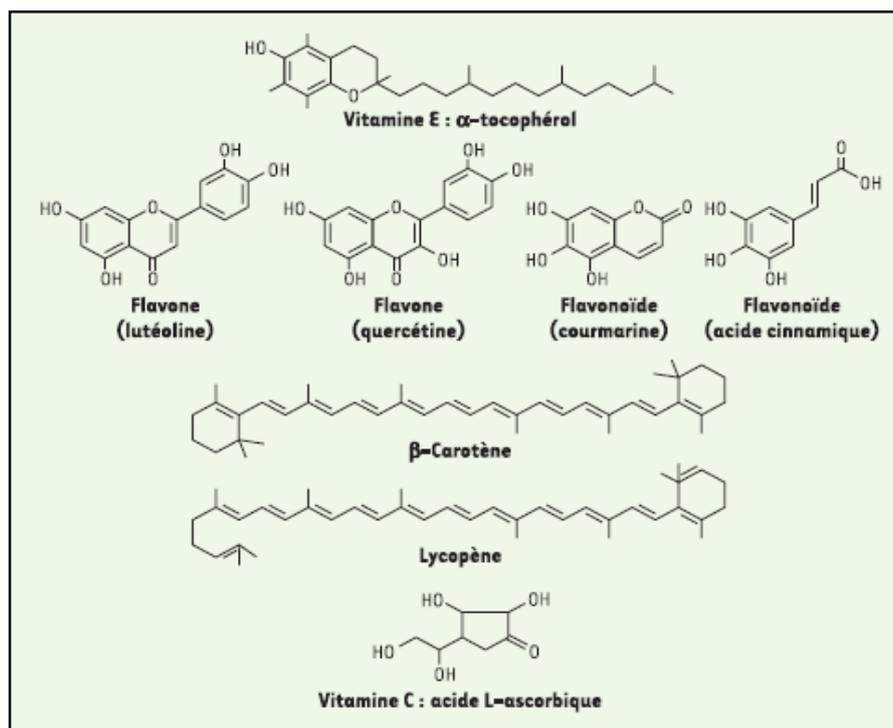
### **III.7. Les antioxydants**

Les antioxydants sont des molécules capables d'interagir sans danger avec les radicaux libres et de mettre fin à la réaction en chaîne avant que les molécules vitales ne soient endommagées (Pelli et Lyly, 2000).

Ils sont capables d'inhiber ou de retarder l'oxydation par deux moyens principaux:

- soit en évitant l'apparition de radicaux libres: antioxydants préventives
- soit en empêchant la propagation de ceux-ci grâce à l'inactivation des radicaux libres (Dacosta, 2003).

Chaque molécule antioxydante ne peut réagir qu'avec un seul radical libre, et par conséquent, il faut constamment refaire le plein de ressources antioxydantes (Pelli et Lyly, 2000).



**Figure 9.** Principaux composés naturels (ou synthétisés) possédant des propriétés antioxydantes (Marc *et al.*, 2004).

### III.7.1. Les type d'antioxydants

Les antioxydants sont naturellement présents dans presque toutes les plantes, tous les micro-organismes, les champignons et même dans les tissus animaux (Pelli et Lyly, 2000). Mais les plantes restent une source très importante d'antioxydants naturels dont la vitamine C, le tocophérol, les caroténoïdes, les flavonoïdes, et les acides phénoliques (Ou *et al.*, 2002; Gülçin *et al.*, 2010).

Les antioxydants sont de deux types: Les antioxydants enzymatiques et Les antioxydants non enzymatiques (Bonnefont-Rousselot, 2007)

#### III.7.1.1. Les antioxydants enzymatiques

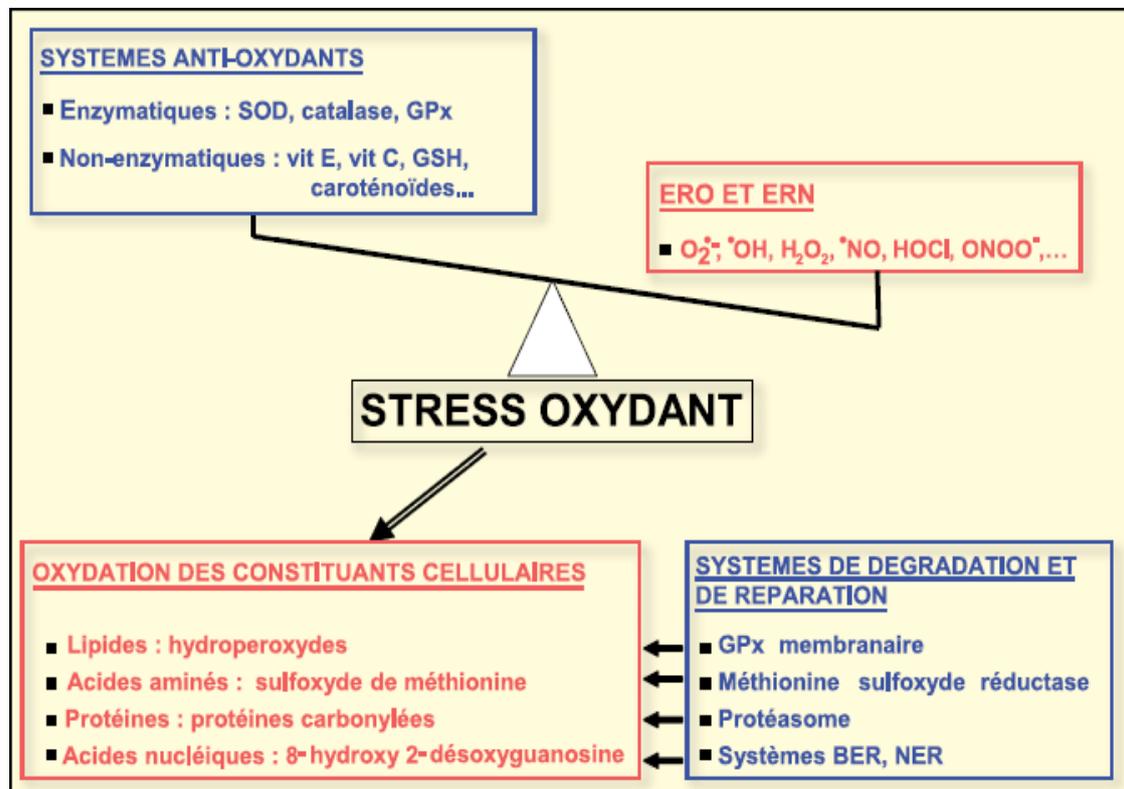
Renferment notamment le superoxyde dismutase (SOD), la glutathion peroxydase (GPx) et la catalase (Dacosta, 2003).

#### III.7.1.2. Les antioxydants non enzymatiques

Composés de protéines transporteuses du fer (transferrine, ferritine), de molécules antioxydantes de petite taille (glutathion, acide urique, bilirubine, glucose,

vitamines A, C, E, ubiquinone, caroténoïdes) et d'oligo-éléments (cuivre, zinc, sélénium) (Pincemail et al, 2001).

De nombreux polyphénols d'origine végétale dont flavonoïdes et flavones sont des antioxydants (Bonfont-Rousselot, 2007).



**Figure.10.** Enzymes antioxydants et systèmes antioxydants non enzymatiques  
Le stress oxydant est caractérisé par un déséquilibre entre la production des espèces réactives de l'oxygène et les capacités antioxydantes de l'organisme  
(Bonfont-Rousselot, 2007).

Où

BER : « base excision repair »;

ERN : espèces réactives de l'azote ;

ERO : espèces réactives de l'oxygène ;

GPx : glutathion peroxydase ;

GSH : glutathion réduit ;

NER : « nucleotide excision repair » ;

SOD : superoxyde dismutase ;

vit C : vitamine C;

vit E : vitamine E.

# Partie pratique

# **Chapitre I**

## **Matériel et Méthodes**

## I.1. Matériel

### I.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de bourgeons à fleur, fleurs et de fruits immatures de l'espèce *Capparis spinosa* récoltées des régions de Tigharghar wilaya de Batna et d'Ain Zaâtout wilaya de Biskra en mai et juin 2010.

Les organes récoltés ont été nettoyés et séchés à l'ombre à l'abri de la lumière et de l'humidité, et à température ambiante.

Après séchage, le matériel végétal a été broyé pour obtenir une poudre fine, qui a servi pour la préparation des différents extraits.



**Figure 11.** Les différentes parties de *C. spinosa*



**Figure 12.** Bourgeons à fleur, fleurs et fruits immatures de *C. spinosa* avant broyage.

### I.1.2. Matériels techniques

- Agitateurs magnétique et mécanique
- Ance de platine + des écouvillons
- Autoclave
- Balance
- Boîtes de Pétrie
- Broyeur électrique de type Retsch
- Cuve de CCM avec couvercle
- Dessiccateur
- Etuves de type Memmer et de type Heraeus
- Evaporateur rotatif de type HEIDOLPH
- Four à moufle de type Heraeus
- appareil HPLC
- Lampes UV de 254 et de 366 nm
- Lyophilisateur de type Phywe
- Papier filtre Wattman
- Pince
- Pipette + poire et des micropipettes
- Plaque chauffante
- Plaques de gel de silice
- Pulvérisateur
- Règle + crayon
- Séchoir
- Verrerie de laboratoire: Ballons de 50, 100 et 500ml, Entonnoirs, Eprouvettes graduées de 5, 25 et 200 ml, Erlenmeyers et béchers de différent volume (80, 100, 200, 500 et 1000 ml), Tubes à essai et Verre de montre.

### I.1.3. Solvants

- Acétonitrile pour HPLC
- Acétate d'éthyle
- Dichlorométhane
- Eau distillée et bidistillée
- Ether de pétrole
- Méthanol analytique et pour HPLC
- Vanilline sulfurique

## I.2. Méthodes

### I.2.1. Détermination de la teneur en eau

La teneur en eau est définie comme étant la perte du poids subie lors de la dessiccation (Audigie *et al.*, 1978). Elle est déterminée juste à l'arrivée des échantillons au laboratoire.

➤ **Principe:**

Afin de déterminer la teneur en eau (taux d'humidité **H%**), une quantité du matériel végétal fraîche de masse **Mf** a été séchée dans une étuve de type Heraeus à 80°C jusqu'à un poids constant.

➤ **Expression des résultats:**

La masse des bourgeons à fleur, fleurs et fruits séchés **Ms** a été déterminée à l'aide d'une balance précise à 0,01g et la teneur en eau est donnée par la formule ci-dessous (Bourkhiss *et al*, 2009) :

$$\mathbf{H\% = (Mf - Ms) / Mf \times 100}$$

Et

La teneur en matière sèche **MS%** est donnée par la formule :

$$\mathbf{MS\% = 100\% - H\%}$$

### **I.2.2. Détermination de la teneur en cendres**

➤ **Principe:**

Le dosage des cendres a été effectué selon la méthode AOAC (1984) par incinération du matériel végétal sec dans un four à moufle de 400 à 600 °C pendant 3 heures.

➤ **Expression des résultats:**

La teneur en matière organique **MO%** est déterminée selon la formule :

$$\mathbf{MO\% = (Mi - Mf) / Mi \times 100}$$

**Mi** : masse initiale avant l'incinération

**Mf** : masse finale après l'incinération

Et la teneur en cendres **C%** est déterminée selon la relation :

$$\mathbf{C\% = 100\% - MO\%}$$

### I.2.3. Préparation des extraits à partir des bourgeons à fleur, fleurs et fruits de *Capparis spinosa*

La préparation des extraits se fait à partir du matériel végétal broyé, et par macération.

#### ➤ Broyage :

Après la récolte, le nettoyage et le séchage, le matériel végétal a été broyé à l'aide d'un broyeur électrique de type Retsch.

Le broyage est réalisé afin d'obtenir une plus grande surface de contact entre la drogue et les solvants extracteurs, et donc un rendement mieux.



**Figure 13.** Broyeur électrique utilisé pour broyer le matériel végétal.

#### ➤ Principe de macération :

La macération est une opération qui consiste à laisser la poudre du matériel végétal en contact prolongé avec un solvant pour en extraire les principes actifs. C'est une extraction qui se fait à température ambiante.

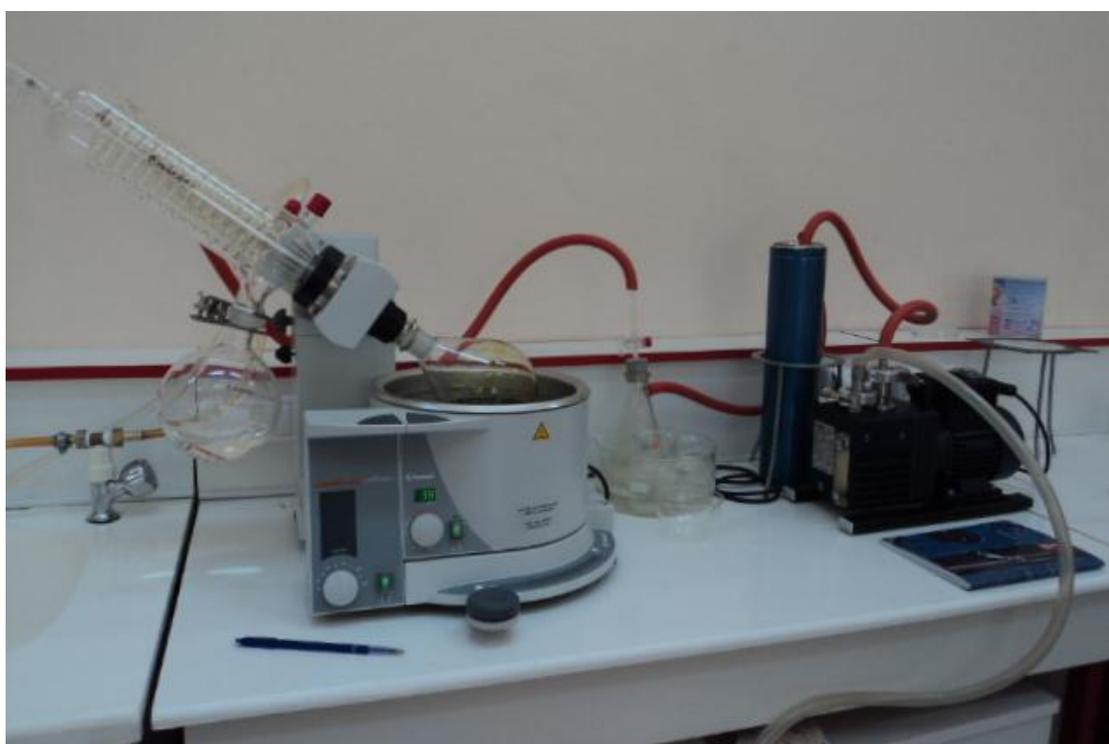
#### I.2.3.1. Extraction avec des solvants à polarité croissante

Différents types d'extraits ont été préparés selon la méthode de Diallo *et al.*, (2004) avec modification.

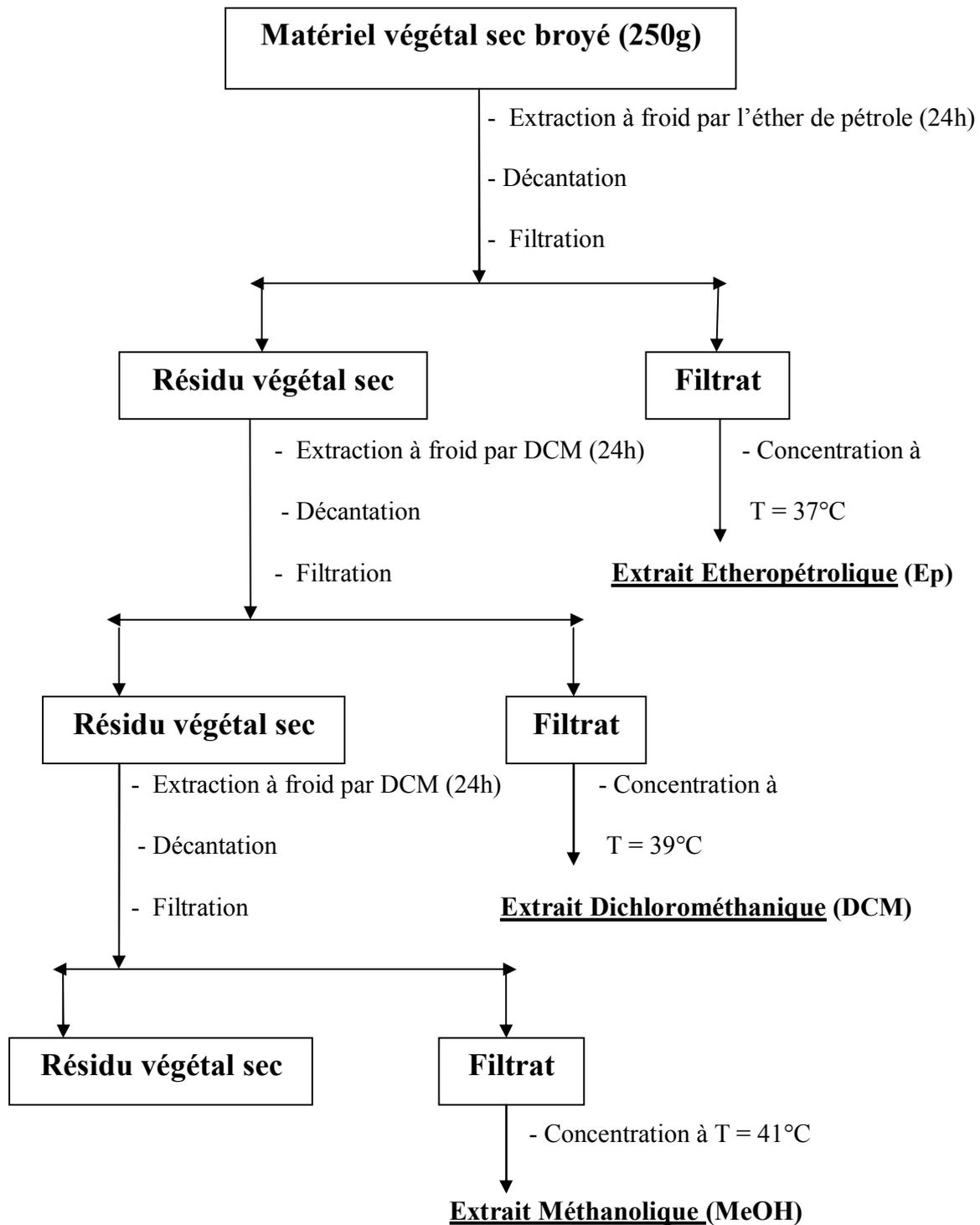
➤ **Principe :**

250 g de la poudre ont été extrait avec 2000 ml d'éther de pétrole et placé sous agitation pendant 24 heures. Après filtration sur papier Wattman, le marc est ensuite mis en agitation avec 2000 ml de dichlorométhane pendant 24 heures, puis 2000 ml de méthanol pendant 24 heures aussi, dans les mêmes conditions opératoires.

A la fin d'extraction, les trois extraits : extrait d'éther de pétrole (Ep), extrait de dichlorométhane (DCM) et l'extrait méthanolique (MeOH) ont été concentrés sous vide à l'évaporateur rotatif aux températures : 37 à 38°C pour Ep, 37 à 40°C pour DCM et 40 à 41°C pour MeOH.



**Figure 14.** Evaporateur rotatif utilisé pour concentrer les extraits Ep, DCM et MeOH.



**Figure 15.** Extraction de la poudre des bourgeons à fleur, fleurs et fruits de *C. spinosa* par des solvants à polarité croissante.

### I.2.3.2. Extraction aqueuse à 10% (Aq)

L'extrait aqueux est obtenu selon la méthode de Diallo *et al.*, (2004)

➤ **Principe :**

50 g du matériel végétal broyé ont été macérés dans 500 ml d'eau distillée à température ambiante, sous agitation, pendant 24 heures. Le macérât a été ensuite filtré, le filtrat obtenu a été congelé à -4°C pendant une nuit puis lyophilisé.

Le lyophilisat a été conservé au dessiccateur pendant 24 heures pour éliminer toute trace d'eau.



Figure 16. Lyophilisateur utilisé pour sécher l'extrait aqueux

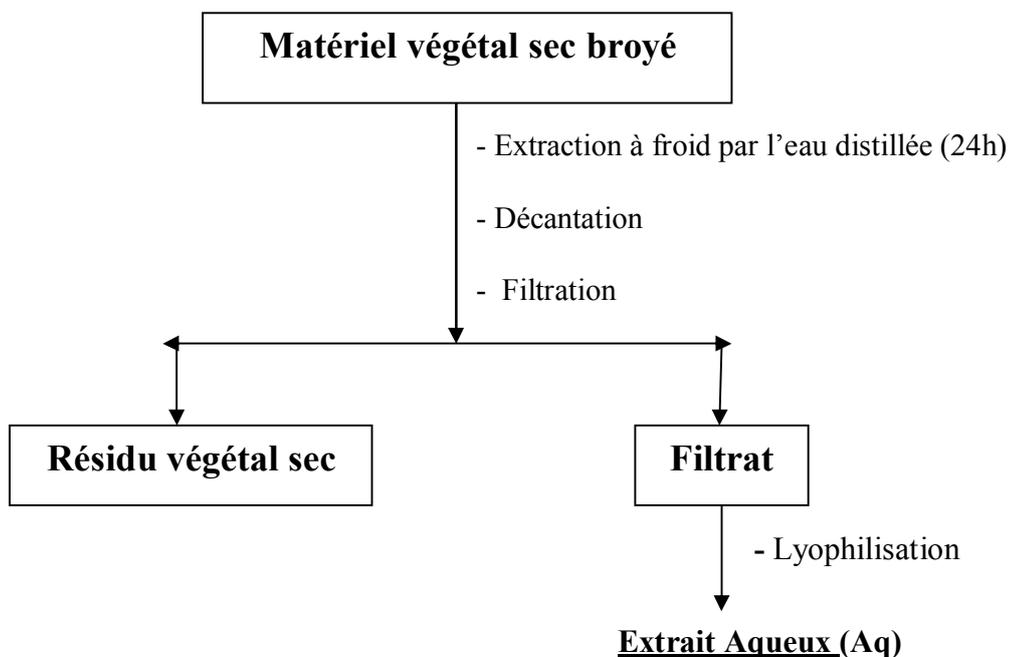


Figure 17. Extraction aqueuse de la poudre des bourgeons à fleurs, fleurs et fruits de *C. spinosa*.

## I.2.4. Analyse des extraits du *Capparis spinosa*

### I.2.4.1. Analyse qualitative des extraits du *Capparis spinosa*

#### I.2.4.1.1. Tests préliminaires

#### D. Mise en évidence des flavonoïdes

##### ➤ Principe

La détection de la présence des flavonoïdes dans les différents extraits a été faite par la réaction à la cyanidine selon la méthode de Paris *et al.*, (1969).

Pour chaque 2ml de chaque extrait, on ajoute quelques gouttes d'acide chlorhydrique (HCl) et quelques morceaux de magnésium (Mg).

##### ➤ Expression des résultats

La présence des flavonoïdes aglycones dans les extraits est indiquée par le virement de la couleur vers l'orange ou le rouge brique.

#### B. Mise en évidence des tanins

##### ➤ Principe

L'ajout de trichlorure du fer ( $\text{FeCl}_3$ ) permet de détecter la présence ou non des tanins.

##### ➤ Expression des résultats

La couleur vire au bleu noire en présence des tanins galliques et au brun verdâtre en présence des tanins catéchiques (Dohou *et al.*, 2003).

#### C. Mise en évidence des alcaloïdes

##### ➤ Principe

Les alcaloïdes sont mis en évidence grâce aux réactifs généraux de caractérisation des alcaloïdes, parmi les, le réactif de Dragendorff (réactif à l'iodobismuthate de potassium) (KonKon *et al.*, 2006).

### ➤ Expression des résultats

Les extraits ont été dissouts dans l'eau acidifié par HCl à 1% puis agiter. La formation de précipité après l'ajout de quelques gouttes de réactif de Dragendorff, témoigne la présence d'alcaloïdes.

#### I.2.4.1.2. Analyses chromatographiques

Les techniques chromatographiques sont à la fois des méthodes de séparation et d'identification de divers constituants d'un mélange

### C. Chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince (CCM) est utilisée pour identifier les substances en fonction de leur façon de migration dans les conditions données (Marouf, 2002). Pour la migration (verticale), est en fonction de la polarité des substances, de la polarité de l'éluant (phase mobile) et du pouvoir d'adsorption de la phase stationnaire.

La méthode CCM est efficace, rapide et associe la sensibilité à la simplicité (Wink, 1999)

#### a- Supports

L'analyse des extraits a été réalisée sur des plaques de gel de Silice : (20×20cm, 60F254)

#### b- Systèmes de solvants

· **Système des extraits polaires (Aq et MeOH):** deux systèmes ont été utilisés: éther de pétrole /n-butanol /acide acétique (4/80/16) (V/V/V) et dichlorométhane/ méthanol (86/14) (V/V).

· **Système des extraits apolaires (Ep et DCM):** il est constitué d'éther de pétrole / acétate d'éthyle (Ac OEt) aux proportions de (80V /20V).

**c- Dépôts**

Nous avons disposé une quantité de 5 à 20 µl de chaque extrait, dissout préalablement dans son solvant d'origine (10 mg/ ml) pour les extraits, et dans le méthanol pour les standards (2mg /ml) sur les plaques de gel de silice, ensuite les plaques sont introduites dans la chambre de migration saturée par la phase mobile.

**d- révélation**

Pour révéler les taches de substances sur la plaque, on utilise soit la détection UV, soit des révélateurs chimiques caractéristiques.

Après migration et séchage, les plaques ont été visualisées par les systèmes de révélation suivants : - Révélation physique sous UV à 254 nm

- Révélation physique sous UV à 366 nm

- Révélation chimique par le mélange vanilline sulfurique

**D. Chromatographie liquide à haute performance HPLC – RP – C18**

La chromatographie liquide à haute performance à phase inverse est une technique de détermination des composés individuels dans les échantillons, rapide et sensitive, c'est la technique analytique la plus utile pour caractériser les composés polyphénoliques (Gupta *et al.*, 2006).

L'analyse a été réalisée par l'appareil HPLC Shimadzu (Vp Shimadzu liquid chromatographe, Gyrmany) au niveau du laboratoire de la faculté des sciences, Université El-Hadj Lakhdhar Batna. Cet appareil est équipé par deux pompes LC-10AD-Vp, un système de control SCL-10A-Vp, un dégazeur DGU-14A, une chambre d'injection FCV-10AL-Vp, un mélangeur de fraction SPD-10AV-Vp, un détecteur UV- visible, un détecteur réfractométrique et un collecteur des fraction FRC-10A, le tout est lié à un ordinateur.



Figure 18. Appareil HPLC utilisé

### ➤ Principe

Dans ce travail, nous avons suivi le protocole de Giuffrida *et al.*, (2002) appliqué sur l'analyse des flavonoïdes avec modifications: leur système de solvant était un gradient d'acétonitrile / eau bidistillée. Ici, nous avons utilisé une élution isocratique dans laquelle une seule source du solvant utilisée pour éluer les composants à travers la colonne. La phase mobile utilisée est un mélange acétonitrile / eau bidistillée (25 / 75).

20  $\mu$ l de chaque extrait ou standard ont été injecté dans une colonne étroitement emballée par des particules C18 (apolaire, phase inverse) de dimensions égales à 125 x 4,6mm. Le débit de la phase mobile était 1ml/min. la température était réglée à 30°C. La détection a été effectuée par un détecteur UV-Vis à une longueur d'onde 254 nm.

### I.2.4.2. Analyse quantitative des extraits du *Capparis spinosa*

#### I.2.4.2.1. Dosage des polyphénols

Le dosage des polyphénols totaux par le réactif de Folin-Ciocalteu a été décrit dès 1965 par Singleton et Rossi (Borneo *et al.*, 2009)

➤ **Principe:**

Le réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (Ribéreau-Gayon, 1968). La coloration produite, dont l'absorption maximum est comprise entre 725 et 750 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (Boizot et Charpentier, 2006).

200 µl de chaque extrait et du standard: "l'acide gallique" sont ajoutés à 1 ml du réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois, après 4 min, 800 µl d'une solution de carbonate de sodium (75g/l) sont ajoutés.

➤ **Expression des résultats :**

**L'absorbance** est mesurée à 765 nm après 2h d'incubation.

**La quantification** des polyphénols à été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage réalisé par un standard étalon "l'acide gallique" à différentes concentrations (0 - 200 µg/ml) dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats ont été exprimés en microgrammes d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG/mg).

#### I.2.4.2.2. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été effectué en se basant sur les propriétés chélatantes d' $AlCl_3$  (Dohou *et al.*, 2003).

➤ **Principe :**

1 ml de chaque extrait et du standard: "la rutine" est ajouté à 1ml de solution d'AlCl<sub>3</sub> (2% dans le méthanol). Le mélange a été vigoureusement agité et incubé pendant 10 minutes.

➤ **Expression des résultats :**

**L'absorbance** a été lue à 430 nm.

**La quantification** des flavonoïdes a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage réalisée par un standard étalon "la rutine" à différentes concentrations (0 - 35 µg/ml) dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats ont été exprimés en microgrammes d'équivalent de rutine par milligramme d'extrait (µg EQ/mg).

### **I.2.5. Tests des activités biologiques**

#### **I.2.5.1. Test d'activité antioxydante**

➤ **Effet scavenger du radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH)**

Pour étudier l'activité anti-radicalaire des différents extraits, nous avons utilisé le test au DPPH selon le protocole décrit par Velazquez *et al.*, (2003) cité par Zerbo *et al.*, (2010).

Le DPPH, radical libre de couleur violette est réduit en un composé de couleur jaune en présence de composés anti-radicalaires. L'intensité de la coloration, mesurée au spectrophotomètre, est inversement proportionnelle à l'activité antiradicalaire des composés dont on souhaite déterminer l'activité (Kouamé *et al.*, 2009).

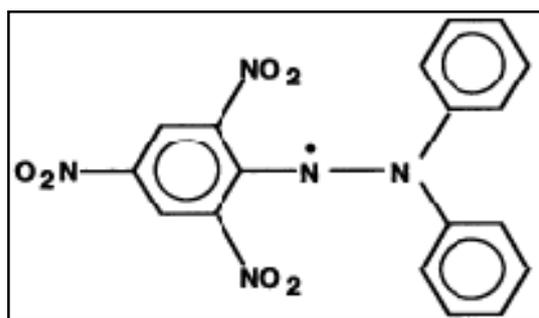


Figure 19. Le radical diphenylpicrylhydrazyl

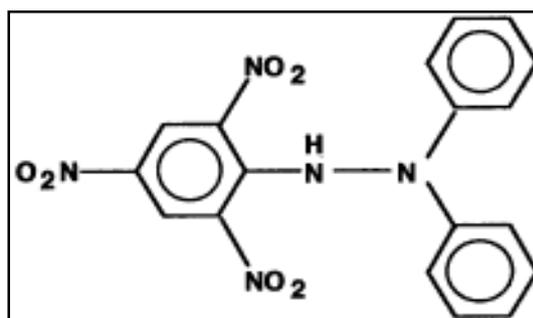


Figure 20. La forme réduite de diphenylpicrylhydrazyl

(Molyneux, 2004).

### ➤ Préparation de la solution de DPPH :

Pour préparer la solution de DPPH : 2,4 mg de DPPH est solubilisé dans 100ml de méthanol.

### ➤ Principe :

Dans des tubes on a introduit 750 µl de chaque extrait ou référence positif (l'acide gallique et la rutine) et on a ajouté 1.5ml de la solution méthanolique au DPPH. Après agitation, les tubes ont été placés à l'obscurité à température ambiante pendant 30 minutes. La lecture était effectuée par la mesure de l'absorbance à 517nm.

Le contrôle négatif est composé d'1ml de la solution méthanolique au DPPH et de 750 µl de méthanol. Les contrôles positifs sont représentés par deux solutions: l'une de la rutine et l'autre de l'acide gallique.

### ➤ Expression des résultats:

Les résultats peuvent être exprimés en tant que l'activité anti-radicalaire où l'inhibition des radicaux libres en pourcentages (I %) en utilisant la formule suivante :

$$\text{Inhibition \%} = [1 - (\text{Abs Echantillon} - \text{Abs Control négatif})] \times 100$$

Où

- **Inhibition %:** Pourcentage de l'activité anti-radicalaire (AAR%);
- **Abs Echantillon :** Absorbance de l'échantillon ;
- **Abs Control négatif :** Absorbance du control négatif ;

### I.2.5.2. Test d'activité antimicrobienne

Le test d'activité antimicrobienne a été réalisé par la méthode de diffusion en milieu gélosé (Treki *et al.*, 2009).

#### ➤ Souches

Les souches utilisées dans le présent travail sont des souches de référence ATCC, proviennent du laboratoire de Bactériologie de CHU de Batna. Elles sont largement rencontrées dans diverses pathologies chez l'homme. Il s'agit de :

- deux souches bactériennes à Gram négatif : *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*
- une souche bactérienne Gram positif : *Staphylococcus aureus*.

#### ➤ Préparation des solutions

Les extraits Ep, DCM et MeOH ont été repris avec le Dimethyl sulfoxyde (DMSO) à une concentration de 1g/ml, et l'extrait Aq avec de l'eau, avec une concentration de 1g/ml.

Des dilutions en série de 1/2 à 1/8 ont été ensuite réalisées pour obtenir des concentrations de 500mg/ml à 125mg/ml.

#### ➤ Préparation de milieu Gélose Mueller Hinton

38 g de poudre de gélose Mueller Hinton (GMH) a été dissoute dans un 1L d'eau distillée. Attendre 5mn puis bien agiter afin d'obtenir une suspension homogène. Chauffer en agitant jusqu'à dissolution complète. Le milieu ainsi préparé a été stérilisé à l'autoclave à la température de 121°C pendant 15mn. Après refroidissement, nous avons transféré la solution en boîtes de Pétri.

#### ➤ Méthode de diffusion en milieu gélosé

##### • Repiquage des souches bactériennes

Les différentes souches bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries, puis incubées à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures afin d'obtenir une culture jeune et des colonies isolées. Les colonies isolées ont été servi à préparer l'inoculum. (Moroh *et al.*, 2008)

- **Préparation de l'inoculum bactérien :**

Après incubation de 24 heures à 37 °C, on a choisi 4 à 5 colonies bien isolées avec une anse de platine et les transférer dans un tube de solution d'eau distillée stérile afin d'avoir une densité cellulaire initiale ou une turbidité voisine à celle de 0,5 McFarland.

- **Ensemencement :**

Après l'ajustement de la turbidité de la suspension servant d'inoculum, on a trempé un écouvillon dans la suspension et on a étalé la surface entière de la gélose Mueller Hinton à trois reprises , en tournant la boîte à environ 60° après chaque application dont le but d'avoir une distribution égale de l'inoculum . Enfin, on a écouvillonné partout autour du bord de la surface de la gélose.

- **Principe :**

L'évaluation de l'activité antibactérienne a été effectuée selon la méthode de diffusion en milieu gélosé. Des disques de papier Wathman stériles (6 mm de diamètre) sont imprégnés de chaque dilution (1, 1/2, 1/4, 1/8) pour les quatre extraits : Ep, DCM, MeOH et Aq. Ces mêmes disques ont été appliqués, à l'aide d'une pince, sur la surface du milieu GMH. Les boîtes de Pétri ont été incubées pendant 24 heures à 37°C.

Des témoins imbibés seulement par le DMSO pour les extraits : Ep, DCM, et MeOH et par l'eau distillée stérile pour l'extrait Aq ont été réalisés.

- **Expression des résultats:**

L'activité antibactérienne a été déterminée en mesurant à l'aide d'une règle le diamètre de la zone d'inhibition, déterminé par les différentes concentrations des différents extraits autour des disques.

### **I.3. Analyse statistique:**

L'étude statistique a été réalisée par le logiciel statistique GraphPad Prism 5.

Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  SD. Les résultats sont analysés par le test Anova univariée suivie du test Dunnet /Tukey pour les comparaisons multiples et la détermination des taux de signification.

Les valeurs de  $p \leq 0.05$  sont considérées statistiquement significatives.

# **Chapitre II**

## **Résultats et Discussions**

### II. 1. Détermination de la teneur en eau

La détermination de la teneur en eau a été réalisée par la méthode de Bourkhiss *et al.*, (2009). Elle a été effectuée dans le but d'exprimer les résultats des constituants biochimiques par rapport à la matière sèche.

Les résultats obtenus sont rapportés dans le tableau ci-dessous:

**Tableau 4.** Teneur en eau dans les bourgeons à fleurs, fleurs et les fruits immatures du *C.spinosa*.

Teneur en eau (%)	Teneur en matière sèche (%)
76,65 ± 5,11	23,34 ± 5,11

Les valeurs représentent la moyenne de 08 essais ± SD

La teneur en eau de nos échantillons est de 76,65%, valeur proche à celle trouvée par Giuffrida *et al.*, (2002) qui est comprise entre 80 et 84%, et à celle trouvé par Sessiz *et al.*, (2007) (80.40%).

### II. 2. Détermination de la teneur en cendre

La teneur en cendre a été étudiée afin de déterminer le taux des éléments minéraux.

Les résultats analytiques du taux des cendres et de la matière organique sont résumés dans le tableau suivant:

**Tableau 5.** Teneur en cendre dans les bourgeons à fleurs, fleurs et les fruits immatures du *C.spinosa*.

Teneur en cendres (%)	Teneur en matière organique (%)
02,43 ± 0,56	97,57 ± 0,56

Les valeurs représentent la moyenne de 04 essais ± SD

Selon Rodrigo *et al.*, (2006), la teneur en cendre dans les fruits du *C.spinosa* est de 1.6%. Taux similaire à celui trouvé par Giuffrida *et al.*, 2002 (de 01,21 ± 0,09 à 01,50 ± 0,01), mais inférieur à celui de nos échantillons (02,43%). Ceci s'explique probablement par l'âge de la plante, la période du cycle végétatif, la différence des conditions climatiques, la répartition géographique et la qualité du sol.

Le taux élevé en cendre indique la richesse de cette espèce en éléments minéraux. Selon Toncer, (1999), 100g de câpre (bourgeons à fleurs) contiennent environ 67 mg de calcium, 65 mg de phosphore et 9 mg de fer.

### II.3. Préparation des extraits à partir des bourgeons à fleurs, fleurs et fruits immatures du *Capparis spinosa*

La préparation des extraits à partir des bourgeons à fleurs, fleurs et fruits immatures du *C. spinosa* a été effectuée selon la méthode de Diallo *et al.*, (2004). Le broyat a été soumise à une extraction par des solvants à polarité croissante afin d'obtenir trois extraits bruts : extrait d'éther de pétrole « Ep », extrait de dichlorométhane « DCM » et extrait méthanolique « MeOH » et à une macération aqueuse à 10% afin d'obtenir l'extrait aqueux « Aq ».

L'utilisation d'une extraction par des solvants à polarité différente et dans des conditions ambiantes permet d'obtenir quatre extraits différents selon le degré de solubilité des molécules actives qui sont, à son tour, prévenues de toute dénaturation provoquée par le changement des conditions surtout la température.

**Tableau 6.** Résultats des rendements par rapport à la matière sèche, aspects et couleurs des extraits des bourgeons à fleurs, fleurs et fruits immatures du *C. spinosa*.

Extrait	Aspect	Couleur	Rendement (%)
Ep	Pâteux	Vert claire	00,73
DCM	Pâteux	Vert foncé	00,78
MeOH	Liquide	Marron claire	21,58
Aq	Lyophilisé	Couleur du miel	21,48

Les résultats obtenues montrent que le rendement des extraits polaires : 21,480 et 21,584 pour les extraits Aq et MeOH respectivement, est plus élevé que celui des extraits apolaires : 0,732 et 0,782 pour les extraits Ep et DCM respectivement.

Un faible rendement dans les extraits apolaires indique que nos échantillons contiennent une faible quantité de molécules apolaires qui sont essentiellement les matières grasses.

## II.4. Analyse des extraits du *Capparis spinosa*

### II.4.1. Analyse qualitative des extraits du *Capparis spinosa*

#### II.4.1.1. Tests préliminaires

Les résultats des tests phytochimiques sont résumés dans le tableau suivant:

**Tableau 7.** Résultats des tests préliminaires des flavonoïdes, des tanins et des alcaloïdes sur les différents extraits du *C. spinosa*.

Extrait	Métabolite testé	Couleur résulte	Résultat
Ep	<b>Flavonoïdes</b>	Vert claire	~
DCM		Vert foncé	~
MeOH		Orange claire	+
Aq		Rouge orange	+
Ep	<b>Tanins</b>	Vert claire	-
DCM		Vert foncé	-
MeOH		Marron claire	-
Aq		Couleur du miel	-
Ep	<b>Alcaloïdes</b>	Précipité rouge brique	+
DCM		Précipité rouge brique	+
MeOH		Précipité rouge brique	+
Aq		Précipité rouge brique	+

Le signe “+” indique une réaction positive traduit la présence du groupe de composés chimiques, le signe “-” une réaction négative traduit l'absence du groupe de composés chimiques et le signe “~” une réaction louche.

Dans nos échantillons, la présence de flavonoïdes et d'alcaloïdes et l'absence des tanins est évident, ce qui est en accord avec (Abdel-Salam, 2009; Ghule *et al.*, 2007; Arslan *et al.*, 2010) qui disent que les principales constituent du *C.spinosa* et de la famille des

Capparidaceae en générale, sont les flavonoïdes, les alcaloïdes, les lipides et les glucosinolates .

La plupart des études phytochimiques faites sur cette espèce, ne rapporte pas la présence des tanins (Giuffrida *et al.*, 2002; Panico *et al.*, 2005; Liu *et al.*, 2008; Rajesh, *et al.*, 2009). Maridass, (2010) a constaté aussi l'absence des tanins dans les feuilles du *C.spinosa*.

Les extraits polaires montrent une présence des flavonoïdes plus importante que les extraits apolaires, ceci peut être attribué à la différence du degré de polarité des flavonoïdes, dont les flavonoïdes polaires représentent la fraction la plus élevée, et à la présence de chlorophylle dans les extraits apolaires ce qui enchevauche les résultats.

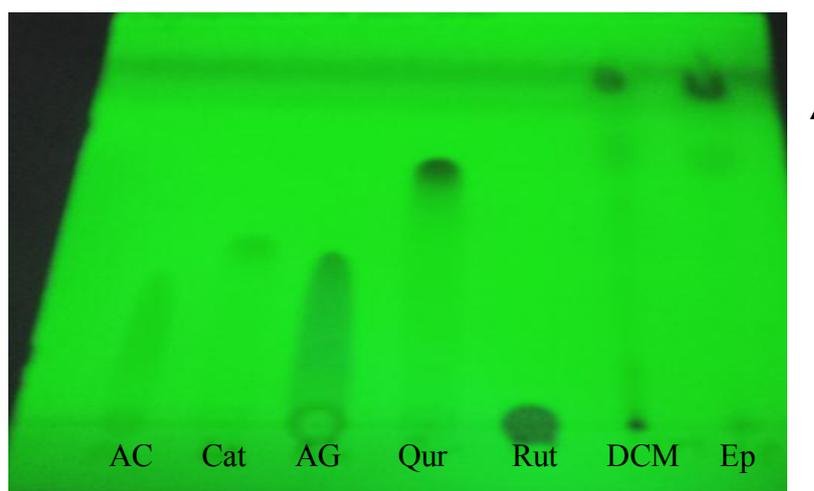
Le test préliminaire a révélé la présence des alcaloïdes dans nos échantillons. Pour les quatre extraits, le résultat est positif indiquant la richesse du Câprier en alcaloïdes.

#### II.4.1.2. Analyses chromatographiques

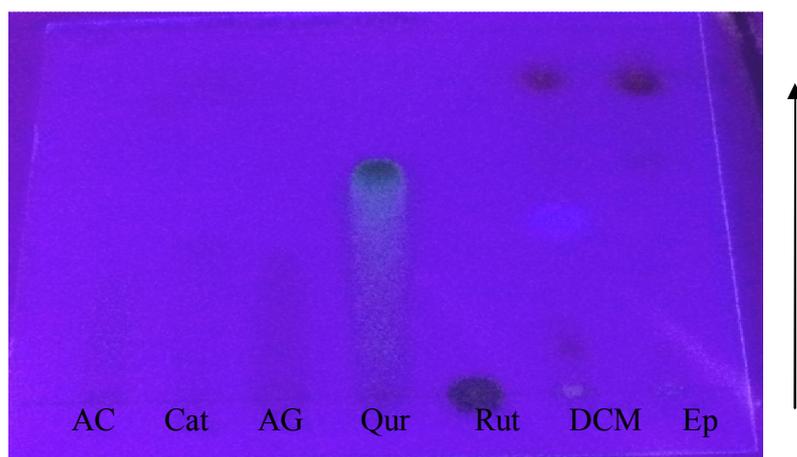
##### II.4.1.2.1. Chromatographie sur couche mince (CCM)

Les standards utilisés sont des composés phénoliques; des flavonoïdes: quercétine (Qur), rutine (Rut) et catéchine (Cat), et des acides phénoliques: acide gallique (AG) et acide caféique (AC).

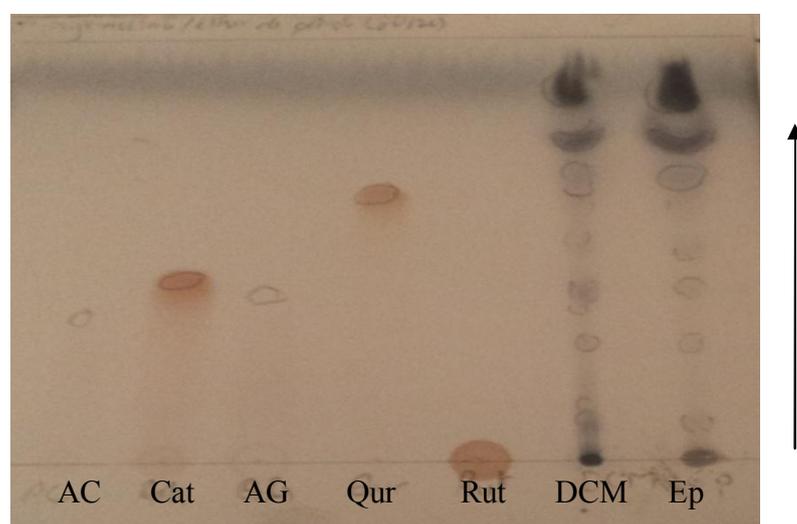
Le système de migration utilisé pour les extraits Ep et DCM est l'éther de pétrole /acétate d'éthyle (80/20) qui montre une meilleur séparation pour ces extraits et une migration pour les standards (figures 17, 18 et 19)



**Figure 21.** Chromatogramme des extraits apolaires des bourgeons à fleurs, fleurs et fruits du *C. spinosa*. Observation sous lampe UV à 254 nm. La flèche désigne le sens de migration.



**Figure 22.** Chromatogramme des extraits apolaires des bourgeons à fleurs, fleurs et fruits du *C. spinosa*. Observation sous lampe UV à 366 nm. La flèche désigne le sens de migration.



**Figure 23.** Chromatogramme des extraits apolaires des bourgeons à fleurs, fleurs et fruits du *C. spinosa* après révélation par la vanilline sulfurique. La flèche désigne le sens de migration.

**Tableau 8.** Rapports frontaux et couleurs après révélation des standards dans le système éther de pétrole /acétate d'éthyle (80/20).

standards	Couleur après révélation*	RF
Acide caféique	Transparent	0.32
Acide gallique	Transparent	0.38
Catéchine	Rouge	0.42
Quercétine	Jaune orange	<b>0.62</b>
Rutine	Jaune orange	0

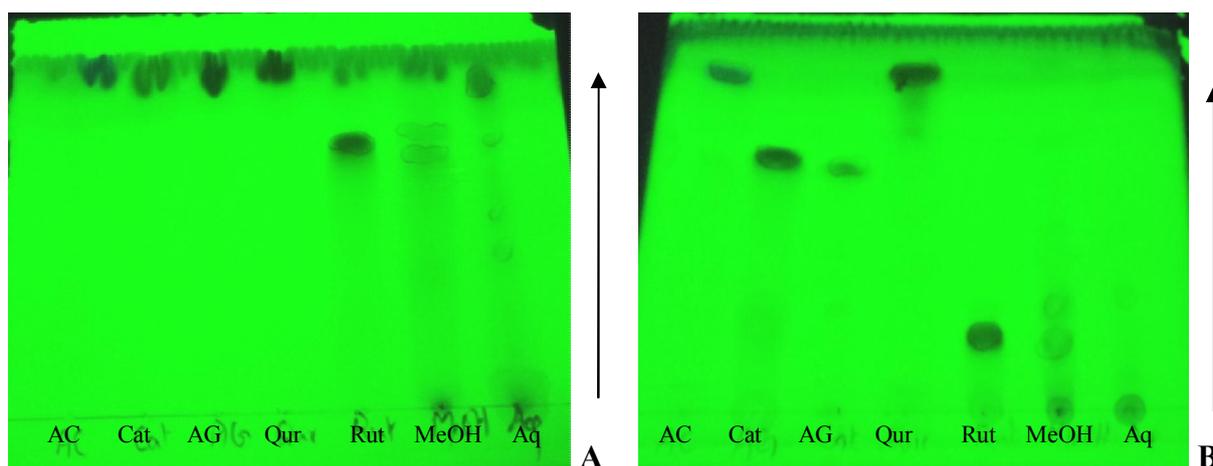
\* révélation par vanilline sulfurique

Après révélation par vanilline sulfurique une des taches apparues dans l'extrait DCM est correspond à la quercétine (**RF = 0.62**).

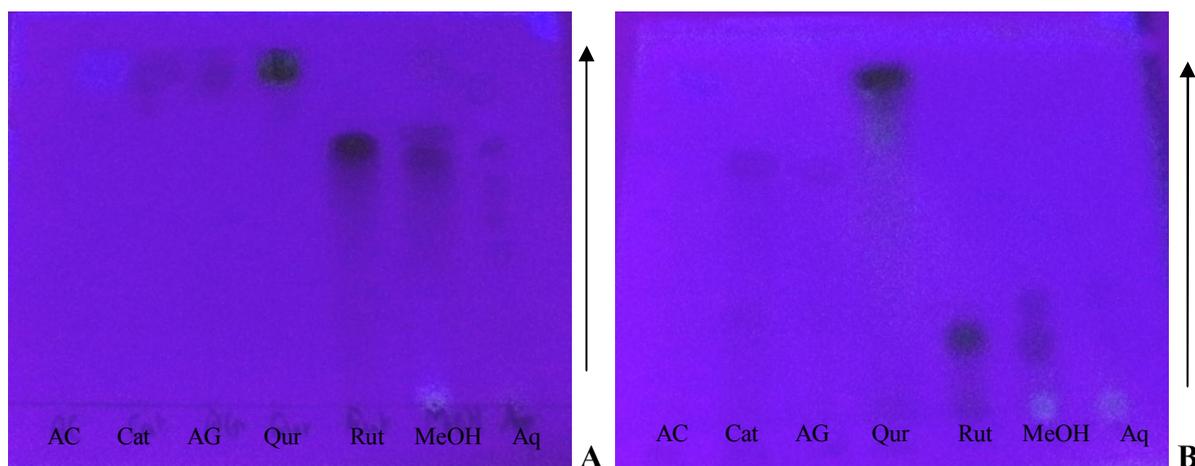
Plusieurs taches sont apparues correspondent aux différentes molécules apolaires, probablement sont des stérols, des terpénoïdes et des lipides.

Pour les extraits polaires, le système de migration utilisé est l'éther de pétrole /n-butanol /acide acétique (4/80/16) qui montre une séparation pour ces extraits mais seulement la rutine qui migre parmi les standards. Un deuxième système a été utilisé qui est le dichlorométhane/ méthanol (86/14) qui montre une séparation partielle pour les extraits et une migration pour les standards (figures 24, 25 et 26).

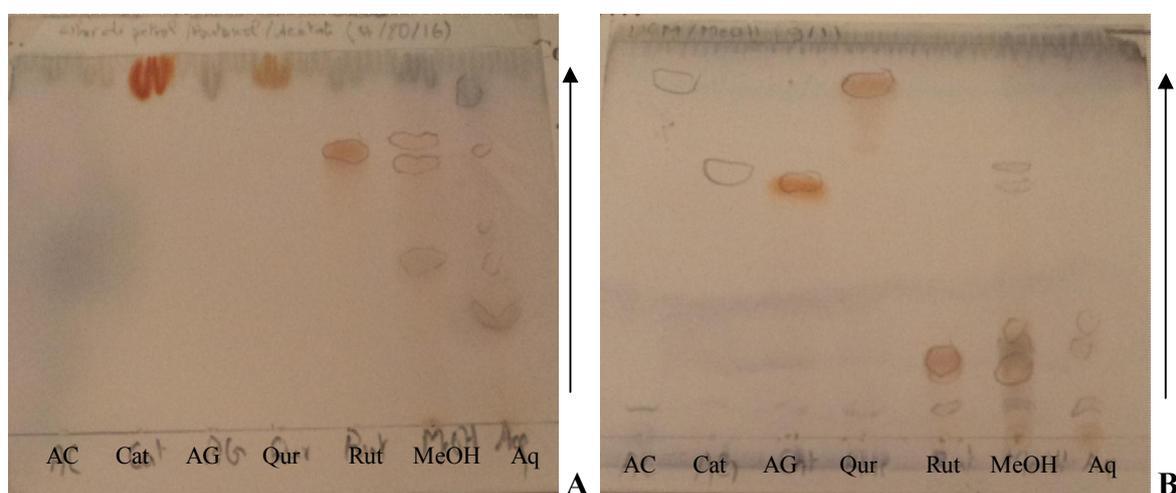
Dans les figures 24, 25 et 26 le symbole **A** correspond au système de migration l'éther de pétrole /n-butanol /acide acétique (4/80/16) et le symbole **B** correspond au système de migration le dichlorométhane/ méthanol (86/14).



**Figure 24.** Chromatogramme des extraits polaires des bourgeons à fleurs, fleurs et fruits du *C.spinosa* Observation sous lampe UV à 254 nm. La flèche désigne le sens de migration.



**Figure 25.** Chromatogramme des extraits polaires des bourgeons à fleurs, fleurs et fruits du *C.spinosa* Observation sous lampe UV à 366 nm. La flèche désigne le sens de migration.



**Figure 26.** Chromatogramme des extraits polaires des bourgeons à fleurs, fleurs et fruits du *C.spinosa* Observation sous lampe UV à 366 nm. La flèche désigne le sens de migration.

**Tableau .9.** Rapport frontaux et couleurs après révélation des standards dans le système dichlorométhane/ méthanol (86/14).

standards	Couleur après révélation*	RF
Acide caféique	Transparent	0.90
Acide gallique	Transparent	0.64
Catéchine	Rouge	0.62
Quercétine	Jaune orange	0.88
Rutine	Jaune orange	<b>0.20</b>

\* révélation par vanilline sulfurique

Après l'utilisation de quelques systèmes de migration, on a choisi l'éther de pétrole /n-butanol /acide acétique (4/80/16) qui a permis de détecter la rutine (RF= 0.73) qui est un composé majoritaire des flavonoïdes du *C.spinosa* (Ramezani *et al*, 2008). Dans l'extrait MeOH la tache a été plus intense que dans l'extrait Aq.

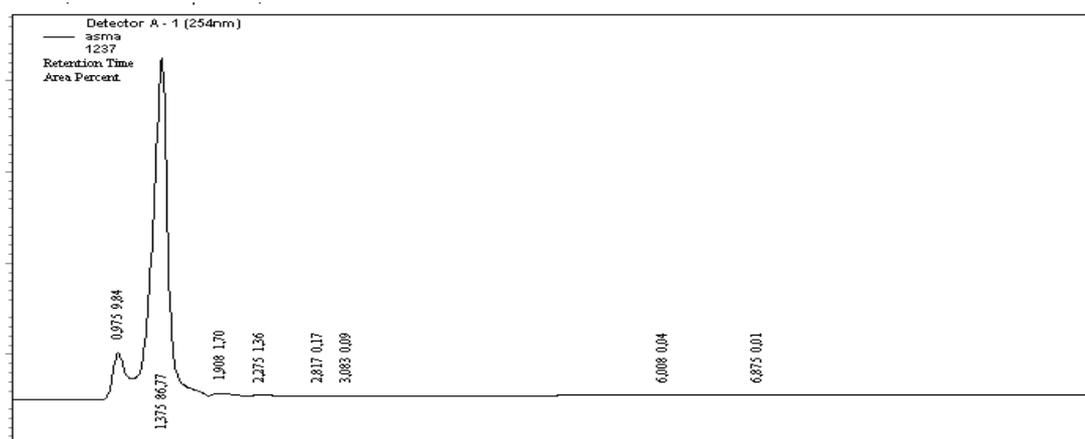
L'utilisation du système dichlorométhane/ méthanol (86/14) permet de calculer les rapports frontaux de différents standards avec une migration pour les extraits. Une tache est apparue dans l'extrait MeOH correspond à la rutine avec un RF de 0.20. Dans l'extrait Aq nous avons révélé la présence de la rutine.

Donc, les extraits des bourgeons à fleurs, fleurs et fruits immatures du *C.spinosa* contiennent la quercétine et la rutine, ce qui est en accord avec Sharaf *et al*, (1997), Rodrigo *et al*, (2006) et Sher and Alyemeni (2010) qui ont montré que la quercétine, la rutine et leurs dérivés ainsi que le kaempférol et ses dérivés sont les principaux flavonoïdes du *C.spinosa*.

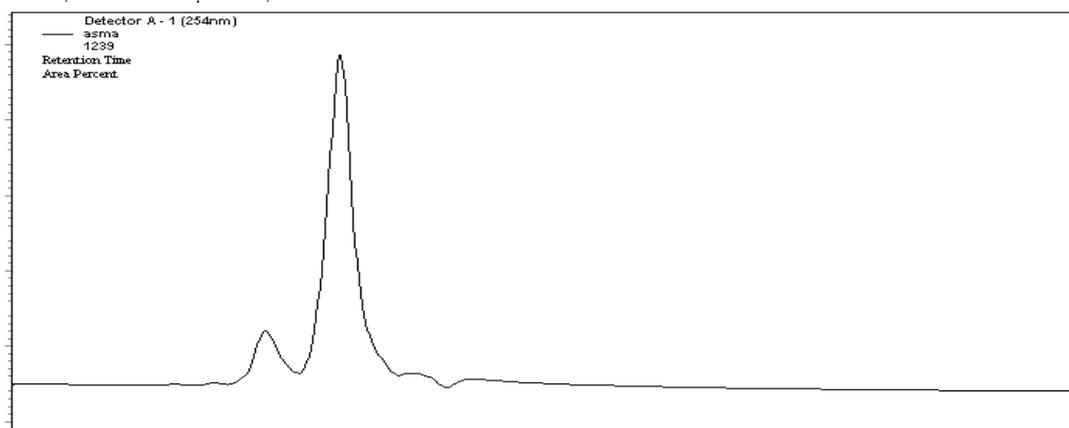
#### II.4.1.2.2. Chromatographie liquide à haute performance HPLC – RP – C18

L'HPLC-RP C18 permet la séparation de différentes substances dans un extrait brut ainsi que l'identification de quelques unes par comparaison de leurs temps de rétention avec le temps de rétention des standards.

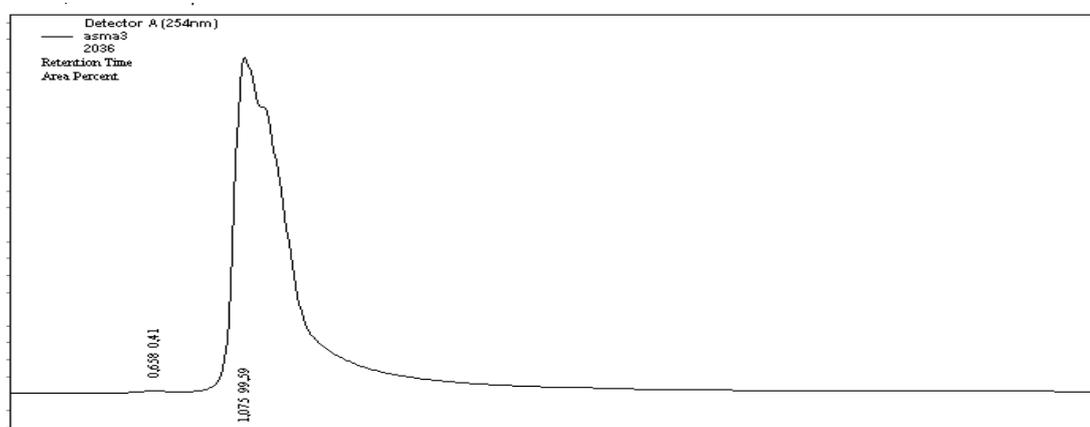
Les chromatogrammes d'HPLC des standards et des différents extraits sont représentés ci-dessous.



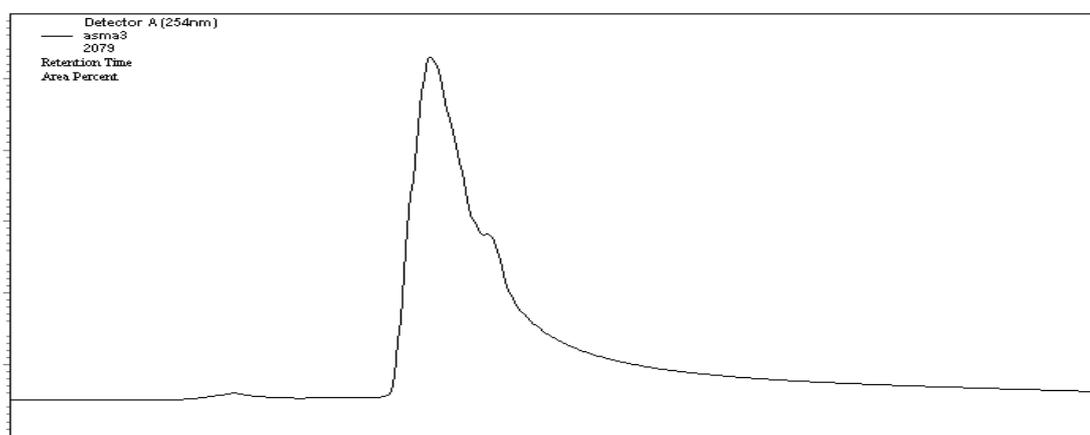
**Figure 27.** Chromatogramme d'HPLC de l'acide gallique enregistré à 254 nm, le système solvant est acétonitrile / eau bidistillée (25 / 75).



**Figure 28.** Chromatogramme d'HPLC de l'acide caféique enregistré à 254 nm, le système solvant est acétonitrile / eau bidistillée (25 / 75).



**Figure 29.** Chromatogramme d'HPLC de la rutine enregistré à 254 nm, le système solvant est acétonitrile / eau bidistillée (25 / 75).



**Figure 30.** Chromatogramme d'HPLC de la quercétine enregistré à 254 nm, le système solvant est acétonitrile / eau bidistillée (25 / 75).

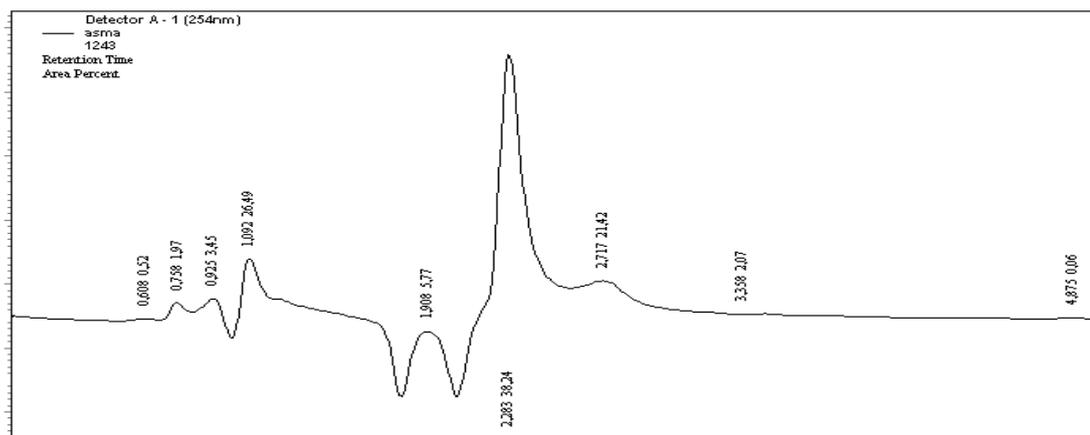


Figure 31. Chromatogramme d'HPLC de la catéchine enregistré à 254 nm, le système solvant est acétonitrile / eau bidistillée (25 / 75).

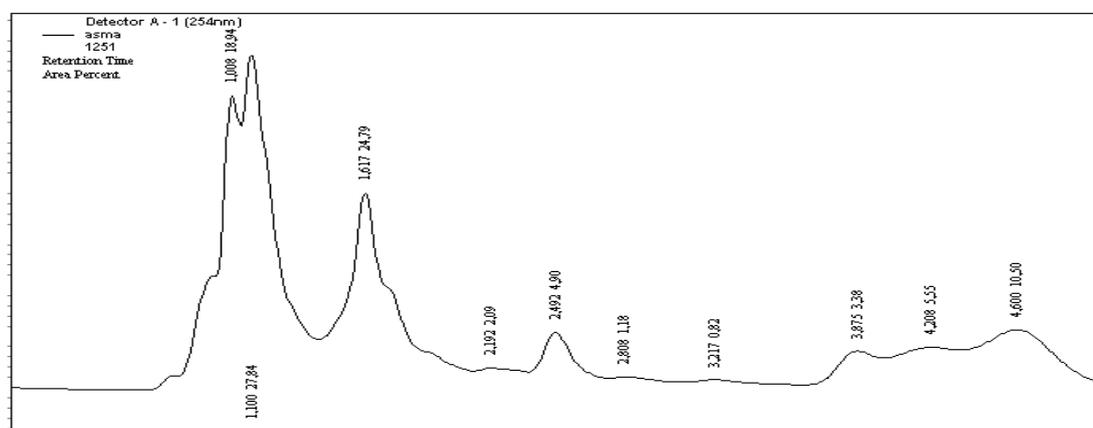


Figure 32. Chromatogramme d'HPLC d'extrait Aq du *C.spinosa* enregistré à 254 nm, le système solvant est acétonitrile / eau bidistillée (25 / 75).

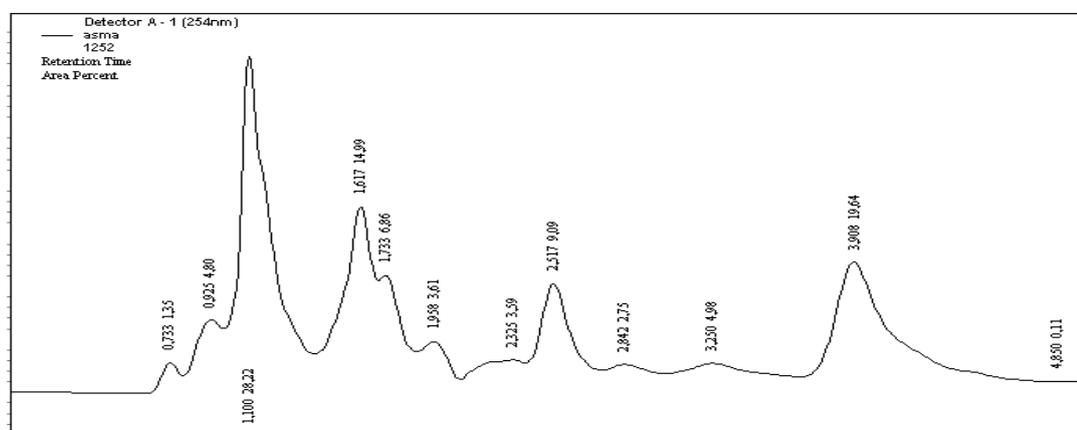
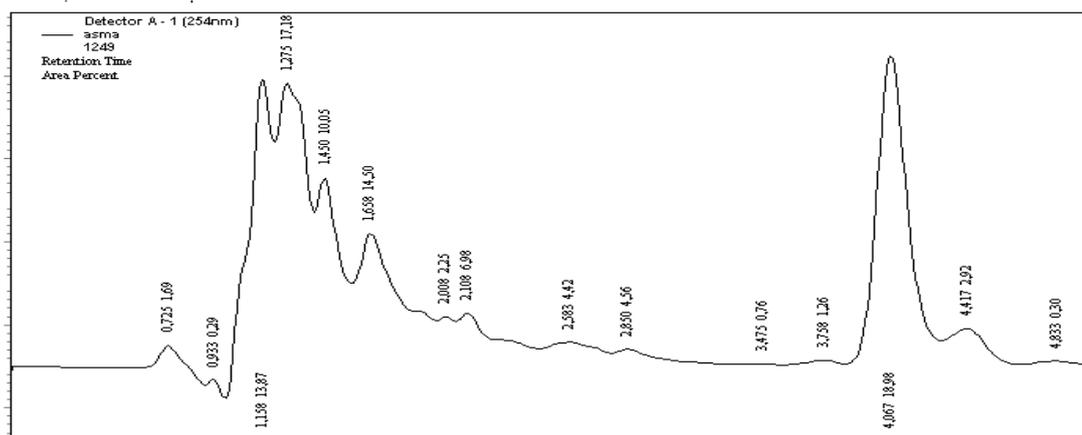
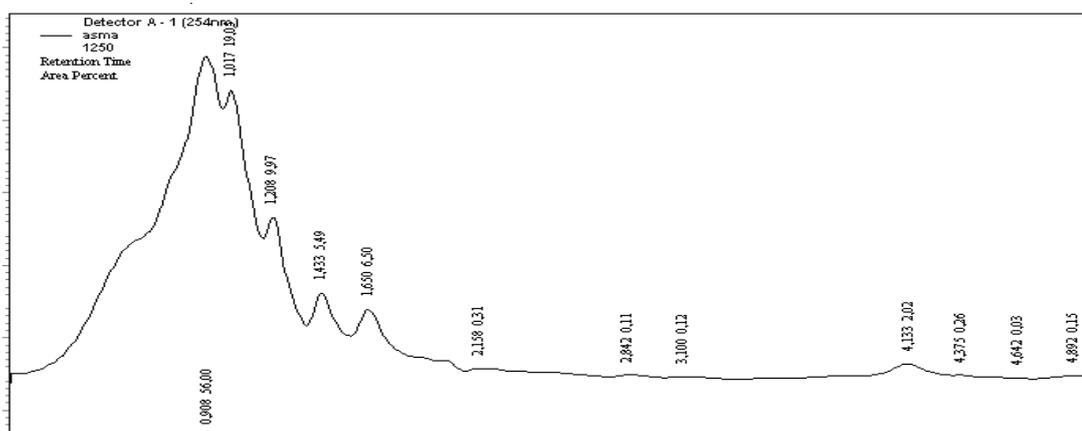


Figure 33. Chromatogramme d'HPLC d'extrait MeOH du *C.spinosa* enregistré à 254 nm, le système solvant est acétonitrile / eau bidistillée (25 / 75).



**Figure 34.** Chromatogramme d'HPLC d'extrait DCM du *C.spinosa* enregistré à 254 nm, le système solvant est acétonitrile / eau bidistillée (25 / 75).



**Figure 35.** Chromatogramme d'HPLC d'extrait Ep du *C.spinosa* enregistré à 254 nm, le système solvant est acétonitrile / eau bidistillée (25 / 75).

**Tableau 10.** Temps de rétention des standards analysés dans le système solvant est acétonitrile / eau bidistillée (25 / 75).

standards	TR (min)
l'acide caféique	1.53
l'acide gallique	1.37
catéchine	2.28
quercétine	1.95
rutine	1.07

**Tableau 11.** Temps de rétention des polyphénols présentes dans nos extraits, dans le système solvant acétonitrile / eau bidistillée (25 / 75).

Ep	TR (min)			Polyphénols probabl
	DCM	MeOH	Aq	
0.90	0.72	0.73	1.00	
1.01	0.93	0.92	<b>1.10</b>	Rut dans Aq
1.20	1.15	<b>1.10</b>	1.61	Rut dans MeOH
1.43	1.27	1.61	2.19	
1.65	1.45	1.73	2.49	
2.15	1.65	<b>1.95</b>	2.80	Qur dans MeOH
2.84	2.00	2.32	3.21	
3.10	2.10	2.51	3.87	
4.13	2.58	2.84	4.20	
4.37	2.85	3.25	4.60	
4.64	3.47	3.90		
4.89	3.75	4.85		
	4.06			
	4.41			
	4.83			

Les extraits des bourgeons à fleurs, fleurs et les fruits immatures, ont montré une richesse qualitative en différents composés phénoliques et en flavonoïdes.

Les résultats montrent la présence de la quercétine dans l'extrait MeOH et de la rutine dans les extraits MeOH et Aq. Nos résultats sont en accord avec Guiffrida *et al.*, (2002) qui révèlent en plus de quercétine et ses dérivés, la rutine comme un flavonoïde majoritaire du *C.spinosa*.

La présence de rutine dans les extraits de différentes parties du *C.spinosa*, a été corroborée par Ramezani *et al.*, (2008) et Tesoriere *et al.*, (2007).

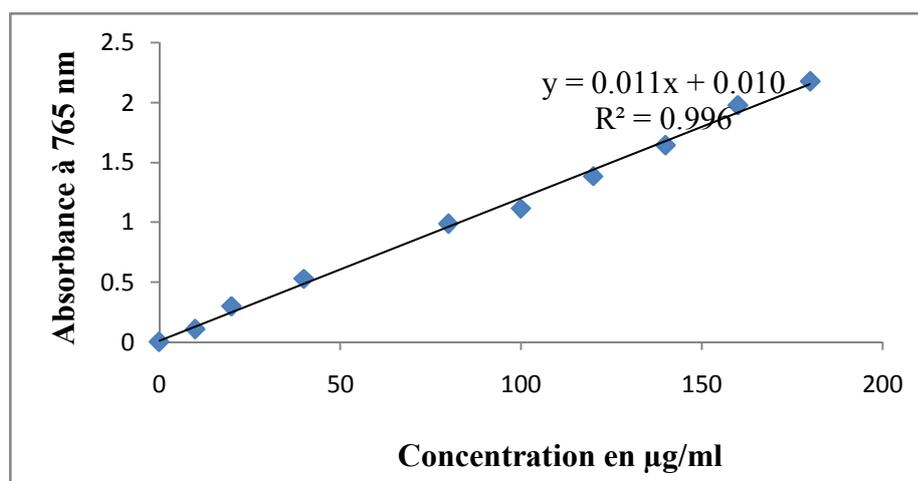
## II.4.2. Analyse quantitative des extraits du *Capparis spinosa*

Le choix de quantifier les polyphénols parmi les différents substances phytochimiques, réside de fait que les polyphénols ont des activités biologiques très importantes. De même pour les flavonoïdes qui sont considérés comme la classe la plus importante des polyphénols.

### II.4.2.1. Dosage des polyphénols et des flavonoïdes

La teneur en polyphénols totaux a été estimée par le réactif de Folin-Ciocalteu selon la méthode de Borneo *et al.*, (2009)

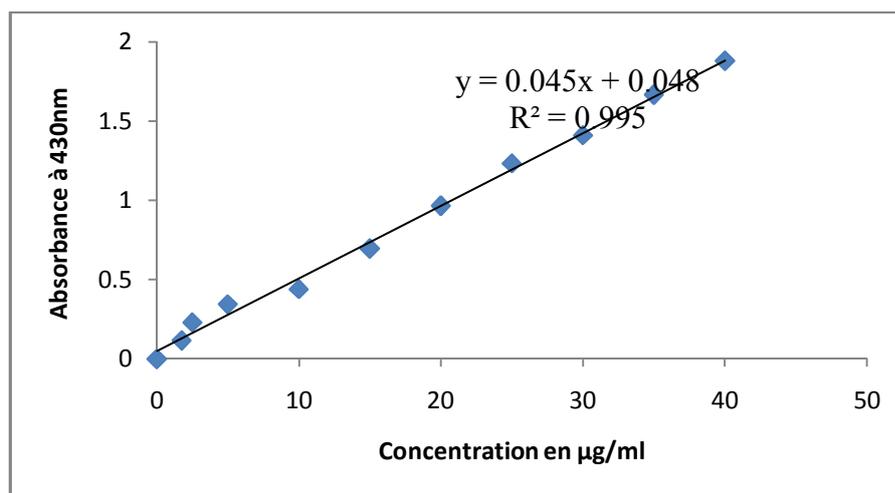
La courbe d'étalonnage a été tracée en utilisant comme standard l'acide gallique (0 – 200 mg/L). Tous les essais ont été réalisés en triple et la concentration des composés phénoliques totaux était déterminés à partir de droite d'étalonnage ( $y = 0.011x + 0.010$ ,  $R^2 = 0.996$ ) et exprimée en microgramme d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait ( $\mu\text{g}$  EAG/mg d'extrait).



**Figure 36.** Droite d'étalonnage d'acide gallique (moyenne  $\pm$  SD de trois mesures).

Le dosage des flavonoïdes totaux a été réalisé avec  $\text{AlCl}_3$ , la rutine a été employée comme standard selon la méthode de (Dohou *et al.*, 2003).

Les essais ont été réalisés en triple et les résultats étaient déterminés à partir de droite d'étalonnage ( $y = 0.045x + 0.048$ ,  $R^2 = 0.995$ ) et exprimés en microgramme d'équivalent de rutine par milligramme d'extrait ( $\mu\text{g}$  ER/mg d'extrait).



**Figure 37.** Droite d'étalonnage de la rutine (moyenne  $\pm$  SD de deux mesures)

Les résultats de dosage quantitatif des polyphénols et des flavonoïdes dans les quatre extraits sont résumés dans le tableau ci-dessous :

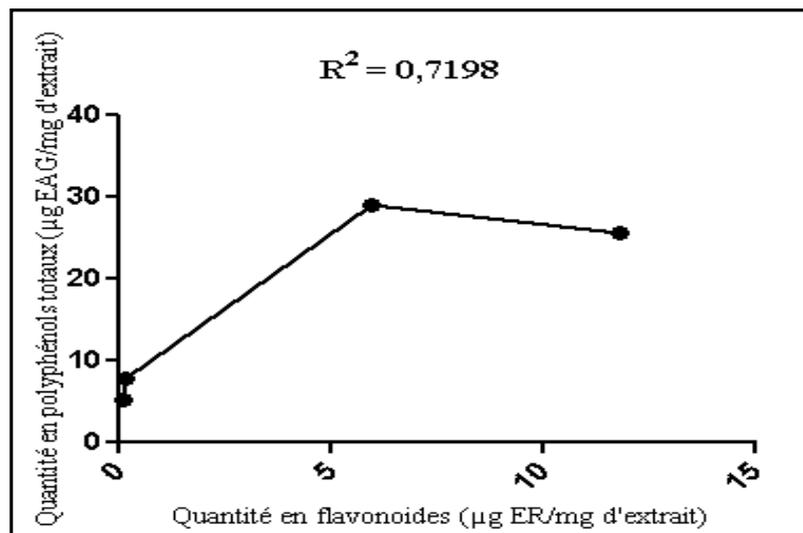
**Tableau 12.** Teneur des différents extraits de *Capparis spinosa* en polyphénols totaux

Extrait	Teneur en polyphénols totaux ( $\mu\text{g ER/mg d'extract}$ ).	Teneur en flavonoïdes ( $\mu\text{g ER/mg d'extract}$ ).
Ep	$05,30 \pm 0,78$	$00,08 \pm 0,03$
DCM	$07,76 \pm 0,41$	$00,15 \pm 0,05$
MeOH	$29,01 \pm 0,84$	$05,97 \pm 0,42$
Aq	$25,68 \pm 0,67$	$11,82 \pm 0,38$

Le taux élevé en polyphénols a été révélé dans l'extrait MeOH suivi par l'Aq puis le DCM et l'Ep et celui en flavonoïdes dans l'Aq puis l'extrait MeOH et les extraits apolaires.

D'après les résultats Cao *et al.*, (2010), le contenu en flavonoïdes de l'extrait éthanolique des fruits du *C. spinosa* est de  $5,439 \pm 0,736$  % (équivalent de la rutine). Nous pouvons dire que nos résultats le corroborent.

En outre, Bonina *et al.*, (2002) ont également trouvé que le LECS est riche en polyphénols ( $65,13 \pm 5,53$  mg/g (milligramme d'équivalent de rutine par gramme d'extrait)), valeur élevée par rapport à nos résultats, cette différence trouve son explication dans la différence des parties de la plante étudiée et probablement dans la différence en standard utilisé pour le dosage des polyphénols.



**Figure 38.** Corrélation linéaire entre la quantité en polyphénols totaux et la quantité des flavonoïdes des différents extraits de *Capparis spinosa*.

A  $p \leq 0.05$ , il n'y a pas de corrélation linéaire entre la quantité en polyphénols totaux et la quantité des flavonoïdes ( $R^2 = 0,719$ ).

## II.5. Tests des activités biologiques

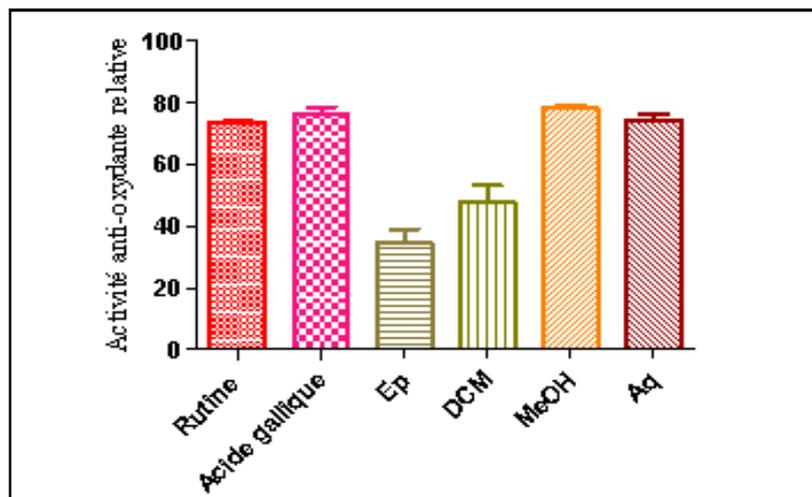
### II.5.1. Tests d'activité antioxydante

#### II.5.1.1. Effet scavenger du radical DPPH

Le DPPH est un radical libre organique utilisé pour évaluer l'activité antioxydante (Molyneux, 2004).

Dans ces essais, l'activité antioxydante de différents extraits a été révélée par le DPPH de couleur violette qui est réduit en composé de couleur jaune.

Nos résultats sont exprimés en tant que pourcentage de l'activité anti-radicalaire (Figure 39.), révèlent que tous les extraits ont un effet antioxydant.



**Figure 39.** Activité antioxydante des différents extraits de bourgeons à fleurs, fleurs et les fruits immatures du *C. spinosa*, de la rutine et de l'acide gallique.

A des fins comparatives, deux antioxydants de référence sont utilisés: la rutine et l'acide gallique, ils ont montré une activité antiradicalaire puissante avec des valeurs de 73,76% et 76,59% respectivement.

L'extrait MeOH des bourgeons à fleurs, fleurs et les fruits immatures du *C. spinosa* a présenté l'activité antiradicalaire la plus active (78,34%), suivie par l'extrait Aq avec une activité de 74,47%. Ces deux activités ne présentent pas une différence significative entre eux ni avec les standards ( $P < 0,05$ ).

L'activité antiradicalaire des extraits Ep et DCM (34,75% et 48,07% respectivement) est inférieure significativement ( $P < 0,05$ ) de control positif (soit la rutine ou l'acide gallique).

Les résultats de l'activité antiradicalaire obtenus sont en accord avec ceux de Bonina *et al.*, (2002) et Yu *et al.*, (2006). Ces derniers ont constaté que les extraits des bourgeons du *C. spinosa* ont montré des activités antioxydantes et antiradicalaires très fortes.

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

La teneur en polyphénols totaux des extraits des bourgeons à fleurs, fleurs et les fruits immatures du *C. spinosa* s'est corrélée significativement ( $R^2 = 0.967$ ) avec leurs activités antiradicalaires; ceci est logique dans le fait que la majorité des propriétés antioxydantes des plantes leur sont attribuées. Ces résultats se corroborent aux résultats mentionnés par Bonina *et al.*, (2002) et Borneo *et al.*, (2009).

L'activité antioxydante ne peut être attribuée seulement aux polyphénols, en plus des flavanols et l'acide hydroxycinnamique (Lam et Ng, 2009), les parties étudiées du *C. spinosa*

contiennent d'autres composés ayant un effet antioxydant tels que les tocophérols, les caroténoïdes, les flavonoïdes et les glucosinolates (Germano *et al*, 2002, Matthaus et Ozcan, 2005, Tlili *et al*, 2009 et Tlili *et al* 2010a,b).

### II.5.2. Test d'activité antimicrobienne

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des différents extraits des bourgeons à fleurs, fleurs et fruits du *Capparis spinosa* a été effectuée selon la méthode de diffusion en milieu gélosé, en mesurant les diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne pour chaque disque.

Les résultats obtenus sont résumés dans les tableaux ci-dessous:

**Tableau 13.** Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne par l'extrait Ep (mm)

Souches	Extrait Ep			
	1	1/2	1/4	1/8
<i>E. coli</i>	-	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-
<i>S. aureus.</i>	12,38 ± 0,88	12,33 ± 0,58	11,88 ± 0,18	10,17 ± 0,76

**Tableau 14.** Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne par l'extrait DCM (mm)

Souches	Extrait DCM			
	1	1/2	1/4	1/8
<i>E. coli</i>	09,51 ± 0,71	11,75 ± 0,35	-	-
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-
<i>S. aureus</i>	11,83 ± 0,29	11,42 ± 0,63	09,83 ± 0,29	-

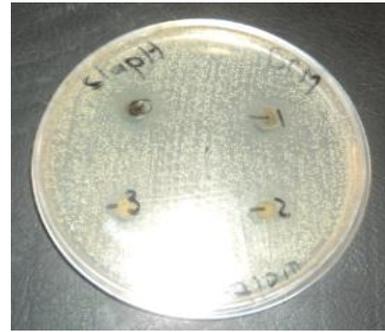
Ce qui concerne les extraits polaires; l'extrait MeOH a été révélé inactif sur tous les souches quelque soit la dose, de même pour l'extrait Aq qui a été révélé inactif sur les souches *E. coli* et *P. aeruginosa* quelque soit la dose, mais actif sur *S. aureus* avec une dose de 1g/ml et une zone d'inhibition de 09,50 ± 0,50. (Voir figure 40.).

L'extrait Ep semble avoir l'effet inhibiteur le plus puissant, parmi les quatre extraits, en présentant des zones d'inhibition de la croissance bactérienne dose dépendant avec la souche *S. aureus*.

De même pour l'extrait DCM qui montre une activité anti- *S. aureus* dose dépendante, mais cette activité est disparue avec la dose 125mg/ml. Cet extrait a été révélé actif sur *E. coli* et la zone d'inhibition a été mesurée de  $11,75 \pm 0,35$  avec une dose de 500mg/ml.



Zones d'inhibition de l'extrait Ep sur *S. aureus*



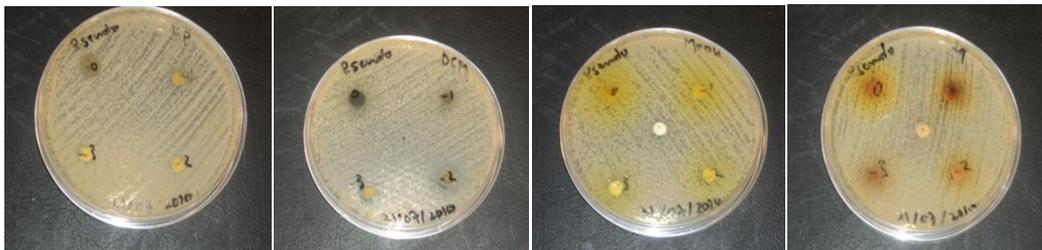
Zones d'inhibition de l'extrait DCM sur *S. aureus*



Zones d'inhibition de l'extrait MeOH sur *S. aureus*



Zones d'inhibition de l'extrait Aq sur *S. aureus*



Zones d'inhibition des extraits Ep, DCM, MeOH et Aq sur *P. aeruginosa*



Zones d'inhibition des extraits Ep, DCM, MeOH et Aq sur *E. coli*

**Figure 40.** Zones d'inhibition obtenues par les différents extraits de fleurs et fruits de *C. spinosa*. Les résultats présentent la moyenne de trois essais  $\pm$  SD et sont mesurées en mm. Un extrait est considéré comme actif lorsqu'il induit une zone d'inhibition supérieure ou égale à 6 mm.

En général, les extraits apolaires de bourgeons à fleurs, fleurs et les fruits immatures du *C. spinosa* a été révélé actif en induisant les diamètres de 09,50 à 12,38 mm sur *S. aureus*. A part l'extrait DCM qui présente une activité anti- *E. coli*, *P. aeruginosa* et *E. coli* sont résistants vis à vis de ces extraits. Ces résultats sont conformes avec ceux de Mahasneh (2002) sur les mêmes souches, où les extraits aqueux et éthanolique présentent des zones d'inhibition de 10 et 13mm respectivement sur *S. aureus*, alors qu'ils sont inactifs sur *P. aeruginosa* et *E. coli*, mais l'extrait butanolique présente des zones d'inhibition de 14, 15 et 12mm sur *S. aureus*, *E. coli* et *P. aeruginosa* respectivement.

Proestos *et al*, (2006) ont travaillé sur les feuilles de *C. spinosa*, et ils ont trouvé que cet extrait est inactif sur *E. coli* mais présente une activité louche sur *S. aureus*.

Des études faites sur quelques espèces du genre *Capparis* montrent que *C. decidua* a l'activité la plus importante, où les extraits d'écorces de racines présentent une activité contre *P. aeruginosa*, *S. aureus* et *E. coli* (Rathee *et al*, 2010, Tlili *et al*, 2010a et Upadhyay *et al*, 2010).

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

Les alcaloïdes sont reconnus pour leur pouvoir antibactérien élevé (Scazzocchio *et al.*, 2001 ; Muster et Ben Slama , 2004 et Marzouk *et al*, 2009). Ces alcaloïdes présents dans nos extraits apolaires pourraient être en partie responsables de l'activité antibactérienne obtenue.

Selon Marzouk *et al.*, (2009), l'activité antibactérienne ne peut être attribuée à la présence d'une seule famille de composés phytochimiques ou son absence, puisque les tanins (Ayaz *et al.*, 2008), les stéroïdes (Khan *et al.*, 2007), les pigments (Fogliani *et al.*, 2005; Eyong *et al.*, 2006), les flavonoïdes (Fogliani *et al.*, 2005), les alcaloïdes (Yan *et al.*, 2008) et les iridoïdes (dans l'extrait aqueux) (Akunvili *et al.*, 1991) toutes présentent un effet antimicrobien contre une gamme large de micro-organismes.

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

## Conclusion

Ces dernières années, il y a eu un intérêt croissant sur l'étude des plantes sauvages utilisées localement comme condiment ou traitement traditionnel, pour des fins médicales et pharmacologiques. Dans ce contexte s'inscrit ce travail.

Ce travail avait pour objectif l'étude phytochimique et l'évaluation des activités antioxydantes et antibactériennes des extraits des bourgeons à fleurs, fleurs et les fruits immatures du *Capparis spinosa*.

Du point de vue screening phytochimique, nous avons réalisé des extractions Ep, DCM, MeOH et Aq à partir des bourgeons à fleurs, fleurs et les fruits immatures du *C. spinosa*, et le plus grand rendement était observé dans le MeOH (21,58%), par contre le plus faible dans l'Ep (0,73%). Des tests de caractérisation ont été effectués sur ces extraits révélant la présence des flavonoïdes et des alcaloïdes et l'absence des tanins.

Les analyses qualitatives des polyphénols et flavonoïdes par chromatographie (CCM et HPLC) ont montré la présence de la quercétine et de la rutine et l'absence de l'acide caféique, l'acide gallique et la catéchine.

Les analyses quantitatives des polyphénols et flavonoïdes réalisés par le dosage spectral ont révélé la richesse des extraits polaires par rapport aux extraits apolaires.

Le test antioxydant nous a permis de conclure que les extraits Aq et MeOH ont une forte activité antiradicalaire liée au contenu en polyphénols.

En ce qui concerne l'activité antibactérienne, les bourgeons à fleurs, fleurs et les fruits immatures du *Capparis spinosa* semble avoir une activité anti-*S. aureus*, mais pas contre *E. coli* et *P. aeruginosa*.

En effet, les résultats obtenus lors de la réalisation de ce travail ne constituent qu'une première étape dans la valorisation de cette espèce, des essais complémentaires seront nécessaires.

En fin, par ce travail nous espérons apporter notre modeste contribution à la valorisation des plantes médicinales Algériennes.

## Références bibliographiques

- Abdel-Salam A. M., El-Ziney M. G., Zaghoul A. H., Babiker A. Y. et Mousa H. M.** (2009). The effectiveness of whey proteins mixed with hot-water extract of *Artemisia* and *Capparis* spp. against lead acetate-contamination in rats. *Journal of Food, Agriculture & Environment*. 7 (3&4): 1 3 9 - 1 4 4.
- Aderogba M. A., Okoh E. K., Idowu T.O.** (2005). Evaluation of the antioxidant activity of the secondary metabolites from *Piliostigma reticulatum* (DC) Hochst. *J. Bio. Sci.* 5(2): 239-242.
- Aghel N., Rashidi I. et Mombeini A.** (2007). Hepatoprotective Activity of *Capparis spinosa* Root Bark Against CCl<sub>4</sub> Induced Hepatic Damage in Mice. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 6 (4): 285-290.
- Akunvili D. N., Houghton P. J. et Kaman A.** (1991). Antimicrobial activities of the stem bark of *Kigelia pinnata*. *Journal of Ethnopharmacology*. 12: 331–333.
- Ali-Shtayeh, M. S. et Abu-Ghdeib S. I.** (1999). Antifungal activity of plant extracts against dermatophytes. *Mycoses*, 42: 665-672.
- Al-Said M. S., Abdelsattar E. A., Khalifa S. I. et El-Ferally F. S.** (1988). Isolation and identification of an anti-inflammatory principle from *Capparis spinosa*. *Pharmazie*, 43: 640-641.
- Angelini G., Vena G. A., Filotico R., Foti C. et Grandolfo M.** (1991). Allergic contact dermatitis from *Capparis spinosa* L. applied as wet compresses. *Contact Dermatitis*, 24(5): 382-383.
- Aniyathi M. J. A., Latha P. G., Manikili P., Suja S. R., Shyamal S., Shine V. J., Sini S., Anuja G. I., Shikha P., Vidiadharan M. K. et Rajasekharan S.** (2009). Evaluation of hepatoprotective activity of *Capparis brevispina* DC. Stem bark. *Naturel Product Radiance*. 8(5): 514 - 519.
- Arena A., Bisignano G., Pavone B., Tomaino A., Bonina F. P., Saija A., Cristani M., D'Arrigo M. et Trombetta D.** (2008). Antiviral and immunomodulatory effect of a lyophilized extract of *Capparis spinosa* L. buds. *Phytother. Res.* 22, 313–317.
- Arslan R., Bektas N. et Ozturk Y.** (2010). Antinociceptive activity of methanol extract of fruits of *Capparis ovata* in mice. *Journal of ethnopharmacology*.131: 28 -32.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC).** (1984). Official Methods of Analysis' of the Association of Official Analytical Chemist International. S. Williams (Ed), 14th Ed. AOAC International, Arlington, Virginia, USA.
- Audigie C-L., Figarella J. et Zonszain F.** (1978). Manipulation biochimique. Doin (Ed). Paris, 274p.
- Ayaz A. F., Hayirlioglu-Ayaz S., Alpaya-Karaoglu S., Grúz J., Valentová K., Ulrichová J. et Strnad M.** (2008). Phenolic acid contents of Kale (*Brassica oleraceae* L. var. acephala DC) extracts and their antioxidant and antibacterial activities. *Food Chemistry*. 170: 19–25.
- Aytac Z., Kinaci G. et Ceylan A.** (2009). Yield and some morphological characteristics of caper (*Capparis spinosa* L.) population cultivated at various slopes in Aegean ecological conditions. *Pak. J. Bot.* 41(2): 591 – 596.
- Barouki R. et Morel Y.** (2001). Repression of cytochrome P450 1A1 gene expression by oxidative stress: mechanisms and biological implications. *Biochem Pharmacol* . 61 : 511- 516.
- Barouki R.** (2006). Stress oxydant et vieillissement. *MEDECINE/SCIENCES*. 22 : 266-272.

- Beaudeau J. L. et Vasson M. P.** (2005). Sources cellulaires des espèces réactives de l'oxygène. In : Delattre JB, Bonnefont-Rousselot D, eds. *Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et pathologiques*. Paris : Lavoisier. 45-86.
- Beckman K. B. et Ames B. N.** (1999). Endogenous oxidative damage of mtDNA. *Mutat Res.* 424 : 51- 58.
- Bélangier G.**(2009). CHIMIE ORGANIQUE HÉTÉROCYCLIQUE COR 706. Département de chimie Faculté des sciences UNIVERSITÉ DE SHERBROOKE. p 2, 34.
- Beniston NT et WS.** (1984). FLEUR D'ALGERIE. Entreprise nationale du livre, Algie. N° d'édition: 1822/84. p 303.
- Benseghir L. A.** (1988). Notes sur le Câprier épineux. Institut National De La Recherche Forestiere. p 6.
- Benseghir-Boukhari L. A. et Seridi R.** (2007). Le câprier, une espèce arbustive pour le développement rural durable en Algérie. *Méditerranée.* 109: 100-105.
- Blache D.** (2001). Rôle bénéfique des polyphénols et du resvératrol du vin. Dans: Les polyphénols des fruits et légumes : un atout pour vieillir en bonne santé. Contacts presse : APRIFEL. DOSSIER DE PRESSE 20 Novembre 2003. p 23-25.
- Bnouham M., Mekhfi H., Legssyer A. et Ziyat A.** (2002). Medicinal plants used in the treatment of diabetes in Morocco. *Int J Diabetes & Metabolism.* 10 (33): 50 – 33.
- Boizot N. et Charpentier J-P.** (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le Cahier des Techniques de l'Inra, Numéro spécial.* 79-82.
- Bonina F., Puglia C., Ventura D., Aquino R., Tortora S., Sacchi A., Saija A., Tomanio A., Pellegrino M.L. et De Carparis P.** (2002). In vitro antioxidant and in vivo photoprotective effects of a lyophilized extract of *Capparis spinosa* L. buds. *Journal of Cosmetic Science.* 53:321-335.
- Bonnefont-Rousselot D.** (2007). Stress oxydant et vieillissement. *SPECTRA BIOLOGIE.* 157:23-26.
- Borneo R., Leon A.G., Aguirre A., Ribotta P. et Cantero J.J.** (2009). Antioxidant capacity of medicinal plants from the Province of Cordoba (Argentina) and their *in vitro* testing in a model food system. *Food Chemistry.* 112: 664 – 670.
- Bourkhiss M., Hnach M., Bourkhiss B., Ouhssine M., Chaouch A. et Satrani B.** (2009). Effet de séchage sur la teneur et la composition chimique des huiles essentielles de *Tetraclinis articulata (Vahl)* Masters. *AGROSOLUTIONS.* 20 (1):44-48.
- Bown D.** (1995). Encyclopaedia of Herbs and their Uses, Dorling Kindersley, London, ISBN 0-7513-020-31.
- Bruneton J.** (1999). Pharmacognosie: phytochimie, plantes médicinales. 3<sup>ème</sup> édition. TEC & DOC. p 227, 228.
- Cao Y. L., Li X. et Zheng M.** (2010). *Capparis spinosa* protects against oxidative stress in systemic sclerosis dermal fibroblasts. *Arch Dermatol Res.* 302: 349 – 355.
- Caruso M., Frasca G., Di Giuseppe P. L., Pennisi A., Tringali G. et Bonina F. P.** (2008). Effects of a new nutraceutical ingredient on allergen-induced sulphidoleukotrienes production and CD63 expression in allergic subjects. *International Immunopharmacology.* 8: 1781–1786.

- Chevallier A.** (1996). The Encyclopedia of Medicinal Plants. Dorling Kindersley, London.
- Chopra R. N., Nayar S. C. et Chopra I. C.** (1986). Glossary of Indian Medicinal Plants (National Institute of Scientific and Industrial Research, New Delhi).
- Covas M. I., Nyyssonen K., Poulsen H. E., Kaikkonen J., Zunft H. J., Kiesewetter H., Gaddi A., De la Torre R., Mursu J., Baumler H., Nascetti S., Salonen J. T., Fito M., Virtanen J., Marrugat J. et Group E. S.** (2006). The effect of polyphenols in olive oil on heart disease risk factors: a randomized trial. *Ann Intern Med.* 145: 333 - 341.
- Cuvelier C., Dotreppe O. et Istasse L.** (2003). Chimie, sources alimentaires et dosage de la vitamine E. *Ann. Méd. Vet.* 147: 315 – 324.
- D'Archivio M., Filesi C., Di Benedetto R., Gargiulo R., Giovannini C. et Masella R.** (2007). Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Ann Ist Super Sanità* . 43(4): 348-361.
- Dacosta Y.** (2003). Les phytonutriments bioactifs. Edition YVES DACOSTA. Paris. p 3, 7, 26, 31, 34.
- Delbosc S., Morena M., Badiou S., Araiz C., Dupuy A-M. et Cristol J-P.** (2003). La NADPH oxydase : enzyme clé du stress oxydant et cible thérapeutique potentielle. *Médecine thérapeutique Cardiology.* 1(3): 147 – 155.
- Demir Y., Güngör A. A., Duran E. D. et Demir N.** (2008). Cysteine Protease (Capparin) from Capsules of Caper (*Capparis spinosa*). *Food Technol. Biotechnol.* 46 (3): 286–291.
- Diallo D., Sanogo R., Yasambou H., Traoré A., Coulibaly K. et Maïga A.** (2004). Étude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam.(Rhamnaceae), utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali. *C. R. Chimie.* 7 : 1073–1080.
- DIALLO A. M.** (2005). Etude des plantes médicinales de Niafunke (région Tombouctou), phytochimie et pharmacologie de *Maerua crassifolia* Forsk. (Capparidacée). *These de doctorat.* Université de BAMAKO.MALI. p 7.
- Dohou N., Yamni K., Tahrouch S., Idrissi Hassani L. M., Badoc A. et Gmira N.** (2003). Screening phytochimique d'une endémique Ibéro-Marocaine, *Thymelaea lythroides*. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux.* 142: 61-78.
- Douieb H. et Benlemlih M.** (2010). Improvement organoleptic qualities of fermented caper through an experimental factorial design *Capparis spinosa* L. *Internet Journal of Food Safety*, 12: 35-44.
- Dramane S., Witabouna K. M. et Kagoyire K.** (2010). Evaluation des activités antimicrobiennes et anti-radicaux libres de quelques taxons bioactifs de Côte D'Ivoire. *European Journal of Scientific Research.* 40(2): 307 – 317.
- Droge W.** (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev.* 82: 47-95.
- Eddouks M., Lemhadri A. et Michel J. B.** (2004). Caraway and caper: potential anti-hyperglycaemic plants in diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.* 94, 143–148.
- Eddouks M., Lemhadri A. et Michel J. B.** (2005). Hypolipidemic activity of aqueous extract of *Capparis spinosa* L. in normal and diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.* 98, 345–350.
- Eyong K. O., Folefoc G. N., Kuete V., Beng V. P., Krohn K., Hussain H., Nkengfack A. E, Saeftel M., Sarite S. R. et Hoerauf A.** (2006). Newbouldiaquinone A: anaphthoquinone–anthraquinone ether coupled pigment, as a potential antimicrobial agent from *Newbouldia laevis*. *Phytochemistry.* 67: 605 – 609.

- Favier A.** (2006). Stress oxydant et pathologie humaine. *Ann Pharm. Fr.* 64 : 390- 396.
- Finkel T.** ( 2003). Oxidant signals and oxidative stress. *Curr Opin Cell Biol.* 15 : 247- 254.
- Fogliani B., Raharivelomanana P., Bianchini J. P., Bouraima-Madjèbi S. et Hnawia E.** (2005). Bioactive ellagitannins from *Cunonia macrophylla*, an endemic Cunoniaceae from New Caledonia. *Phytochemistry.* 66: 241 – 247.
- Fu X. P., Tao W., Miriban A., Zhen S., Xue L. H., Haji Akber A. et Hankui W.** (2008). New spermidine alkaloids from *Capparis spinosa* roots. *Phytochemistry Letters.* 1: 59–62.
- Gadgoli C. et Mishra S. H.** (1999). Antihepatotoxic activity of p-methoxybenzoic acid from *Capparis spinosa*. *J. Ethnopharmacology.* 66: 187- 192.
- Gardès-Albert M., Bonnefont-Rousselot D., Zohreh A. et Jore D.** (2003). Espèces réactives de l’oxygène: Comment l’oxygène peut-il devenir toxique ? *L’actualité chimique - novembre-décembre.* 91-96.
- Gardès-Albert M., Jore D.** (2005). Aspects physicochimiques des radicaux libres centrés sur l’oxygène. In : Delattre JB, Bonnefont-Rousselot D, eds. Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et pathologiques. Paris : Lavoisier. p : 1-23.
- Germano, M. P., De Pasquale R., D'Angelo V., Catania S., Silvari V. et Costa C.** (2002). Evaluation of extracts and isolated fraction from *Capparis spinosa* L. buds as antioxidant source. *J. Agric. Food Chem.* 50: 1168-1171.
- Ghedira K.** (2005). Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie.* 3(4):162-169.
- Ghule B. V., Murugananthan G. et Yeole P. G.** (2007). Analgesic and antipyretic effects of *Capparis zeylanica* leaves. *J. Fitoterapia.* 78(5): 365-369.
- Gibault T.** (2001). Flavonoïdes et coeur : un couple bien assorti. Dans: Les polyphénols des fruits et légumes : un atout pour vieillir en bonne santé. Contacts presse : APRIFEL. DOSSIER DE PRESSE. 20 Novembre 2003. p 26-29.
- Giuffrida D., SALVO F., Ziino M. et Toscano G.** (2002). Initial investigation on some chemical constituents of capers (*Capparis spinosa* L.) from the Island of Salina. *Ita . J. Food Sci.* 1(14):25-33.
- Gülçin I., Bursal E., Sehitoglu M. H., Bilsel M. et Gören A. C.** (2010). Polyphenol contents and antioxidant activity of lyophilized aqueous extract of propolis from Erzurum, Turkey. *Food and Chemical Toxicology.* 48: 2227 – 2238.
- Gupta V. K., Darokar M. P., Shanker K., Negi A. S., Srivastava S. K., Gupta M. M. et Khanuja S. P. S.** (2006). Rapid and sensitive HPLC method for the determination of polyphénols in various lichen species of Himalayan origin. *J. Liquid Chromatography Related Technologies.* 30: 97 – 111.
- Gyan P., Mishra, Bhojar M. et Singh S. B.** (2009). *Capparis spinosa*: unconventional potential food source in cold arid deserts of Ladakh. *CURRENT SCIENCE.* 96 (12) : 1563-1564.
- Halliwell B. et Whiteman M.** (2004). Measuring reactive species and oxidative damage *in vivo* and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *British Journal Of Pharmacology.* 142: 231 – 255.
- Halliwell B.** (2009). The wanderings of a free radical. *Free Radicals in Biology and Medicine.* 46: 531 – 542.

- Huseini H. F., Alavian S. M., Heshmat R., Heydari M. R. et Abolmaali K.** (2005). The efficacy of Liv-52 on liver cirrhotic patients: a randomized, double-blind, placebo controlled first approach. *Phytomedicine*. 12: 619-24.
- Inocenio C., Rivera D., Obon M. C., Alcaraz F. et Barrena J-A.** (2006). A systematic revision of *Capparis* section *Capparis* (Capparaceae). *Ann Mo Bot Gar*. 93:122 – 149.
- Jacobson R.L. et Schlein Y.** (1999). Lectins and toxins in the plant diet of *Phlebotomus papatasi* (Diptera: Psychodidae) can kill *Leishmania major* promastigotes in the sandfly and in culture. *Ann. Trop. Med. Parasitol*. 93, 351–356.
- Jiang H. E., Li X., Ferguson D. K., Wang Y. F., Liu C. J. et Li C. S.** (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.
- Jones C. M., Lawrence A., wardman P. et Burkitt M. J.** (2003). Kinetics of superoxide scavenging by glutathione: an evaluation of its role in the removal of mitochondrial superoxide. *Biochemical Society Transactions*. 31(6): 1337 - 1339.
- Kadik B.** (1986). Contribution à l'étude du Pin d'Alep (*Pinus halepensis*MILL.) en Algérie : Écologie, dendrométrie, morphologie, Office des Publications Universitaires, Alger, 580 p.
- Kenny L.** (1997). Le câprier: importance économique et conduite technique. *Bulletin de Transfert de Technologie en Agriculture*. 37: 1-12.
- Khan N. S., Jin Kim B. et Kim H. S.** (2007). Synthesis and antimicrobial activity of 7-fluoro-3-aminoseroids. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*. 17: 5139–5142.
- Kinoshita T., leep Z. et Chuman H.** (2005). Construction of a novel database for flavonoids. *The Journal of Medical Investigation*. 52: 291 – 292.
- Knowles L. M., Zigrossi D. A., Tauber R. A., Hightower C. et Milner J. A.** (2000). Flavonoids suppress androgen-dependent human prostatic tumor proliferation. *Nutr Cancer*. 38: 116–122.
- Koehlin-Ramonatxo C.** (2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*. 20: 165 – 131.
- Kohen R. et Nyska A.** (2002). Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxydants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicol Pathol*. 30 : 620 - 650.
- KonKon N. G., Simaga D., Adjougoua A. L., N'guessan K. E., Zirihi G. N. et Koné B. D.** (2006). Etude pytochimique de *Mitrgyna inermis* (Wild.) OKTZE (Rubiaceae), plante à feuille antidiabétique. *Pharm. Méd. Trad. Afr*. XIV: 73 – 80.
- Kouamé J., Gnoula C., Palé E., Bassolé H., Guissou I. P., Simporé J., Nikiéma J. B.** (2009). Etude des propriétés cytotoxiques et anti-radicalaires d'extraits de feuilles et de galles de *Guiera senegalensis* J. F. Gmel (Combretaceae). *Science et technique, Sciences de la santé*. 32 (1 et2) : 9 - 23.
- Kuntz S., Wenzel U. et Daniel H.** (1999). Comparative analysis of the effects of flavonoids on proliferation, cytotoxicity, and apoptosis in human colon cancer cell lines. *Eur J Nutr*. 38: 133–142.
- Lam S-K. et Ng T-B.** (2009). A protein with antiproliferative, antifungal and HIV-1 reverse transcriptase inhibitory activities from caper (*Capparis spinosa*) seeds. *Phytomedicine*. 16:444 – 445.

**Liu Y. Q., Wang C. H. et Wang Z. T.** (2008). Advances on investigation of chemical constituents, pharmacological activities and clinical applications of *Capparis spinosa*. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. 33(21):2453-8.

**Lopez-Lazaro M.** (2009). Distribution And Biological Activities Of The Flavonoids Luteolin. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*. 9:31-59.

**Mahasneh, A. M.** (2002). Screening of some indigenous Qatari medicinal plants for antimicrobial activity. *Phytother. Res*. 16: 751–753.

**Maiza K., Brac De LA Perriere A. et Hammiche V.** (1993). Pharmacopée traditionnelle saharienne Sahara septentrional. *MÉDICAMENTS ET ALJMENTS : L'APPROCHE ETHNOPHARMACOLOGIQUE*. Actes du 2e colloque européen d'ethnopharmacologie, Heidelberg 24 et 27 mars 1993: 169-171.

**Marc F., Davin A., Deglène-Benbrahim L., Ferrand C., Baccaunaud M. et Fritsch P.** (2004). Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *médecine sciences*. 20(4):458-463.

**Maridass M.** (2010). Survey of Phytochemical diversity of Wild Plants in Tirunelveli Hills, Western Ghats, South India. *International Journal of Advances in Pharmaceutical Sciences*. 1: 128 – 132.

**Marouf . A.** (2002). Analyse instrumentale à l'usage des biologistes . 2eme édition Dar el Gharb . Oran P.17 – 24.

**Marrugat J., Covas M. I., Fito M., Schroder H., Miro-Casas E., Gimeno E., Lopez-Sabater M. C. De la Torre R. et Farre M.** (2004). Effects of differing phenolic content in dietary olive oils on lipids and LDL oxidation - a randomized controlled trial. *Eur J Nutr* . 43: 140 - 147.

**Marzouk B., Marzouk Z., Décor R., Edziri H., Haloui E., Fenina N. et Aouni M.** (2009). Antibacterial and anticandidal screening of Tunisian *Citrullus colocynthis* Schrad. from Medenine. *Journal of Ethnopharmacology*. 125: 344–349

**Matthous B. et Ozcan M.** (2005) Glucosinolates and fatty acid, sterol, and tocopherol composition of seed oils from *Capparis spinosa* Var. *spinosa* and *Capparis ovata* Desf. Var. *canescens* (Coss.) Heywood. *J Agric Food Chem*. 53(18):7136-41.

**Middleton E. J. et Kandaswami C.** (1992). Effects of flavonoids on immune and inflammatory cell functions. *Biochem Pharmacol*. 43: 1167 –1179.

**Molyneux P.** (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakar J. Sci. Technol*. 26(2) : 211-219.

**Morel Y. et Barouki R.** (1998). Influence du stress oxydant sur la régulation des gènes. *Med Sci (Paris)*. 14: 713 – 721.

**Morel Y. et Barouki R.** (1999). Repression of gene expression by oxidative stress. *Biochem J*. 342 : 481- 496.

**Moroh J. L. A., Bahi C., Dje K., Loukou Y. G. et Guede-Guina F.** (2008). Etude de l'activité antibactérienne de l'extrait acétique (EAC) de *Morina morindoides* (Baker) milne-redheat (rubiaceae) sur la croissance *in vitro* des souches d'E.coli. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de liège*. 77: 44 – 61.

**Mukhtar H., Das M., Khan W. A. et Bik D. P.** (1988). Exceptional activity of tannic acid among naturally occurring plant phenols in protecting against 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-

benzo(a)pyrene-, 3-methylcholanthrene-, and N-methyl-N-nitrosourea- induced skin tumorigenesis in mice. *Cancer Res.* **48**: 2361–2365.

**Muster D. et Ben Slama L.** (2004). Thérapeutique médicale buccodentaire: moyens et méthodes. Publié par Elsevier Masson, 2004 ISBN 2842995651, 9782842995652, 290 p.

**Ou B., Hung D., Hampsch-Woodill M., Flanagan J. A. et Deemer E. K.** (2002). Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: a comparative study. *J. Agri. Food Chem.* **50**: 3122 – 3128.

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

**Ozcan M.** (2005). Mineral composition of different parts of *Capparis ovata* Desf. Growing wild in Turkey. *J. Med. Food.* **8**: 405-407.

**Özlem Sultan A. et Aşkin Çelik T.** (2009). Genotoxic and Antimutagenic Effects of *Capparis spinosa* L. on the *Allium cepa* L. Root Tip Meristem Cells. *CARYOLOGIA* . **62(2)**: 114-123.

**Panico A. M., Cardile V., Garufi F., Puglia C., Bonina F. et Ronsisvalle G.** (2005). Protective effect of *Capparis spinosa* on chondrocytes. *Life Sci.*; **77(20)**: 2479-88.

**Paris M, Bouket A et Paris R.** (1969). Sur les flavonoïdes du *Fagara laurentii* de Wild. Isolement d'une flavonoïde identifiée à l'hésperidoside. *Plantes médicinales et phytothérapie.* **III (2)**: 123 – 131.

**Patel B, Das S., Prakash R. et Yasir M.** (2010). Natural Bioactive Compound with Anticancer Potential. *International Journal of Advances in Pharmaceutical Sciences.* **1**: 32-41.

**Pelli K. et Lyly M.** (2000). Les antioxydants dans l'alimentation. Institut National de la Recherche Agronomique – France. p 8 et 16.

**Pietta P-G.** (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products.* **63**: 1035–1042.

**Pincemail J., Meurisse M., Limet R. et Defraigne J. O.** (1999). Méthodes d'évaluation du stress oxydatif chez l'homme: importance en matière de prévention. *MEDI SPHERE.* **95**: 1-4.

**Pincemail J., Defraigne J. O. et Limet R.** (2001). Vitamines, acides gras et prévention de maladies cardiovasculaires. *MEDI SPHERE.* **130**: 1-3.

**Polkowski K. et Mazurek A. P.** (2000). Biological properties of genistein. A review of in vitro and in vivo data. *Acta Pol Pharm Drug Res.* **57**: 135–155.

**Proestos C., Boziaris I. S., Nychas G-J. E. et Komaitis M.** (2006). Analysis of flavonoids and phenolic acids in Greek aromatic plants: Investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity. *Food Chemistry.* **95**: 664 – 671.

**Quezel P. et Santa S.** (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et régions désertiques méridionales. Tome 1. Centre national de la recherche, Paris, 570 p.

**Radu L. O., Armand S., Lenouve F., Driguez H. et Iordachescu D.** (2006). Évaluation de l'activité de transglycosylation de la cyclodextrine glycosyltransférase de *Bacillus circulans* sur l'hésperidine en milieux de solvants organiques. *Romanian J. Biophys.* **16(1)**: 1–8.

- Rajesh P., Selvamani P., Latha S., Saraswathy A. et Rajesh Kannan V.** (2009). A review on chemical and medicobiological applications of capparidaceae family. *Phcog Rev.* 3(6):378-87.
- Ramezani Z., Aghel N. et Keyghobadi H.** (2008) Rutin from different parts of *Capparis spinosa* growing wild in Khuzestan/Iran. *Pak J Biol Sci.*;11(5):768-72.
- Rathee S., Rathee P., Rathee D. et Kumar V.** (2010). Phytochemical and pharmacological Potential of Kair (*Capparis Decidua*). *International Journal of Phytomedicine.* 2: 10 – 17.
- Raven Evert et Eichorn.** (2000). Biologie végétale. 6<sup>ème</sup> édition. De Boeck université. Paris. p 32.
- Ribéreau-Gayon J. et Peynaud E.** (1968). Les composés phénoliques des végétaux. Traité d'oenologie. Paris : Édition Dunod, 254 p.
- Rice-Evans C. A., Miller N. J. et Paganga G.** (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science.* 2: 152–159.
- Richter G.** (1993). Métabolisme secondaires des végétaux, physiologie et biochimie. Presses polytechniques et universitaires romandes, CH – 1015 Lausanne. p viii, 436, 437.
- Rodrigo M., Lazaro M.J., Alvarruiz A. et Giner V.** (2006). Composition of Capers (*Capparis spinosa*): Influence of Cultivar, Size and Harvest Date. *Journal of Food Science.* 57(5): 1152-1154.
- Romeo V., Ziino M., Giuffrida D., condurso C. et Verzera A.** (2007). Flavour profile of capers (*Capparis spinosa* L) from the Eolian Archipelago by HS-SPME/GC-MS. *Food chemistry.* 101: 1272-1278.
- Scalbert A., Manach C., Morand C., Remesy C. et Jimenez L.** (2005). Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Crit Rev Food Sci Nutr*;45:287-306.
- Scalbert A.** (2003). Les polyphénols végétaux: des molécules aux atouts multiples. Dans: Les polyphénols des fruits et légumes : un atout pour vieillir en bonne santé. Contacts presse : APRIFEL. DOSSIER DE PRESSE 20 Novembre 2003. p 4-7.
- Scambia G., Raneletti F. O., Panici P. B. et al.** (1992). Inhibitory effect of quercetin on primary ovarian and endometrial cancers and synergistic activity with cis diamminedichloroplatinum (II). *Gynecol Oncol.* 45: 13–19.
- Scambia G., Ranelletti F. O., Panici P. B. et al.** (1994). Quercetin potentiates the effect of adriamycin in a multidrug-resistant MCF-7 human breast-cancer cell line: P-glycoprotein as a possible target. *Cancer Chemotherapy Pharmacol.* 34: 459–464.
- Scazzocchio F., Cometa M. F., Tomassini L. et Palmery M.** (2001). Antibacterial activity of *Hydrastis canadensis* extract and its major isolated alkaloids. *Planta medica.* 67 (6): 561-564.
- Schini-kerth V.** (2010). Effets vasculaires des flavonoïdes alimentaires et leurs mécanismes d'action. *CR / Séance thématique / Flavonoïdes / 27.01.2010:* 1-6.
- Schutz C., Grousson J. et Lennon P.** (2005). New caper bud active targets inflammation. *Cosmetic Science Technology.* 4 :1-6.
- Sessiz A., Esgici R. et Kizil S.** (2007). Moisture-dependent physical properties of caper (*Capper ssp.*) fruit. *Journal of Food Engineering.* 79: 1426 – 1431.
- Sharaf M., Al-Ansari M. A. et Saleh N. A. M.** (1997). Flavonoids of four cleome and three *Capparis* species. *Biochem. Syst. Ecol.* 26: 577- 580.

**Sharaf M., el-Ansari M. A. et Saleh N. A. M.** (2000). Quercetin triglycoside from *Capparis spinosa*. *Fitoterapia*. 71(1):46-49.

**Sher H. et Alyemeni M. N.** (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, et Rossi J. A.** (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic* 16:144-158.

**STOCLET J-C.** (2010). Effets sur la santé des flavonoïdes alimentaires : données scientifiques établies et hypothèses. *CR / Séance thématique / Flavonoïdes / 27.01.2010* 5,6/6.

**Svobodová A., Postová J. et Walterová D.** (2003). Naturel phenolics in the prevention of UV-induced skin damage. A review. *Biomed. Papers.* 147(2): 137 – 145.

**Tesoriere L., Butera D., Gentile C., Livrea M. A.** (2007). Bioactive components of caper (*Capparis spinosa* L.) from Sicily and antioxidant effects in a red meat simulated gastric digestion. *J Agric Food Chem.* 17;55(21):8465-8471.

**Tibiri A., Sawadogo R. W. et Ouedraogo N.** (2010). Evaluation of Antioxidant Activity, Total Phenolic and Flavonoid Contents of *Entada africana* Guill. et Perr. (Mimosaceae) Organ Extracts. *Research Journal of Medical Sciences.* 4(2): 81 – 87.

**Tlili N., Elfalleh W., Saadaoui E., Khaldi A., Triki S. et Nasri N.** (2010a). The caper (*Capparis* L.): Ethnopharmacology, phytochemical and pharmacological properties. *Fitoterapia.* xxx: 1-9.

**Tlili N., Nasri N., Saadaoui E., Khalidi A. et Triki S.** (2009). Carotenoid and tocopherol composition of leaves, buds, and flowers of *Capparis spinosa* grown wild in Tunisia. *J. Agric. Fd. Chem.* 57(12):5381-5385.

**Tlili N., Nasri N., Saadaoui E., Khaldi A. et Triki S.** (2010b). Sterol composition of caper (*Capparis spinosa*) seeds. *African Journal of Biotechnology.* 9(22): 3328-3333

**Toncer O.** (1999). The investigations on possibilities of propagation of caper (*C.ovata*. Desf. Var. palaestina Zoh.) in Southeast Anatolia Region. Ph.D. Thesis. Departement of Field Crops. Institute of Naturel and Applied Sciences University of Cukurova. Aolana.

**Treki A. S., Merghem R. et Dehimat L.** (2009). Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne d'une Labiée: *Thymus hirtus*. *Sciences & Technologie.* 29: 25-29.

**Trombetta D., Occhiuto F., Perri D., Puglia C., Santagati N.A., De Pasquale A., Saija, A. et Bonina F.** (2005). Antiallergic and antihistaminic effect of two extracts of *Capparis spinosa* L. flowering buds. *Phytother. Res.* 19, 29–33.

**Turhan et Baytop.** (1984). Therapy with Medicinal plants (Past and Present). Publication of the Istanbul University. pp: 220 – 225.

**UNESCO.** (1960). Les plantes médicinales des régions arides. Organisation des Nation Unies pour l'éducation, la science et la culture. 7<sup>ème</sup> Imprimeries. Oberthur, Rennes. p: 27.

**Upadhyay R., Ahmad S., Tripathi R., Rohtagi L. et Jain S. C.** (2010). Screening of antimicrobial potential of extracts and pure compounds isolated from *Capparis deciduas*. *Journal of Medicinal Plants Research.* 4(6): 439 – 445.

- Valcic S., Timmermann B. N., Alberts D. S. et al.** (1996). Inhibitory effect of six green tea catechins and caffeine on the growth of four selected human tumor cell lines. *Anticancer Drugs* 7: 461–468.
- Velazquez E., Tournier H. A., De Buschiazzo P. M, Saavedra G. et Schinella G. R.** (2003). Antioxidant activity of Paraguayan plant extracts. *Fitoterapia*.74: 91 – 97.
- Versantvoort C. H. M., Schuurhuis G. J., Pinedo H. M. et al.** (1993). Genistein modulates the decreased drug accumulation in non-P-glycoprotein mediated multidrug resistant tumour cells. *Br J Cancer*. 68: 939–946.
- Walle T., Otake Y., Brubaker J. A., Walle U. K., Halushka P. V.** (2001). Disposition and metabolism of the flavonoid chrysin in normal volunteers. *Br J Clin Pharmacol*. 51: 143–146.
- Wink. M.** (1999). "Functions of Plant Secondary Metabolites and their Exploitation in Biotechnology". CRC Press.
- Winkel-Shirley B.** (2001). Flavonoid Biosynthesis. A Colorful Model for Genetics, Biochemistry, Cell Biology, and Biotechnology. *Plant Physiology*. 126; 485–493.
- Yan D., Jin C., Xiao X. H. et Dong X. P.** ( 2008). Antimicrobial properties of berberines alkaloids in Franch Coptis chinensis by microcalorimetry. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*. 70: 845–849.
- Yang T., Liu Y. Q., Wang C. H., Wang Z. T.** (2008). Advances on investigation of chemical constituents, pharmacological activities and clinical applications of *Capparis spinosa*. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. 33(21):2453-2458.
- Yang T., Wang C. H., Chou G-X., Wu T. et Cheng X-M.** (2010). New alkaloids from *Capparis spinosa*: structure and X-ray crystallographic analysis. *Food Chemistry*. 123: 705 – 710.
- Yu Y., Gao H., Tang Z., Song X., Wu L.** (2006). Several Phenolic Acids from the Fruit of *Capparis spinosa*. *Asian Journal of Traditional Medicines*. 1: 3-4.
- Zerbo A., Koudou J., Ouédraogo N., Ouédraogo R. et Guissou I. P.** (2010). Antioxidant and antibacterial activities of *Piliostigma reticulatum* (DC.) Hochst extracts. *African Journal of Biotechnology*. 9(33): 5407 – 5411.



## Résumé

Les extraits naturels issus des plantes médicinales contiennent une variété de molécules bioactives. Dans ce contexte, nous avons tenté d'évaluer l'activité antioxydante et antimicrobienne des différents extraits des bourgeons à fleurs, fleurs et les fruits immatures du *Capparis spinosa*.

Les tests préliminaires ont montré la présence des flavonoïdes et des alcaloïdes et l'absence des tanins. La présence des flavonoïdes a été confirmée par des analyses qualitatives (CCM et HPLC) et par des analyses quantitatives basées sur le dosage spectral des polyphénols et des flavonoïdes, où la teneur la plus élevée a été révélée dans les extraits polaires: le MeOH pour les polyphénols ( $29,01 \pm 0,84$ ) et l'Aq pour les flavonoïdes ( $11,82 \pm 0,38$ ).

L'évaluation de l'activité antioxydante par le test de DPPH, a révélé un grand pouvoir antioxydant pour les extraits polaires, ce pouvoir est corrélé avec le contenu en polyphénols. L'extrait MeOH a été le plus actif avec une activité antioxydante relative de 78,34%.

L'étude de l'activité antibactérienne de nos extraits a révélé l'inactivation des extraits polaires contre les trois souches testés: *E. coli*, *P. aeruginosa* et *S. aureus*. Les extraits apolaires ont été actifs sur *S. aureus* avec des zones d'inhibition de 12,38mm et 11,83mm pour Ep et DCM respectivement et une concentration de 1g/ml. Le DCM a montré une activité anti-*E. coli*, cette activité a disparu à la dilution 1/4.

**Mots clés :** *Capparis spinosa*, Molécules bioactives, Polyphénols, Activité Antioxydante, Activité antimicrobienne.

## Abstract

The natural extracts of medicinal plants contain a variety of bioactive molecules. In this context, we tried to evaluate the antioxidant and antibacterial activities of different extracts of buds, flours and fruits of *Capparis spinosa*.

The preliminary tests showed the presence of flavonoïdes and alkaloids and the absence of tannins. The presence of flavonoïdes was confirmed by qualitative analyzes (TLC and HPLC) and by quantitative analyzes based on the spectral dosage of polyphenols and flavonoïdes, where the highest content was revealed in the polar extracts: MeOH for the polyphenols ( $29,01 \pm 0,84$ ) and Aq for flavonoïdes ( $11,82 \pm 0,38$ ).

The evaluation of the antioxidant activity by the test of DPPH, revealed a great antioxidant capacity for polar extracts, this capacity is correlated with the polyphenols contents. The MeOH extract was the most active with relative antioxidant activity of 78,34%.

The study of antibacterial activity of our extracts showed the inactivation of the polar extracts against the three bacterias tested: *E. coli*, *P. aeruginosa* et *S. aureus*. The apolaire extracts were actives on *S. aureus* with inhibition zones of 12,38mm and 11,83mm for Ep et DCM respectively and a concentration of 1g/ml. The DCM showed an activity anti-*E. coli*, this activity desappeared with a dilution 1/4.

**Key words:** *Capparis spinosa*, Bioactif molecules, Polyphenols, Antioxidant activity, Antimicrobial Activity.

## المخلص

تحتوي المستخلصات الطبيعية للنباتات الطبية على كم هائل ومتنوع من الجزيئات النشطة بيولوجيا، في هذا السياق حاولنا تقدير النشاطية ضد الأكسدة والنشاطية ضد البكتيريا لمختلف مستخلصات براعم أزهار وثمار غير ناضجة لنبات الكبار. التجارب الأولية أظهرت وجود الفلافونويدات والألكلويدات وغياب التانينات. وجود الفلافونويدات تم تأكيده بتحليل نوعية والمتمثلة في كروماتوغرافية الطبقات الرقيقة CCM و كروماتوغرافية ذات الفعالية العالية HPLC وتحليل كمية بينت أن المستخلص الميثانولي هو الغني بالمركبات الفينولية ( $29.01 \pm 0.84$ ) والمستخلص المائي هو الأكثر غنى بالفلافونويدات ( $11.82 \pm 0.38$ ) مقارنة بالمستخلصات الأخرى.

تقدير النشاطية ضد الأكسدة عن طريق اختبار DPPH أظهرت فعالية المستخلصات MeOH و Aq مقارنة بالمستخلصات الأخرى، هذه الفعالية مرتبطة بمحتوى المركبات الفينولية. المستخلص MeOH أكثر نشاطا حيث أبدى نشاطية ضد أكسدة مقدرة بـ 78,34%.

دراسة النشاطية ضد البكتيريا أظهرت عدم فعالية المستخلصات MeOH و Aq على البكتيريا المختبرة. المستخلص Ep أظهر فعالية ضد *S. aureus* مقدرة بـ 12,38م، بينما المستخلص DCM أظهر نفس الفعالية بـ 11,83مم وفعالية أيضا ضد *E. coli* تختفي مع التخفيف 1/4.

**الكلمات المفتاحية :** الكبار، الجزيئات النشطة، الفينولات، النشاطية ضد الأكسدة، النشاطية ضد البكتيريا.