



Institut : Sciences et Technologie
N° d'ordre :
Matricule : 12 / 2016

Département : Sciences de la Nature
et de la Vie

www.centre-univ-mila.dz

Thèse

Présentée pour l'obtention du Diplôme de Doctorat 3^{ème} Cycle – LMD

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biodiversité et Valorisation des Ressources Naturelles

Influence des facteurs écologiques sur l'accumulation des métabolites secondaires chez *Aristolochia longa* L. et *Capparis spinosa* L.

Présenter par :

BELDI Hakima

Membres du Jury

CHEBBAH Mohamed	Professeur	<i>Président</i>	Centre Univ. de Mila
YAHIA Abdelouahab	Professeur	<i>Rapporteur</i>	Centre Univ. de Mila
BOUNAMOUS Azzedine	Professeur	<i>Examineur</i>	Centre Univ. de Mila
KADI Kenza	Professeur	<i>Examinatrice</i>	Univ. Abbes Laghrour- Khanchela-
BOUBENDIR Abdelhafid	Professeur	<i>Examineur</i>	Centre Univ. de Mila
BENBOTT Amel	M.C.A	<i>Examinatrice</i>	Univ. Larbi Ben Mhidi-OEB-

Année Universitaire : 2021/2022

Dédicaces

A tous ceux qui me sont chers

A une Algérie meilleure



Hakima BELDI

Remerciements

Tout d'abord je tiens à remercier Allah le tout puissant et miséricordieux, qui m'a donné la force, la santé et la patience pour réaliser ce travail.

Une thèse est une entreprise dont la réussite n'est possible qu'avec l'aide d'un certain nombre de personnes. Il m'est agréable de remercier vivement tous ceux qui, grâce à leur aide précieuse, ont permis la réalisation de ce travail.

Je remercie vivement :

Mon directeur de thèse Monsieur le Professeur **YAHIA Abdelouahab** : Professeur au Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf, Mila, pour m'avoir laissé libre de découvrir le monde de la recherche par moi-même. Je lui adresse tous mes sincères remerciements pour leurs conseils et leurs orientations tout au long de ce travail.

Je remercie également tous les membres du jury pour leur temps et leur implication. Mes remerciements et toute ma gratitude sont pour Monsieur **CHABBAH Mohamed** : Professeur au Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf, Mila, pour avoir accepté de présider le jury de ce mémoire. Mes sincères remerciements vont à Monsieur **BOUNAMOUS Azzeddine** : Professeur et chef de laboratoire "LSNM" au Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf, Mila, pour avoir accepté d'examiner mon travail et pour l'intérêt qu'il y a porté. Je tiens également à présenter mes remerciements à **BOUBENDIR Abdelhafid** : Maître de Conférences Class A au Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf, Mila, d'avoir accepté d'être examinateur de ce mémoire de doctorat. Merci à Madame le Professeur **KADI Kenza** : Professeur à l'Université ABBES Laghrour - Khanchela- et Mme **BENBOTT Amel** : Maître de Conférences Class A à l'université Larbi Ben 'Mhidi (OEB), d'avoir accepté d'être membre du jury de ce doctorat malgré la distance.

Je voudrais sincèrement remercier Monsieur **BENSSOUICI Chawki**, Docteur et chef du laboratoire de biochimie dans le centre de recherche en biotechnologie (CRBT) de Constantine, qui m'a accueilli au sein de son laboratoire et qui a mis à ma disposition les

conditions matérielles nécessaires pour la réalisation des activités biologiques qu'il trouve ici mon respect et reconnaissance.

Mes remerciements vont aussi à monsieur **ERENLER Ramazan**, professeur au département de chimie, faculté des arts et des sciences de l'université Tokat Gaziosmanpasa (Turquie) pour l'aide qu'il m'a donné pour faire les analyses chromatographiques (LC-MS/MS).

Je tiens aussi à remercier monsieur **KRIKA Abdelaziz**, maître de conférences class B à l'université Mohammed Seddik BenYahia-Jijel- Pour m'avoir aidé à faire les analyses de sol.

Je ne saurais passer sous silence la contribution de Mr. **GUETTAF Sofiane**, maître de Conférences class B au Département de médecine, l'université de Ferhat Abbas Sétif-1, d'avoir participé activement à l'avancement des travaux. Je lui adresse une mention spéciale pour son aide précieuse. Trouvez ici monsieur l'expression de mon entière reconnaissance.

Mes plus vifs remerciements s'adressent à Dr. **GALI Lynda**, chercheuse dans le laboratoire de biochimie au Centre de Recherche en Biotechnologie de Constantine (CRBT) pour leur aide, leur soutien inestimable et pour avoir eu la patience de répondre à mes innombrables questions.

Je tiens à marquer un grand merci à **BOUDECHICHA Amel**, doctorante au laboratoire de Microbiologie appliquée, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Ferhat Abbas Sétif-1 pour son aide lors de la réalisation de l'activité antibactérienne.

Je remercie également madame **RAHMOUNI Naima** et monsieur **MENAI Imed**, à qui, j'ai toujours fait appel lorsque j'avais des questions en chimie, pour son appui inconditionnelle et son sens de l'écoute.

Je désire grandement remercier les enseignants qui m'ont enseigné durant mon parcours universitaire qui m'ont fait découvrir avec passion leur métier et m'ont ainsi servi de modèles.

Mes sincères remerciements s'adressent à toute la promotion de Master : Biochimie appliquée (CUM), année 2014-2015.

Résumé

Ce travail contribue à l'étude de l'effet des facteurs édapho-climatiques sur la teneur et la qualité des métabolites secondaires chez *Aristolochia longa* L. et *Capparis spinosa* L. qui ont été prélevées dans trois wilayas de climat différent.

Un criblage phytochimique a été effectué afin d'identifier les principaux groupes chimiques présents. Le contenu en polyphénols, flavonoïdes, flavones et flavonols ont été quantifiés par des dosages spectrophotométriques. La puissance antioxydante des extraits a été évaluée *in vitro* par cinq méthodes. L'activité enzymatique a été évaluée par le test d'anti-Alzheimer et l'activité antibactérienne a été faite selon la méthode de diffusion sur disques. Une chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) a été utilisée pour la détermination de la composition chimique des extraits actifs de deux plantes.

L'étude chimique des deux plantes a permis de faire la lumière sur un certain nombre de groupes chimiques : les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins, les alcaloïdes et les glucides. L'estimation quantitative a montré la richesse des extraits MeOH d'*A. longa* de Mila en TPC et TFC ($176.56 \pm 1.64 \mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait, $43.51 \pm 1.13 \mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait respectivement). Pour *C. spinosa* la grande teneur en TPC et TFF a été enregistré au niveau des feuilles de Sétif avec $\text{TPC}=49.83 \mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait et $\text{TFF}=77.77 \mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait.

Les activités antioxydantes ont démontré que les extraits MeOH des feuilles d'*A. longa* de Mila et Jijel présentent le meilleur effet antioxydant. Pour l'espèce type *C. spinosa* le meilleur effet inhibiteur a été enregistré au niveau des feuilles de Sétif. L'activité anti-Alzheimer a montré que les extraits avaient des effets anti-AChE et BChE très significatifs.

L'extrait MeOH d'*A. longa* de Mila semble avoir l'effet inhibiteur le plus puissant contre *S. aureus*, *E. coli* et *E. faecalis* avec des zones d'inhibition 12.83mm ; 11.88mm et 10.33mm respectivement. Concernant *C. spinosa* les extraits MeOH des feuilles et de racines de Sétif montrent une activité anti- *S. aureus* et anti- *E. coli* avec des zones d'inhibition de 8.66mm, 9.01mm, 10.32mm et 10.21mm respectivement. La LC-MS/MS a révélé la présence de six composés pour *A. longa* de Mila et Jijel et quatre composés pour l'extrait méthanolique de feuilles de Sétif. Pour *C. Spinosa* L., l'analyse a révélé la présence de cinq composés pour le câprier de Sétif et 4 composés pour le câprier provient de Mila et Jijel.

Mots clés: *Aristolochia longa* L., *Capparis spinosa* L., Teneur en polyphénols, activités antioxydantes, anti-Alzheimer, antibactérienne, LC-MS/MS, facteurs écologiques.

ملخص

يساهم هذا العمل في دراسة تأثير عاملي التربة والمناخ على محتوى ونوعية المستقلبات الثانوية بالنسبة للنبتين *Aristolochia longa* L. و *Capparis spinosa* L. والتي تم أخذ عيناتها من ثلاث ولايات ذات مناخات مختلفة. تم إجراء فحص كيميائي نباتي لتحديد المجموعات الكيميائية الرئيسية الموجودة. تم قياس محتوى البوليفينول والفلافونويد والفلافون بواسطة المقاييس الطيفية. تم تقييم فاعلية المستخلصات المضادة للأكسدة في المختبر بخمس طرق. اما فيما يخص النشاط الأنزيمي فقد تم تقييمه عن طريق اختبار مضاد مرض الزهايمر وتم إجراء النشاط المضاد للبكتيريا وفقاً لطريقة الانتشار على الأقراص. تم استخدام LC-MS / MS لتحديد التركيب الكيميائي للمستخلصات النشطة.

سلط البحث الكيميائي لكلا النباتين الضوء على عدد من المجموعات الكيميائية: البوليفينول والفلافونويد والعفص والقلويدات والكربوهيدرات في اوراق كلا النباتين الطيبتين. أظهر التقدير الكمي ثراء المستخلصات الميثانولية لـ *A. longa* المأخوذة من ولاية ميله بالبوليفينول والفلافونويدات (1.64 ± 176.56 ميكروغرام EAG / ملغ من المستخلص ، 1.13 ± 43.51 ميكروغرام من EQ / ملغ من المستخلص على التوالي). بالنسبة لـ *C. spinosa* ، تم تسجيل المحتوى العالي من TPC و TFF في أوراق نبتة الكبار المأخوذة من ولاية سطيف مع $TPC = 49.83$ ميكروغرام EAG / ملغ من المستخلص و $TFF = 77.77$ ميكروغرام EQ / ملغ من المستخلص. أظهرت نتائج الأنشطة المضادة للأكسدة فعالية ونجاعة المستخلص الميثانولي لأوراق *A. longa* التي تم اخذ عيناتها من ولايتي ميله وجيجل. بالنسبة لنوع *C. spinosa* تم تسجيل أفضل تأثير مثبط على مستوى أوراق نبات سطيف. أظهر النشاط المضاد لمرض ألزهايمر أن المستخلصات لها تأثيرات كبيرة جداً ضد AChE و BChE خاصة بالنسبة لنبتة *A. longa* حيث اظهرت مستخلصات الجذور للولايات الثلاث فعاليتها ضد انزيم BChE المستخلص الميثانولي لنبات برزطم المأخوذ من ولاية ميله له التأثير المثبط الأكثر فاعلية ضد *S. aureus* ، *E. coli* و *E. faecalis* مع مناطق تثبيط 12.83 مم ؛ 11.88 ملم و 10.33 ملم على التوالي. فيما يتعلق بـ *C. spinosa* ، فإن مستخلصات الميثانول لأوراق وجذور ولاية سطيف اظهرت نشاطاً مضاداً لكل من السلالتين البكتيريتين *S. aureus* و *E. coli* مع مناطق تثبيط تبلغ 8.66 مم و 9.01 مم و 10.32 مم و 10.21 مم على التوالي. كشفت نتائج التحليل الكروماتوغرافي من نوع LC-MS / MS عن وجود ستة مركبات لـ *A. longa* المأخوذة من ولايتي ميله وجيجل وأربعة مركبات للمستخلص الميثانولي لأوراق برزطم التابع لولاية سطيف. بالنسبة لـ *C. Spinosa* L. أظهر التحليل وجود خمسة مركبات بالنسبة لنبات الكبار التابع لسطيف و اربع مركبات بالنسبة لنبتة الكبار التي تم اخذها من ولايتي ميله وجيجل.

الكلمات المفتاحية: *Aristolochia longa* L. ، *Capparis spinosa* L. ، محتوى البوليفينول ، الأنشطة المضادة للأكسدة ، النشاط المضاد للزهايمر ، الأنشطة المضادة للبكتيريا ، LC-MS / MS ، العوامل البيئية.

Abstract

This work contributes to the study of the effect of edapho-climatic factors on the content and quality of secondary metabolites in *Aristolochia longa* L. and *Capparis spinosa* L. which were collected in three wilayas of different climate.

A phytochemical screening was performed to identify the main chemical groups present. The content of polyphenols, flavonoids, flavones and flavonols was quantified by spectrophotometric assays. The antioxidant power of the extracts was evaluated in vitro by five methods. Enzymatic activity was evaluated by the anti-Alzheimer test and antibacterial activity was done by the disk diffusion method. An LC-MS/MS was used for the determination of the chemical composition of the active extracts.

Chemical investigation of both plants shed light on a number of chemical groups: polyphenols, flavonoids, tannins, alkaloids, and carbohydrates. Quantitative estimation showed the richness of MeOH extracts of *A. longa* from Mila in TPC and TFC ($176.56 \pm 1.64 \mu\text{g EAG/mg}$ extract, $43.51 \pm 1.13 \mu\text{g EQ/mg}$ extract respectively). For *C. spinosa* the high content of TPC and TFF was recorded at the level of leaves from Setif with TPC= $49.83 \mu\text{g EAG/mg}$ extract and TFF= $77.77 \mu\text{g EQ/mg}$ extract.

Antioxidant activities showed that MeOH extracts of *A. longa* leaves from Mila and Jijel have the best antioxidant effect. For the species *C. spinosa* the best inhibitory effect was recorded in the leaves of Setif. The anti-Alzheimer activity showed that the extracts had very significant anti-AChE and BChE effects.

The MeOH extract of *A. longa* from Mila seems to have the strongest inhibitory effect against *S. aureus*, *E. coli* and *E. faecalis* with inhibition zones of 12.83mm; 11.88mm and 10.33mm respectively. Concerning *C. spinosa*, MeOH extracts of leaves and roots from Setif show anti-*S. aureus* and anti-*E. coli* activity with inhibition zones of 8.66mm, 9.01mm, 10.32mm and 10.21mm respectively.

The LC-MS/MS revealed the presence of six compounds for *A. longa* from Mila and Jijel and four compounds for the methanolic extract of leaves from Sétif. For *C. spinosa* L., the analysis revealed the presence of five compounds for the caper from Sétif and 4 compounds for the caper from Mila and Jijel.

Key words: *Aristolochia longa* L., *Capparis spinosa* L., Polyphenol content, antioxidant activity, anti-Alzheimer, antibacterial activities, LC-MS/MS, ecological factors.

Liste des Figures

Numéro	Intitulé	Page
Figure 1	Répartition de la famille des <i>Aristolochiaceae</i> dans le monde.	4
Figure 2	Différents organes d' <i>Aristolochia longa</i> L. A: Feuilles; B: Fleur ; C: Fruit et D: Racine.	6
Figure 3	Structure chimique des Monoterpènes isolés d' <i>A. longa</i> .	8
Figure 4	Structure chimique des Sesquiterpènes isolés d' <i>A. longa</i> .	8
Figure 5	Structure chimique des acides aristolochiques I (AAI) et II (AAII).	8
Figure 6	Différentes parties de <i>Capparis spinosa</i> L.	11
Figure 7	Distribution naturelle du câprier.	12
Figure 8	Structure de base des composés phénoliques (phénol).	17
Figure 9	Différentes classes de polyphénols.	17
Figure 10	Squelette de base des flavonoïdes.	19
Figure 11	Différentes classes des flavonoïdes.	19
Figure 12	Structure chimique de l'acide phénolique, A: l'acide hydroxybenzoïque et B: l'acide hydroxycinnamique.	20
Figure 13	Structure de l'unité isoprénique.	21
Figure 14	Principaux stress environnementaux auxquels les plantes sont confrontés.	27
Figure 15	Classification des antioxydants.	32
Figure 16	Maladies provoquées par le stress oxydatif chez l'être humain.	33
Figure 17	Mécanisme de réduction du radical libre DPPH [*] par un antioxydant.	34
Figure 18	Mécanisme réactionnel du test FRAP (Chélation d'ions ferreux).	34
Figure 19	Piégeage du radical ABTS ⁺⁺ avec un antioxydant donneur de H [*]	35
Figure 20	Réduction du complexe chromogène Cu ⁺² -Nc par un antioxydant.	36
Figure 21	Schéma d'un spectromètre de masse.	39
Figure 22	Principe d'un couplage LC/MS-MS.	40
Figure 23	<i>Aristolochia longa</i> L. A: Feuilles ; B: racines et C: Tige.	43
Figure 24	<i>Capparis spinosa</i> L. D: plante entière ; E: Feuilles et F: Tiges.	44

Figure 25	Situation géographique de trois wilayas d'étude : Mila, Sétif et Jijel.	44
Figure 26	Situation géographique de lieu de récolte au sein de la wilaya de Sétif : <i>Aristolochia longa</i> L. (Beni Aziz) et <i>Capparis spinosa</i> L. (Dehamcha).	45
Figure 27	Situation géographique de lieu de récolte au sein de la wilaya de Mila : <i>Aristolochia longa</i> L. (Rouached) et <i>Capparis spinosa</i> L. (Zeghaia).	46
Figure 28	Situation géographique de lieu de récolte au sein de la wilaya de Jijel : <i>Aristolochia longa</i> L. (Boucif Ouled Askeur) et <i>Capparis spinosa</i> L. (Aftis).	47
Figure 29	Carte bioclimatique de l'Algérie.	48
Figure 30	Protocole de préparation des extraits bruts (méthanoliques et aqueux) d' <i>Aristolochia longa</i> L. et de <i>Capparis spinosa</i> L.	53
Figure 31	Etapas de dosage des polyphénols, A: Série de dilution de standard (l'acide gallique) ; B: Dilutions d' <i>A. longa</i> L. ; C: Dilutions de <i>C. spinosa</i> L. et D: Lecture au spectrophotomètre.	57
Figure 32	Etapas de dosage des flavonoïdes, A: Série de dilution de standard (quercétine) ; B : Dilution d' <i>A. longa</i> L. ; C: Dilution de <i>Capparis spinosa</i> L. et D: Lecture au spectrophotomètre.	58
Figure 33	Dosage des flavones et flavonols des extraits bruts, A : d' <i>Aristolochia longa</i> L. et B : de <i>Capparis spinosa</i> L.	59
Figure 34	Lecteur à microplaque (Perkin Elmer, Enspire).	60
Figure 35	Résultat du test de DPPH sur microplaque.	61
Figure 36	Résultat du test ABTS•+ sur microplaque.	63
Figure 37	Résultat du test du CUPRAC sur microplaque.	64
Figure 38	Résultat du test du β-carotène sur microplaque.	65
Figure 39	Résultat du test du pouvoir réducteur sur microplaque.	67
Figure 40	Résultat de l'effet inhibiteur de l'AChe ou BChE sur microplaque.	69
Figure 41	Organigramme de la méthode de diffusion des disques sur milieu gélosé (Antibiogramme).	73

Figure 42	A : Réactif Triphényl Tétrazolium Chloride (TTC) et B : Changement de couleur au niveau des puits de la microplaque en présence d'activité bactérienne sous l'effet de la solution TTC.	75
Figure 43	Méthode de CMB.	76
Figure 44	Caractéristique climatiques et édaphiques de l'espèce type : <i>A. longa</i> L.	82
Figure 45	Caractéristique climatiques et édaphiques de l'espèce : <i>C. spinosa</i> L.	83
Figure 46	Diagramme ombrothermique de la wilaya de Mila sur 10 ans (2010-2019).	87
Figure 47	Diagramme ombrothermique de la wilaya de Jijel sur 10 ans (2010-2019).	87
Figure 48	Diagrammes ombrothermiques de la wilaya de Sétif sur 10 ans (2010-2019).	88
Figure 49	Climagramme pluviothermique d'Emberger pour la wilaya de Mila durant la période 2010-2019.	89
Figure 50	Climagramme pluviothermique d'Emberger pour la wilaya de Sétif durant la période 2010-2019.	90
Figure 51	Climagramme pluviothermique d'Emberger pour la wilaya de Jijel durant la période 2010-2019.	90
Figure 52	Rendements des extraits méthanoliques et aqueux de trois parties d' <i>Aristolochia longa</i> L. de Sétif, Mila et Jijel.	91
Figure 53	Rendement des extraits méthanoliques et aqueux de trois parties de <i>Capparis spinosa</i> L. de trois wilayas : Sétif, Mila et Jijel.	93
Figure 54	Droite d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.	97
Figure 55	Teneur en Polyphénols, Flavonoïdes, Flavones et Flavonols des extraits méthanoliques d' <i>A. longa</i> de trois Wilayas (Mila, Jijel et Sétif).	97
Figure 56	Teneur en Polyphénols, Flavonoïdes, Flavones et Flavonols des extraits aqueux d' <i>A. longa</i> L. de trois Wilayas (Mila, Jijel et Sétif).	99
Figure 57	Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes.	100

Figure 58	Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavones et flavonols.	101
Figure 59	Teneur en Polyphénols, Flavonoïdes, Flavones et Flavonols des extraits méthanoliques de <i>C. spinosa</i> L. de trois Wilayas (Mila, Jijel et Sétif).	102
Figure 60	Teneur en Polyphénols, Flavonoïdes, Flavones et Flavonols des extraits aqueux de <i>C. spinosa</i> L. de trois Wilayas (Mila, Jijel et Sétif).	104
Figure 61	Test (DPPH) des extraits méthanoliques et aqueux de trois parties d' <i>Aristolochia longa</i> L. récoltée de trois wilayas et de deux standards (BHA et BHT).	107
Figure 62	Test ABTS des extraits méthanoliques et aqueux de trois organes d' <i>A. longa</i> L. récoltée de trois wilayas et de deux standards (BHA et BHT).	109
Figure 63	Test β -carotène des extraits méthanoliques et aqueux de trois organes d' <i>A. longa</i> L. récoltée de trois wilayas et de deux standards.	111
Figure 64	Valeurs des A0.50 du test pouvoir réducteur par les extraits d' <i>A. longa</i> L. récoltée de trois wilayas et de deux standards : Acide ascorbique et α -tocophérol.	113
Figure 65	Valeurs des A0.50 du test CUPRAC pour les extraits méthanoliques et aqueux de trois organes d' <i>A. longa</i> L. récoltée de trois wilayas et de deux standards (BHA et BHT).	115
Figure 66	Valeurs des CI50 du test DPPH pour les extraits méthanoliques et aqueux de trois organes de <i>C. spinosa</i> L. récoltée de trois wilayas et de deux standards (BHA et BHT).	117
Figure 67	Valeurs des CI50 du test ABTS pour les extraits méthanoliques et aqueux de trois organes de <i>C. spinosa</i> L. récoltée de trois wilayas et de deux standards (BHA et BHT).	118
Figure 68	Valeurs des A0.50 du test pouvoir réducteur par les extraits méthanoliques et aqueux de trois organes de <i>C. spinosa</i> L. récoltée de trois wilayas et de standards : Acide ascorbique et α -tocophérol.	120

Figure 69	Valeurs des A0.50 du test CUPRAC pour les extraits méthanoliques et aqueux de trois organes de <i>C. spinosa</i> L. récoltée de trois wilayas et de deux standards (BHA et BHT).	121
Figure 70	Test de blanchiment du β -carotène sur les différents extraits de feuilles, tiges et racines de <i>C. spinosa</i> L. récoltée de trois wilayas.	122
Figure 71	Test β -carotène des différents extraits méthanolique et aqueux de trois organes de <i>C. spinosa</i> L. récoltée de trois wilayas et de deux standards (BHA et BHT).	124
Figure 72	Valeurs des pourcentages d'inhibition du test d'inhibition de l'acétylcholinestérase pour les extraits méthanoliques et aqueux de trois organes d' <i>A. longa</i> L. récoltée de trois wilayas et du standard (galantamine).	124
Figure 73	Valeurs des pourcentages d'inhibition du test d'inhibition de l'acétylcholinestérase pour les extraits méthanoliques et aqueux de trois organes de <i>C. spinosa</i> L. récoltée de trois wilayas et du standard (galantamine).	125
Figure 74	Valeurs des pourcentages d'inhibition du test d'inhibition de la butyrylcholinestérase pour les extraits méthanoliques et aqueux de trois organes d' <i>A. longa</i> L. récoltée de trois wilayas et du standard (galantamine).	126
Figure 75	Valeurs des pourcentages d'inhibition du test d'inhibition de la butyrylcholinestérase pour les extraits méthanoliques et aqueux de trois organes de <i>C. spinosa</i> L. récoltée de trois wilayas et du standard (galantamine).	128
Figure 76	Effet antibactérien des extraits méthanoliques d' <i>A. longa</i> L. contre les germes pathogènes testés.	131
Figure 77	Effet antibactérien des extraits méthanoliques de <i>C. spinosa</i> L. contre les germes pathogènes testés (mm).	133
Figure 78	Chromatogramme de 36 standards utilisés dans la LCMS/MS.	137
Figure 79	Caractéristique climatiques et édaphiques de l'espèce type : <i>A. longa</i> L.	148

Liste des tableaux

Numéro	Intitulé	Page
Tableau 1	Classification botanique adoptée d' <i>Aristolochia longa</i> L.	6
Tableau 2	Position taxonomique de <i>Capparis spinosa</i> L.	12
Tableau 3	Principaux familles de métabolites secondaires.	17
Tableau 4	Facteurs environnementaux influençant les réponses du métabolisme secondaire des plantes.	28
Tableau 5	Principales propriétés du sol imposant des contraintes aux plantes.	29
Tableau 6	Echelle d'interprétation de pH.	49
Tableau 7	Echelle d'interprétation de la matière organique.	49
Tableau 8	Echelle de la salinité en fonction de la conductivité électrique.	50
Tableau 9	Echelle d'interprétation des carbonates.	50
Tableau 10	Valeurs des PH de la solution tampon	67
Tableau 11	Souches microbiennes testées et leurs ATCC.	69
Tableau 12	Sensibilité des souches microbiennes en fonction des zones d'inhibition.	72
Tableau 13	Conditions de l'analyse chromatographiques.	77
Tableau 14	Répartition granulométrique des particules (%) du sol des six stations étudiées	79
Tableau 15	Résultats des paramètres physico-chimiques du sol des six stations étudiées.	80
Tableau 16	Précipitations moyennes mensuelles et annuelles durant la période (2010-2019) de trois wilayas : Mila, Jijel et Sétif.	84
Tableau 17	Températures moyennes mensuelles et annuelles T (°C) durant la période (2010-2019) de trois wilayas : Mila, Jijel et Sétif.	85
Tableau 18	Moyennes mensuelles et annuelles de l'humidité de trois wilayas durant la période (2010-2019).	86
Tableau 19	Etages bioclimatiques selon Emberger.	88
Tableau 20	Résultats du criblage phytochimique des extraits des feuilles, tiges et racines d' <i>A. longa</i> L. et <i>C. spinosa</i> L. de 03 wilayas.	94

Tableau 21	Sensibilité (zone d'inhibition en mm) des souches bactériennes testées vis-à-vis des antibiotiques.	127
Tableau 22	CMI et CMB de l'activité antimicrobienne des extraits MeOH de la plante <i>Aristolochia longa</i> L. de trois wilayas vis-à-vis les souches bactériennes testé.	130
Tableau 23	CMI et CMB de l'activité antimicrobienne des extraits aqueux de la plante <i>Aristolochia longa</i> L. de trois wilayas sur les quatre souches bactériennes testé.	131
Tableau 24	Valeurs des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et des concentrations minimales bactéricides (CMB) d'extrait MeOH de <i>C. Spinosa</i> L de trois wilayas d'étude.	134
Tableau 25	Diamètre des zones d'inhibition des extraits aqueux de la plante <i>Capparis spinosa</i> L. de Sétif, Mila et Jijel (mm).	136
Tableau 26	Composés phénoliques identifiés par LC-MS/ MS dans l'extrait méthanolique des feuilles d' <i>A. longa</i> L. de la wilaya de Mila.	139
Tableau 27	Composés phénoliques identifiés par LC-MS/ MS dans l'extrait méthanolique des feuilles d' <i>A. longa</i> L. de la wilaya de Jijel.	140
Tableau 28	Composés phénoliques identifiés par LC-MS/ MS dans l'extrait méthanolique des feuilles d' <i>A. longa</i> L. de la wilaya de Sétif.	141
Tableau 29	Paramètres des composés phénoliques identifiés par LC-MS/ MS dans l'extrait méthanolique des feuilles de <i>Capparis spinosa</i> L. de la wilaya de Sétif.	143
Tableau 30	Paramètres des Composés phénoliques identifiés par LC-MS/ MS dans l'extrait méthanolique des feuilles de <i>Capparis spinosa</i> L. de la wilaya de Mila.	144
Tableau 31	Paramètres des Composés phénoliques identifiés par LC-MS/ MS dans l'extrait méthanolique des feuilles de <i>Capparis spinosa</i> L. de la wilaya de Jijel.	145

Liste des abréviations

A0.50 : concentration indiquant 0,50 d'absorbance.

Abs : absorbance.

ABTS : sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique).

AChE : acétylcholinestérase.

ACI : Acetylcholine iodide.

ACP : Analyse en Composants Principales.

AlCl₃ : trichlorure d'aluminium.

A.longa L. : *Aristolochia longa* L.

ATCC : American Type Culture Collection.

BChE : butyrylcholinestérase.

BHA : ButylHydroxyAnisole.

BHIB : Brain Heart Infusion Broth.

BHT : ButylHydroxyToluene.

BuCI : S-Butyrylthiocholine iodide.

CaCO₃ : carbonate de calcium

CAT : catalase.

CE : conductivité électrique.

CS : Colistine sulfate

CT : calcaire total.

CTX : Cefotaxime

CLSI : Clinical and Laboratory Standards Institute.

CMB : Concentration Minimale Bactéricide.

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

C. spinosa L. : *Capparis spinosa* L.

CI50 : Concentration Inhibitrice à 50%.

CUPRAC : Cupric ion Reducing Antioxidant Capacity.

Cm : centimètre.

Cu : cuivre.

CUPRAC : Cupric Reducing Antioxidant Capacity.

DMSO : dimethylsulfoxyde.

CrO₇⁻² : dichromate.

DO : densité optique

DPPH : 1,1-Diphényl-2-PicrylHydrazyl.

DTNB : acide 5,5'-dithio-bis(2-nitrobenzoïque).

EAFJ : Extrait Aqueux des feuilles de Jijel.

EAFM : Extrait Aqueux des feuilles de Mila.

EAFS : Extrait Aqueux des feuilles de Sétif.

EARJ : Extrait aqueux des racines de Jijel.

EARM : Extrait aqueux des racines de Mila.

EARS : Extrait aqueux des racines de Sétif.

EATJ : Extrait aqueux des tiges de Jijel.

EATM : Extrait aqueux des tiges de Mila.

EATS : Extrait aqueux des tiges de Sétif.

EMFJ : Extrait Méthanolique des feuilles de Jijel.

EMFM : Extrait Méthanolique des feuilles de Mila.

EMFS : Extrait Méthanolique des feuilles de Sétif.

EMRJ : Extrait Méthanolique des racines de Jijel.

EMRM : Extrait Méthanolique des racines de Mila.

EMRS : Extrait Méthanolique des racines de Sétif.

EMTJ : Extrait Méthanolique des tiges de Jijel.

EMTM : Extrait Méthanolique des tiges de Mila.

EMTS : Extrait Méthanolique des tiges de Sétif.

E_rMeOH : extrait méthanolique des racines.

E_fMeOH : extrait méthanolique des feuilles.

EI : impact électronique.

EQ : équivalent en quercétine.

ERN : espèces réactives d'azote.

ERO : Espèces Réactifs de l'Oxygène.

ESI : ionisation par électro-nébuliseur.

FCR : folin-ciocalteu reactif.

Fe : fer.

FeCl₃ : trichlorure du fer.

Fig : figure.

FRAP : Ferric reducing ability of plasma.

GAE : équivalent acide gallique.

GAE/gMS : équivalent acide gallique per gram de la matière sèche.

GEN : Gentamicine.

GMH : Gélose Muller Hinton.

GPx : glutathion peroxydase.

H : Humidité.

H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène.

Hcl : acide chlorhydrique.

HNO₃ : acide nitrique.

H₂SO₄ : Acide sulfurique.

HPLC : chromatographie liquide à haute performance.

I% : pourcentage d'inhibition.

IC₅₀ : Concentration inhibitrice à 50%.

I : iode.

K₂Cr₂O₇ : dichromate de potassium

K₃Fe (CN)₆ : ferricyanure de potassium.

KH₂PO₄ : phosphate de potassium.

LC-MS : Chromatographie Liquide couplée à la spectrométrie de masse.

LC-MS/MS : Chromatographie Liquide couplée à deux spectrométries de masse.

MII : métabolites secondaires.

m : masse.

MA : maladie d'Alzheimer.

MH : Muller Hinton.

MeOH : méthanol.

MS : matière sèche.

µg EAG/mg : microgrammes d'équivalent d'acide gallique par milligramme.

µg ER/mg : microgramme d'équivalent de rutine par milligramme.

m/z : masse/ charge électrique.

mg : milligramme.

min : minute.

mL : millilitre.

mM : milli mole.

MnO₂ : dioxyde de manganèse.

M.O : matière organique.

Nacl : chlorure de sodium.

Na₂CO₃ : Carbonate de Sodium.

NaH₂PO₄ : Sodium dihydrogen phosphate.

Na₂HPO₄ : phosphate disodique.

NaOH : hydroxyde de sodium.

NCCLS : National Committee for Clinical Laboratory Standard.

NH₄OH : ammoniacque.

NO[•] : monoxyde d'azote.

NO⁺ : cation nitrosonium.

NO₂ : dioxyde d'azote.

OMS : l'organisation mondiale de la santé.

ONOO⁻ : peroxydinitrite.

ONOOH : acide peroxydinitrique.

O₂^{•-} : anion superoxyde.

¹O₂ : Oxygène singulet.

OH : groupement hydroxyle.

P : précipitations.

pH : potentiel d'hydrogène.

ppm : partie par million.

R² : coefficient de corrélation.

RCS : Reactive Chlorine Species.

RNS : Reactive Nitrogen Species.

ROO[•] : radical peroxyde.

RCOO⁻ : radical peroxyde.

ROS : Reactive Oxygen Species.

RP : pouvoir réducteur.

Rt : temps de rétention.

S.D. : standard de déviation.

SOD : superoxyde dismutase.

T : Température.

TCA : l'acide trichloracétique.

TFC : contenu total en flavonoïdes.

TFF : contenu total en flavones et flavonols.

TPC : contenu total en polyphénols.

UFC : unités formant colonies

UV : ultra-violet.

λ_{max} : longueur d'onde maximale.

°C : celsius.

µg : microgramme.

µL : microlitre.

TABLE DES MATIERES

Liste des figures.....	
Liste des tableaux.....	
Liste des abréviations.....	
Table des matières.....	
Résumé.....	
ملخص	
Abstract.....	
Introduction.....	1
Partie I : Recherche bibliographique	
Chapitre I : Présentation des espèces étudiées	
I. Historique.....	4
I.1.Présentation de la famille des Aristolochiacées et le genre d' <i>Aristolochia longa</i> L.....	4
I.1.1.Principales caractéristiques botaniques, distribution et écologie.....	5
I.1.2.Place dans la systématique (botanique).....	6
I.1.3.Utilisations traditionnelles.....	6
I.1.4.Composition chimiques du genre <i>Aristolochia</i> selon la littérature.....	7
I.1.5.Activités biologiques du genre <i>Aristolochia</i> selon les études antérieures.	9
➤ Activités anti-oxydantes.....	9
➤ Activités anti-inflammatoires.....	9
➤ Activités antifongiques.....	9
➤ Activités antidiabétiques.....	9
➤ Activités antibactérienne.....	9
I.2.Présentation de la famille des Capparidaceae et de <i>Capparis spinosa</i> L.....	10
I.2.1.Principales caractéristiques botaniques, distribution et écologie.....	10
I.2.2.Place dans la systématique (botanique).....	12
I.2.3.Utilisations traditionnelles.....	12
I.2.4.Composition chimiques du genre <i>Capparis</i> selon la littérature.....	13
I.2.5.Activités biologiques du genre <i>Capparis</i> selon les études antérieures.....	14
➤ Activités antidiabétiques.....	14
➤ Activité antibactérienne.....	14
➤ Activités antioxydants.....	14

Chapitre II : Influence des facteurs écologiques sur les métabolites II	
II. Eléments actifs des plantes médicinales.....	16
II.1. Classification des composés bioactifs	16
➤ Métabolites primaires.....	16
➤ Métabolites secondaires.....	16
II.1.1. Composés polyphénoliques.....	17
✚ Flavonoïdes.....	18
✚ Non flavonoïdes.....	20
a. Acides phénolique.....	20
✓ Acides hydroxybenzoïques.....	20
✓ Acide hydroxycinnamique.....	20
b. Tanins.....	20
✓ Tanins Hydrolysables.....	21
✓ Tanins Condensés.....	21
II.1.2. Terpénoïdes.....	21
II.1.3. Alcaloïdes.....	22
II.2. Rôle des métabolites secondaires.....	22
II.3. Effet des facteurs écologiques sur la l'accumulation des métabolites secondaires.....	23
a. Facteurs climatiques.....	23
✚ Facteurs biotiques.....	23
✚ Facteurs abiotiques.....	24
✓ Stress hydrique.....	24
✓ Stress thermique.....	25
✓ Stress salin.....	25
✓ Lumière.....	26
b. Facteurs pédologiques.....	28
Chapitre III : Activités biologiques	
III. 1. Activités Antioxydantes.....	30
III.1.1. Radicaux libres.....	30
III.1.2. Les antioxydants.....	31
III.1.3. Types d'antioxydants.....	31
✓ les antioxydants enzymatiques.....	31
✓ les antioxydants non enzymatiques.....	31

III.1.4. Stress oxydant.....	32
III.1.5. Conséquences pathologiques du stress oxydant.....	32
III.1.6. Méthodes d'évaluation <i>in vitro</i> des capacités antioxydantes.....	33
➤ Méthode au DPPH* (Diphényl Picrylhydrazyle).....	33
➤ Méthode de FRAP (Ferric Reducing Antioxydant Power).....	34
➤ Piégeage de l'ABTS ^{•+} (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-[3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic]).....	35
➤ Test de blanchiment (décoloration) du β-carotène.....	35
➤ Test de la capacité antioxydante par réduction du cuivre (CUPRAC).....	36
➤ Activité enzymatique.....	36
III.1.7. Généralités sur la maladie d'Alzheimer.....	36
III.1.8. Méthode de détermination de l'activité antibactérienne <i>in vitro</i>	37
III.1.9. Spectrométrie de masse.....	38
III.1.10. Chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC/MS)...	39
III.1.11. Spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS).....	39
Partie II : Recherche expérimentale	
Matériels et Méthodes	
✚ Etapes de travail.....	41
✚ Lieux du travail.....	42
IV.1. Matériel végétal.....	43
IV.2. Présentation et localisation des wilayas d'étude.....	45
IV.2.1. Présentation de la wilaya de Sétif.....	44
• Aspect géographique.....	44
• Aspect physique.....	45
IV.2.2. Présentation de la wilaya de Mila.....	45
• Aspect géographique.....	45
• Aspect physiques.....	46
IV.2.3. Présentation de la wilaya de Jijel.....	46
• Aspect géographique.....	46
• Aspect physiques.....	47
IV.3. Analyse de sol.....	48
IV.3.1. Prélèvement et préparation d'échantillons de sol.....	48

IV.3.2. Caractérisation physico-chimique des échantillons de sol.....	48
IV.3.2.1. PH-eau.....	48
IV.3.2.2. Carbone organique (CO%).....	49
IV.3.2.3. Conductivité électrique (CE).....	50
IV.3.2.4. Dosage du calcaire total (CT).....	50
IV.3.3. Analyse granulométrique par tamisage.....	51
IV.4. Synthèse climatique.....	51
IV.5.1. Préparation des extraits bruts.....	51
IV.5.2. Calcul du rendement des extraits.....	54
IV.5.3. Analyse qualitative (Screening phytochimique).....	54
IV.5.4. Analyse quantitative.....	56
IV.5.4.1. Détermination de la teneur en polyphénols totaux.....	56
IV.5.4.2. Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux.....	58
IV.5.4.3. Détermination de la teneur en flavones et flavonols.....	59
IV.5.5. Evaluation <i>in vitro</i> des activités biologiques.....	59
IV.5.5.1. Test du piégeage du radical libre DPPH.....	60
IV.5.5.2. Piégeage de l'ABTS ⁺	62
IV.5.5.3. Méthode de réduction de cuivre (CUPRAC).....	63
IV.5.5.4. Méthode de blanchiment du β -carotène.....	64
IV.5.5.5. Test de la réduction du fer (FRAP) (Ferric reducing antioxidant power).....	65
IV.6. Détermination de l'activité anticholinestérasique.....	67
IV.7. Évaluation de l'activité antibactérienne des extraits.....	69
IV.7.1. Technique de diffusion des disques sur milieu solide (Antibiogramme).....	70
IV.7.2. Technique de micro-dilution de plaque.....	74
IV.7.2.1. Détermination des CMI (Concentration Minimale Inhibitrice).....	74
IV.7.2.2. Détermination des CMB (Concentration Minimale Bactéricide).....	75
IV.8. Chromatographie HPLC-MS/MS pour la caractérisation des polyphénols des extraits méthanoliques bruts des feuilles de deux espèces.....	76
IV.9. Analyses statistiques.....	78
Résultats et Discussion	
V.1. Analyses de sol.....	79
V.1.1. Résultats des analyses granulométriques du sol.....	79
V.1.2. Résultats des paramètres physico-chimiques du sol.....	80

V.2. Caractéristiques climatiques de trois wilayas de récolte.....	83
✓ Précipitations.....	83
✓ Température.....	84
✓ Humidité.....	85
V.3. Synthèse bioclimatique.....	86
➤ Diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gausсен.....	86
➤ Quotient pluviothermique d'Emberger.....	88
V.1. Rendement de l'extraction.....	91
V.2. Analyse qualitative.....	94
V.3. Analyse quantitative.....	96
V.3.1. Dosage des Composés Polyphénoliques Totaux (TPC).....	96
V.3.2. Dosage des flavonoïdes totaux.....	100
V.3.3. Dosage des flavones et flavonols.....	101
V.4. Résultats des activités biologiques.....	107
V.4.1. Activités antioxydantes.....	107
➤ Effet scavenger du radical DPPH.....	107
➤ Activité de piégeage du cation radical ABTS ⁺	109
➤ Test de blanchiment du β-carotène (IC50).....	110
➤ Test de la capacité antioxydante par réduction du Fer (FRAP).....	112
➤ Test de la capacité antioxydante par réduction du cuivre (CUPRAC).....	114
V.4.2. Activités enzymatiques.....	123
V.4.3. Evaluation de l'activité anti-cholinestérase.....	123
✚ <i>Aristolochia longa</i> L.....	123
✚ <i>Capparis spinosa</i> L.....	125
V.4.4. Pouvoir antibactérien des extraits bruts.....	126
VI. Identification des composés phénoliques des extraits actifs par LC-MS/MS.....	137
✚ <i>Aristolochia longa</i> L.....	138
✚ <i>Capparis spinosa</i> L.....	142
VII. Analyses statistiques.....	147
VII. 1. Analyse en Composantes Principales (ACP).....	147
VII.2. Corrélation entre la teneur en métabolites secondaires (TPC, TFC, TFF), données climatiques (Précipitations (P), Températures (T) et Humidité (H)) et les caractéristiques	

granulométriques et physicochimiques du sol de 03 wilayas étudiées (test de Pearson (n)).....	149
Conclusion et Perspectives	150
Références bibliographiques	153
Annexes	I



Introduction Générale

Introduction générale

Les plantes, sont de principal artisan des molécules, créent une gamme pratiquement infinie d'entités moléculaires. Depuis les temps anciens, elles constituent la colonne vertébrale du système traditionnel de guérison dans le monde entier (Malik et al., 2022). Dans les pays en développement, plus de 80% de la population dépend des plantes médicinales pour ses soins de santé primaires (Adnan et al., 2014 ; Zargoosh et al., 2019).

L'importance des plantes comme candidat potentiel pour la découverte de médicaments est principalement due à leur diversité structurelle qui reste encore inexploitée (Veeresham., 2012). Les composés dérivés des plantes sont utilisés depuis l'antiquité à des fins cliniques et sont mieux acceptés et tolérés par les patients (Newman et Cragg., 2012). Aujourd'hui, l'importance pharmacologique des métabolites d'origine végétale augmente en raison des découvertes continues sur leur rôle et leur potentiel dans les soins de santé, de l'apparition de résistance à certaines classes d'agents anti-infectieux et du problème de sous-développement d'une grande partie de la population mondiale (Belhouala et Benaraba., 2021).

L'isolement et la caractérisation des composés issus des plantes ont commencé au 19^{ème} siècle. Près de 11% des 252 médicaments considérés comme fondamentaux et essentiels par l'OMS étaient exclusivement d'origine végétale. Elles servent également de modèles pour la conception, la semi-synthèse ou la synthèse complète de nouveaux agents pour le traitement de diverses maladies (Rout et al., 2009).

L'Algérie, grâce à sa surface, sa situation géographique particulière, ses sols et son climat très variés, ce pays constitué d'une gamme d'espèces végétales très diversifiée et riche en matières actives. La richesse de la flore algérienne est incontestable, avec environ 4300 espèces et sous-espèces de plantes vasculaires. Elle recèle un grand nombre d'espèces classées en fonction de leur degré de rareté : 289 espèces assez rares, 647 espèces rares, 640 espèces très rares, 35 espèces rarissimes et 168 espèces endémiques (Kouider et al., 2019).

L'étude des facteurs environnementaux constitue une partie importante de l'écologie végétale qui étudie les relations des végétaux avec le milieu externe (biotique et abiotique) dans lequel ils vivent. La quantité et la qualité des molécules bioactive dépendent d'un grand nombre de paramètres environnementaux d'origines différents notamment les conditions géographiques, climatiques et édaphiques. Le climat présente l'ensemble des actions de l'atmosphère, c'est un facteur écologique déterminant pour la croissance et le développement

des plantes, il intervient directement par ses effets sur les différents processus physiologiques et métaboliques et la succession des stades phénologiques des plantes (Ramade., 1984).

Les caractéristiques climatiques méditerranéennes de l'Algérie sont favorables au développement des deux plantes médicinales spontanées (*Aristolochia longa* L.) et (*Capparis spinosa* L.), ces deux plantes qui sont moins connues mais présentent un potentiel thérapeutique et ayant un impact écologique et économique fort intéressant. Pour une meilleure connaissance du patrimoine végétal local et afin d'évaluer la variabilité, plusieurs caractères ont été étudiés chez ces deux espèces. La température, les précipitations et le sol sont des facteurs écologiques de première importance car elles contrôlent l'ensemble des phénomènes métaboliques et conditionnent la répartition de la totalité des espèces et des communautés d'êtres vivants dans la biosphère (Ramade., 1984).

Notre travail s'inscrit dans le cadre d'une contribution à une meilleure connaissance des substances bioactives d'*Aristolochia longa* L. et de *Capparis spinosa* L. plantes médicinales récoltées dans trois wilayas d'Algérie qui présentent des étages bioclimatiques variés; la wilaya de Sétif (semi-aride), la wilaya de Mila (subhumide) et la wilaya de Jijel (humide), et de découvrir l'effet des facteurs climatiques, à savoir les précipitations, la température, l'humidité, et édaphiques (le sol) sur la teneur, la composition chimique et l'efficacité de ces métabolites secondaires.

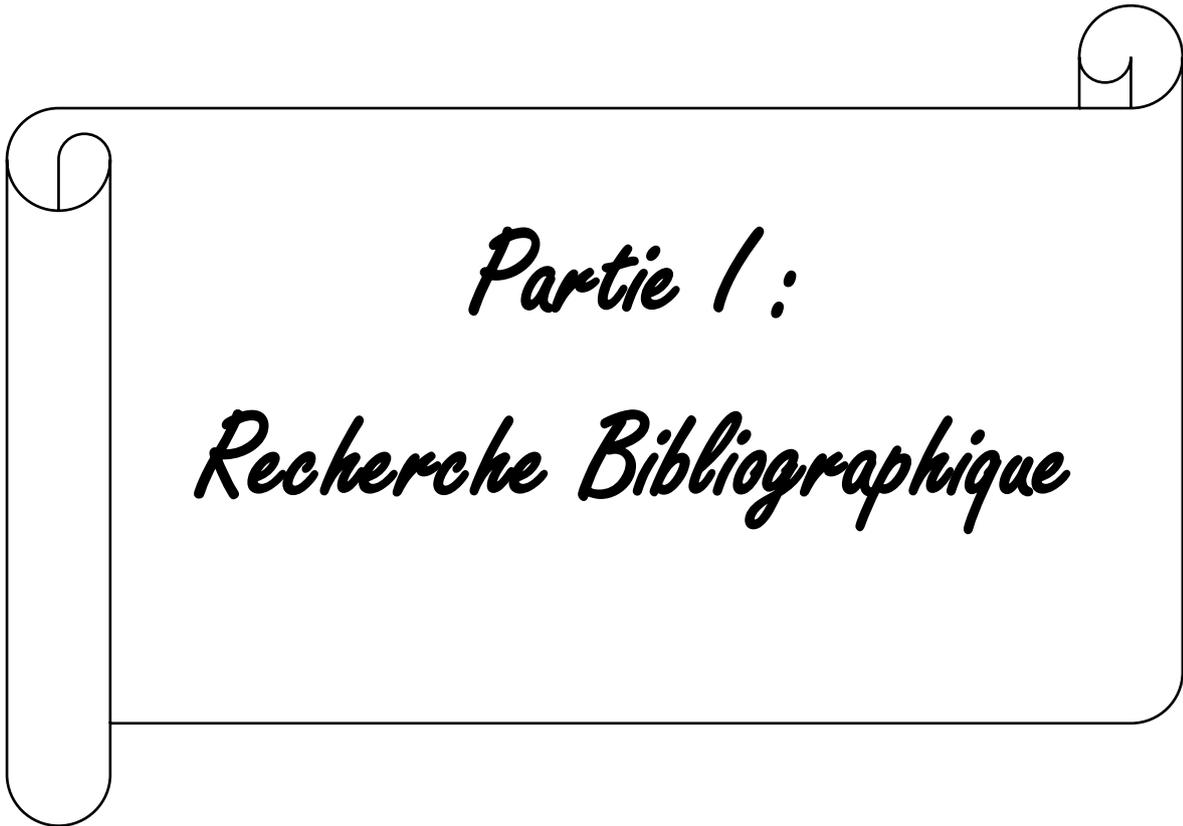
L'objectif de notre travail vis à déterminer la teneur en polyphénols, en flavonoïdes en flavones et flavonols des extraits bruts de trois organes de deux plantes *A. longa* L. et *C. spinosa* L. Nous allons analyser les extraits méthanoliques brutes des feuilles de deux plantes par la LC-MS/MS qui nous a permis de déterminer la composition chimique de ces extraits dans le but de comparer nos résultats en fonction de lieu de récolte et à ceux de la littérature afin de déterminer les conditions écologiques (climatiques et édaphiques) les plus favorable à la synthèse et à la production des métabolites secondaires. Aussi, nous allons évaluer quelques activités biologiques (antioxydantes, enzymatiques et antibactériennes) des extraits de deux plantes, afin de déterminé l'efficacité et la capacité de chaque extraits.

Notre travail a été divisé en trois parties, nous aborderons dans une première partie une étude bibliographique qui regroupe trois chapitres dont le premier concerne une description détaillée sur les deux espèces étudiée. Le deuxième chapitre est consacré aux données générales sur les métabolites secondaires, leurs classifications, leurs propriétés pharmacologiques et voir l'effet des facteurs écologiques sur l'accumulation de ces composés actifs dans les plantes. Le troisième chapitre comprend des généralités sur les activités antioxydantes, anticholinestérases et antibactériennes.

La deuxième partie décrit le matériel et les méthodes utilisées dans ce travail qui porte sur :

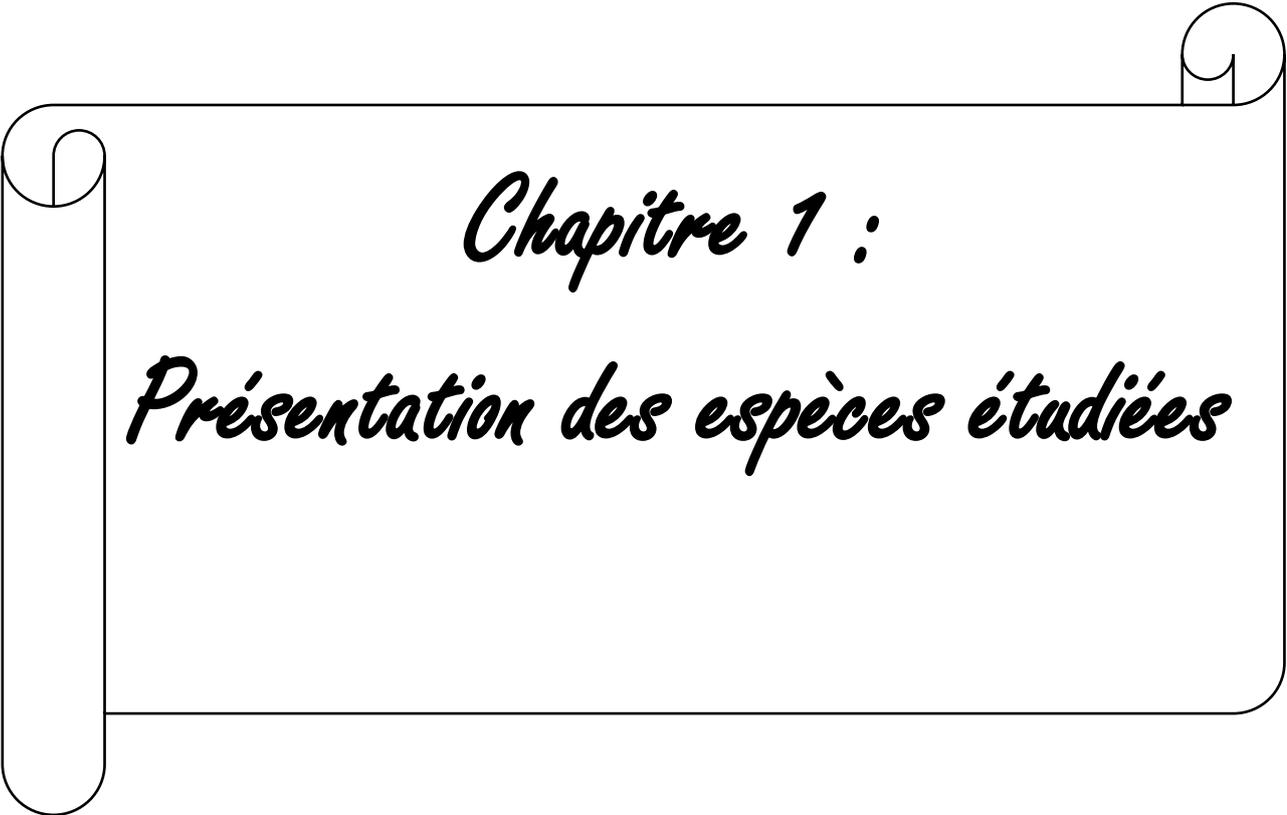
- Analyses granulométriques et physicochimiques de sol de trois wilayas d'étude ;
- Analyses des données météorologiques pendant la période 2010-2019 ; pour définir le climat de trois wilayas d'étude, cela impose l'utilisation des indices climatiques ; le diagramme pluviothermique de Bagnouls et Gaussen et le quotient pluviométrique d'Emberger (Q₂).
- Criblage phytochimiques (screening phytochimique) des différents extraits de deux plantes ;
- Dosage des phénols totaux (TPC), des flavonoïdes (TFC), des flavones et flavonols (TFF) ;
- Etude des activités antioxydantes des extraits de deux plantes, par cinq méthodes : le test au radical libre DPPH', Chélation des ions métalliques (FRAP), test de la capacité antioxydante par réduction du cuivre (CUPRAC), piégeage de l'ABTS et test de blanchissement du β -carotène ;
- Evaluation de l'activité anti-cholinestérase (anti AChE et anti BChE);
- Evaluation de l'activité antibactérienne vis-à-vis quatre souches bactériennes pathogènes ATCC ;
- Essai d'identification des composés polyphénoliques des extraits qui ont donnés des bonnes teneurs en dosage et en activités biologiques par la LC-MS/MS.

La dernière partie de ce travail comprend la discussion des résultats de l'étude phytochimique de deux plantes *Aristolochia longa* L. et *Capparis spinosa* L. ainsi que les composés identifiés par l'analyse chromatographique de type LC-MS/MS des extraits méthanolique bruts des feuilles de deux espèces, en plus des résultats d'étude des activités antioxydantes, anticholinestérases et antibactériennes, et aussi les résultats des analyses climatiques et édaphiques de trois wilayas d'étude. Enfin les conclusions essentielles sur l'ensemble de ce travail, ainsi que les perspectives de sa continuité ont été dégagées.



Partie 1 :

Recherche Bibliographique



Chapitre 1 :

Présentation des espèces étudiées

I. Historique

Les plantes médicinales sont utilisées pour le traitement de plusieurs pathologies grâce à leur richesse en molécules bioactifs (Bouteldja et al., 2021). Elles font partie du savoir de base de toutes les sociétés humaines (Thirumal et al., 2012). Ces molécules d'origine végétale participent dans divers domaines tels que cosmétique, technologie alimentaire et pharmaceutique (Merouani et al., 2017).

La flore algérienne est très riche et diversifiée vu sa position biogéographique privilégiée et son étendu entre la Méditerranée et l'Afrique sub-saharienne. La diversité des climats (marins, continentaux et désertiques) et de sol ont un effet non seulement sur l'intensité de la diversité végétale, mais aussi sur le profil chimique en molécules bioactives chez les plantes. Ces composés bioactifs ont suscité un intérêt particulier pour leurs valorisations dans différents secteurs économiques. Dans cette optique, les études phytochimiques sont souvent orientées vers les plantes à usage thérapeutique (*Aristolochia longa* L.) et à usage condimentaire et pharmacologique (*Caparis spinosa* L.).

I.1. Présentation de la famille des Aristolochiacées et le genre d'*Aristolochia longa* L.

- **Famille des Aristolochiacées**

Est une famille de plantes dicotylédones de divergence ancienne qui comprend six genres (le genre *Aristolochia* est le plus large) (Dhouioui et al., 2016 ; Wu et al., 2004) et environ 500 espèces de vivaces herbacées, de sous-arbrisseaux ou d'arbustes portant des huiles essentielles largement distribuées en Asie tropicale, l'Afrique (Fig.1) et l'Amérique du Nord et du Sud (Chawla et al., 2013 ; Polevova., 2015 ; Benaraba et al., 2016). Elle est généralement divisée en deux sous-familles : la première des Asaroideae qui se produit principalement dans les régions du nord tempéré avec une diversité en Asie et la sous-famille des Aristolochioideae a une distribution principalement tropicale et subtropicale (Thirumal et al., 2012).

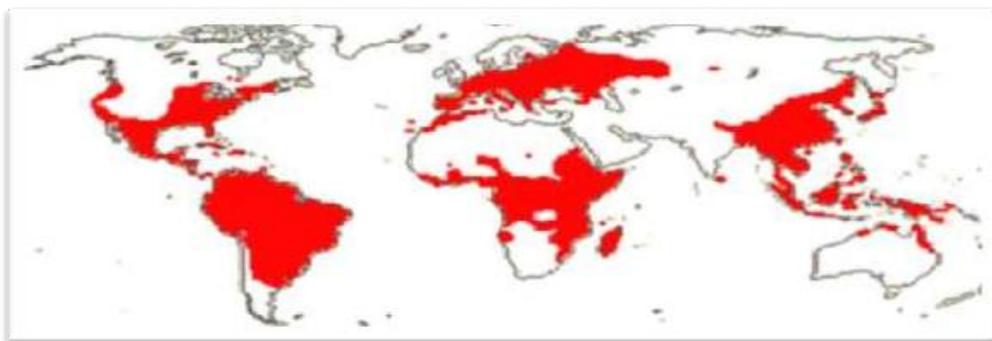


Figure 1. Répartition de la famille des *Aristolochiaceae* dans le monde (Mangnoliides et al., 2006).

✚ *Aristolochia longa* L.

De nombreuses plantes du genre *Aristolochia* ont souvent été signalées comme une importante source de remède dans plusieurs études. L'espèce type *Aristolochia longa* L. (Aristolochiaceae) est largement distribué en Algérie et connu sous le nom de 'Beroustoum' ou 'El-Zarawend El Tawil' en arabe, elle est couramment utilisée dans la phytothérapie traditionnelle (Merouani et al., 2017) dans la majorité de cas pour le traitement du cancer (Benaraba et al., 2014).

I.1.1. Principales caractéristiques botaniques, distribution et écologie

L'Aristolochie longue (*Aristolochia longa* L.) est une plante médicinale connue et décrite depuis longtemps. Le nom *Aristolochia* signifie en latin «bon accouchement», Elle a été utilisée par les médecins grecs pour provoquer l'avortement chez les femmes (Lahsissene et al., 2009), activer l'accouchement et faciliter l'évacuation du placenta (Chang et al., 2007; Yuan et al., 2008).

C'est une plante vivace, non grimpante à tubercule cylindrique vertical portant des racines fines, tubérisées aux formes variées de cylindriques à fusiformes, napiformes ou ovoïdes parfois même lobés, tiges non volubiles, anguleuses plus ou moins fluxueuse de 30 à 80cm de long, les feuilles sont alternées à pétiole atteignant 5 à 10mm de long, cordé à la base, nervation palmée et à marges lisses, disposées alternativement sur presque toute la longueur de la tige. Les fleurs sont plus longues que les feuilles de 3 à 6cm et jaunâtres. Les graines sont planes albuminées et triangulaires, ils ont une largeur de 4 à 8mm ; Les fruits d'*Aristolochia longa* sont des capsules ellipsoïdales–subglobuleuses (Dhouioui et 2016 ; Merouani., 2017 ; Cherif., 2012). Sa racine est un tubercule allongé presque cylindrique 5cm à 3dm de longueur, environ 2cm d'épaisseur grisâtre à l'extérieur, jaune brunâtre à l'intérieur, amère et d'une forte odeur désagréable lorsqu'elle est fraîche (Bouteldja., 2019) (Fig.2).

En Algérie, cette espèce est surtout rencontrée dans la région centre. On rapporte sa présence à l'ouest au niveau des Tlemcen (Mesli-Bestaoui et al., 2007) aux monts de chérera de wilaya de Blida (Cherif et al., 2009), en Kabylie, à Tizi Ouzou au niveau de forêt de Mizrana (Bekdouche et al., 2008). Elle pousse sur des terres rouges, des lieux humides et souvent sur les broussailles, sa période de floraison se situe entre le mois d'Avril et le mois de Mai (Cherif., 2012).

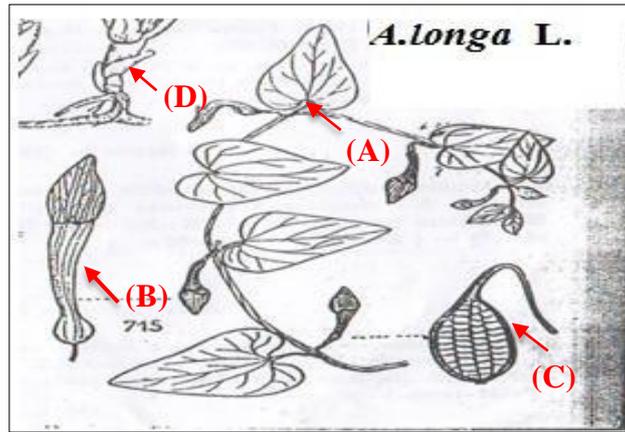


Figure 2. Différents organes d'*Aristolochia longa* L. A: Feuilles; B: Fleur ; C: Fruit et D: Racine (Merouani et al., 2020).

I.1.2. Place dans la systématique (botanique)

La systématique de la plante est présentée dans le Tableau 1.

Tableau 1. Classification botanique adoptée d'*Aristolochia longa* L. (Maire., 1961).

Règne	plantae
Embranchement	Spermaphyte
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédone
Sous classe	Apétale
Série	Dicotylédone
Ordre	Aristolochiale
Famille	Aristolochiacées
Genre	<i>Aristolochia</i>
Espèce	<i>Aristolochia longa</i> L.

I.1.3. Utilisations traditionnelles

Plusieurs auteurs ont déclarés l'usage de cette espèce par les populations contre le cancer (Saidi et al., 2009 ; Shi et al., 2004). L'organe le plus utilisé est les racines et sont consommées dans les maladies de «Boumezwi (palpitations de l'aorte)», la constipation et les troubles intestinaux (Bammi et Douira., 2002)

Au Maroc, les racines séchées d'*A. Longa* ont été mélangées avec du miel ou du beurre salé (smèn) et utilisées pour le traitement des maladies cutanées en particulier les mycoses et

des infections de la partie supérieure du tractus respiratoire (Bammi et Douira., 2002).

En outre, les médecins grecs le recommandaient contre l'insuffisance ovarienne (Derouiche et al., 2017). En Égypte, elle était appliquée contre les morsures de serpent (Benzakour et al., 2011 ; Latha et al., 2015). En Tunisie, les habitants de la région du nord-ouest l'utilisent pour le traitement de la jaunisse (Dhouioui et al., 2016).

I.1.4. Composition chimique du genre *Aristolochia* selon la littérature

Le genre d'*Aristolochia* est le plus utilisé dans la pharmacopée traditionnelle en raison de ses multiples effets, se traduit par sa richesse en métabolites secondaires comprend essentiellement les polyphénols et les flavonoïdes (Derouiche et al., 2021). Benaraba et al., (2016), ont déclaré que l'extrait aqueux des racines de cette espèce est très riche en polyphénols, flavonoïdes, tanins, glucides et saponines.

Les résultats d'une étude menée en Inde sur la composition chimique des tiges d'*Aristolochia indica* L. a permis d'identifier six composants dont le trans-pinocarveol (24.2%), α -pinène (16.9 %) et pinocarvone (14.2 %), suivis du b-pinène (7.1 %), du limonène (6.9 %) et du myrténol (6.4 %) (Kanjilal et al., 2009).

Une étude tunisienne des racines d'*Aristolochia longa* a montré leur richesse en acides gras qui sont classés en acides gras polyinsaturés (AGPI) variant de 20.1 à 45.4 %, en acides gras mono insaturés (AGMI) variant de 10.1 à 41.2%, acides gras saturés (AGS) variant de 26.7 à 52.2% (Dhouioui et al., 2016), acide palmitique (22%), oléique (23%) et linoléique (40%) (De Pascual teresa et al., 1984).

A. *Longa* est riche en terpène est surtout en monoterpène comme linalool, bornyl acetate et le bornanol (Francisco et al., 2008) (Fig.3), et en sesquiterpènes comme : le maaliol, le b-caryophyllène et le caryophyllène oxide (De pascal Teresa et al., 1983) (Fig.4). On rapporte également l'identification des acides aristolochiques (Benaraba et al., 2014 ; Huang et al., 2014), qui se trouvent principalement dans le genre *Aristolochia* mais peuvent également être trouvés dans d'autres genres de la même famille comme *Asarum* et *Bragantia*. Le plus abondant est l'acide aristolochique I, suivi par l'acide aristolochique II (Okhale et al., 2019) (Fig.5).

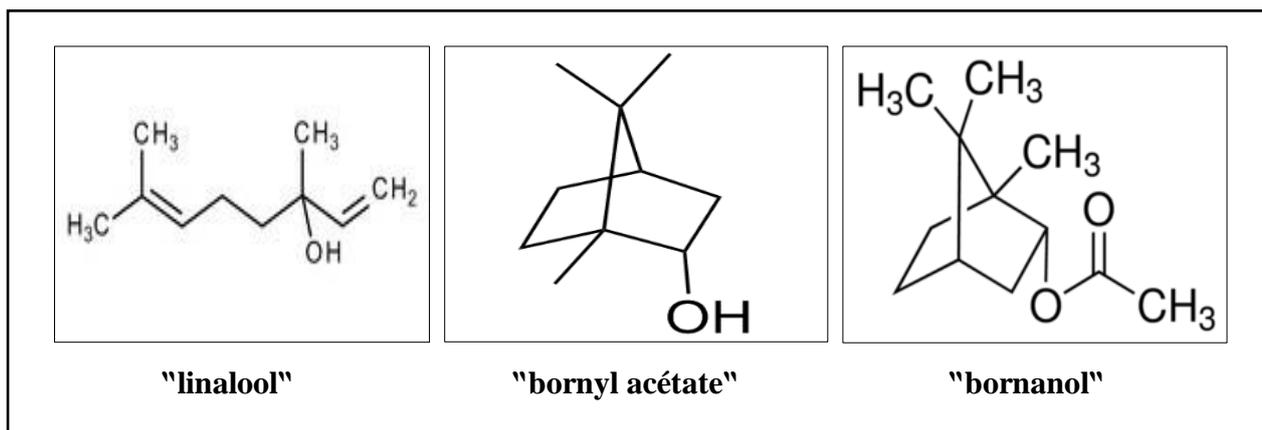


Figure 3. Structure chimique des Monoterpènes isolés d'*A. longa*

(De pascal Teresa et al., 1983).

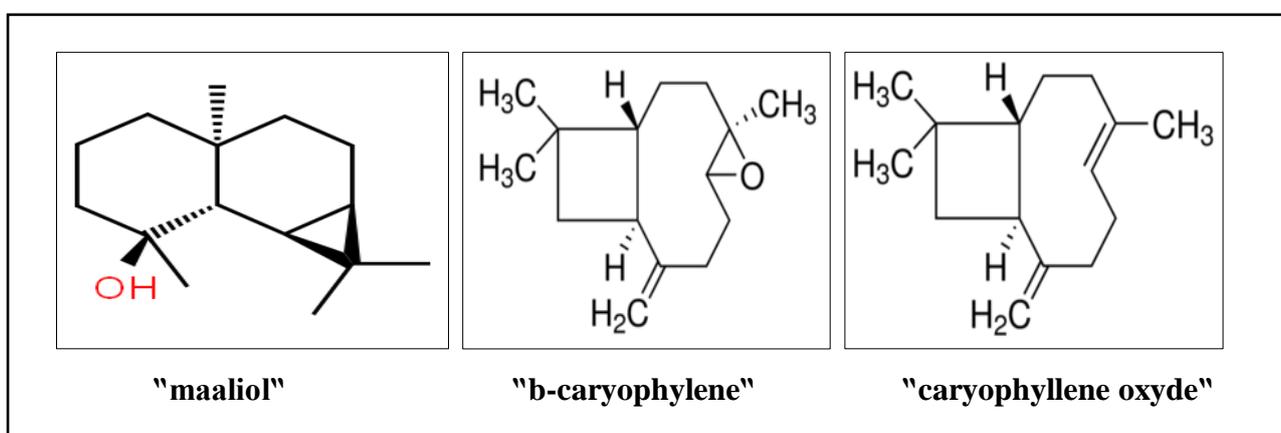


Figure 4. Structure chimique des Sesquiterpènes isolés d'*A. longa*

(De pascal Teresa et al., 1983).

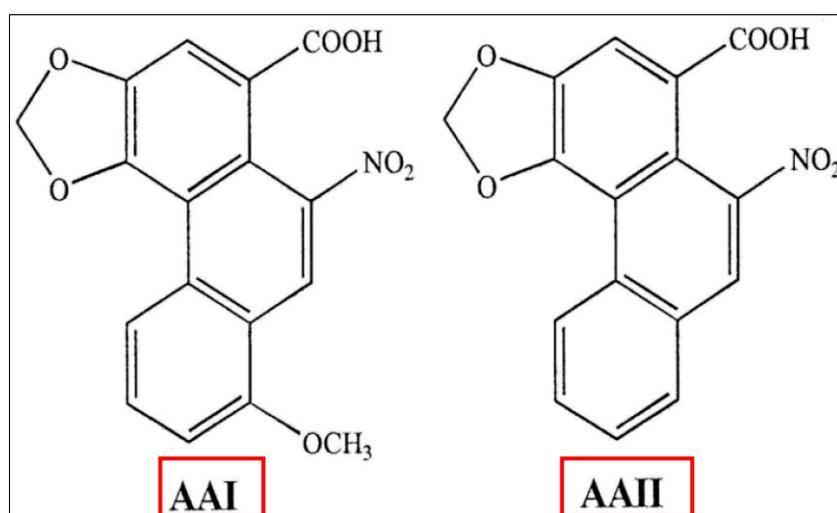


Figure 5. Structure chimique des acides aristolochiques I (AAI) et II (AAII)

(Okhale et al., 2019).

I.1.5. Activités biologiques du genre *Aristolochia* selon les études antérieures :

L'espèce *Aristolochia longa* était très riches en molécules bioactifs, ces derniers qui lui confèrent des capacités curatives et pharmacologiques très importantes.

➤ Activités anti-oxydantes

Les résultats d'une étude faite par des chercheurs marocains démontrées l'efficacité de la fraction aqueuse des racines de cette espèce comme un agent antioxydant (El Omari et al., 2019). Aussi, les résultats de Guinnin et al., (2016), prouvent la capacité antiradicalaire de l'extrait éthanolique d'*Aristolochia albida*.

➤ Activités anti-inflammatoires

Bharathajothi et Bhaaskaran., (2014), ont étudié l'activité anti-inflammatoire des extraits aqueux et éthanoliques d'*Aristolochia bracteolata in vitro*, les résultats ont donné d'excellents effets anti-inflammatoires. Aussi, Sosa et al., (2002), ont été déclaré que l'extrait chloroformique des feuilles d'*A. trilobata* a un effet anti-inflammatoire important par rapport à un médicament de référence dans lequel la valeur de la concentration d'inhibition $IC_{50}=108\text{mg}/\text{cm}^2$ alors que celui de standard est de $93\text{mg}/\text{cm}^2$.

➤ Activités antifongiques

Plusieurs études ont confirmées l'efficacité antifongique des extraits aqueux des racines d'*A. longa* vis-à-vis *Saccharomyces cerevisiae* (Merouani et al., 2017 ; Latha et al., 2015 ; Benaraba et al., 2014).

➤ Activités antidiabétiques

El-Omari et al., (2019), ont testé l'effet antidiabétique des différents extraits des racines d'*A. longa* en utilisant un modèle *in vitro* (α -glucosidase et β -galactosidase). Le résultat a révélé que les extraits ont un effet inhibiteur sur les deux enzymes en fonction de la concentration (0.5-5 mg/mL). En effet, à la concentration de 1,5 mg/ml, la fraction d'acétate d'éthyle présente l'activité inhibitrice la plus élevée contre la α -glucosidase avec $IC_{50}=76.56\pm 2.54\%$ et la β -galactosidase avec $IC_{50}=12.70\pm 1.27\%$. D'autres études ont déclarées aussi l'effet antidiabétique de cette espèce (Raju et al., 2017; Gadhi et al., 2001).

➤ Activités antibactérienne

Une étude marocaine a évalué l'activité antibactérienne des extraits hexane, dichlorométhane et méthanolique des racines d'*A. longa* sur un nombres des souches bactériennes Gram positives et Gram négatives. Les résultats ont montrées que l'extrait d'hexane présentait un effet inhibiteur total sur *S. aureus* avec une zone d'inhibition de 8.5mm, sur *E. coli* avec une zone d'inhibition de 1.55mm, et sur *P. aeruginosa* avec un halo d'inhibition

de 1.9mm de diamètre à la concentration 10mg/ml (El Yahyaoui El Idrissi et al., 2021).

Des études précédentes ont rapporté qu'*A. longa* a une activité antibactérienne *in vitro* significative contre *S. aureus*, *E. coli* et *P. aeruginosa* (Dhouioui et al., 2016).

Une étude algérienne, prouve l'efficacité de l'extrait méthanolique de fruit d'*A. longa* contre *P. aeruginosa* avec une zone d'inhibition de 20mm, contre *S. aureus* avec 18.5mm et contre *Bacillus cereus* avec un diamètre d'inhibition de 15mm à la concentration 100mg/ml (Merouani et al., 2017).

I.2. Présentation de la famille des Capparidaceae et de *Capparis spinosa* L.

D'après Benseghir Boukhari., (2015), La flore méditerranéenne accueille des représentants de familles subtropicales ou tropicales et parmi elles celles des capparidacées.

2.2. Présentation de la famille des Capparidaceae

Cette famille est représentée par des herbes, des arbustes et des arbres, elle est répartie en 46 genres et environ 700 espèces. Les genres les plus importants sont *Capparis*, *Cleome* et *Crateva* (Aghel et al., 2007). Cette famille possède des feuilles alternes, simples ou palmées composées et pétiolées. Fleurs solitaires et axillaires, ou en grappes simples, terminales ou axillaires, pétales et étamines en nombre variable. Sépales libres ou soudés. Fruit varié, capsule, baie ou drupe. Stipules inexistants ou présents, souvent développés en épines (Rad et al., 2021 ; Al-Tamimi et al., 2019).

***Capparis spinosa* L.**

I.2.1. Principales caractéristiques botaniques, distribution et écologie

Capparis spinosa L. communément appelée le câprier ou El-Kabbar en arabe (Al-Snafi., 2015) est l'espèce type du genre *Capparis* (Tlili et al., 2011). Il comporte environ 250 espèces fleurissantes, qui sont distribuées dans différents habitats, des zones subtropicales aux zones tropicales de l'Afrique, de l'Asie, de l'Australie, de l'Amérique méridionale et de l'Europe (Inocencio et al., 2006).

Capparis spinosa L., est un arbrisseau dressant avec des tiges flexueuses, épineuses portant des feuilles alternes, pétiolées, ovales-arrondies, lisses, vertes avec des épines à la base. Les fleurs sont axillaires, solitaires, composées de quatre grands sépales verts et de quatre pétales blancs veinés de rose et de nombreuses étamines très longues. Le fruit est ovoïde, rougeâtre, s'ouvre à la fin de la maturité (Fig.6). Les racines sont peu ramifiées, très puissants, larges et étendues qui pénètrent profondément dans le sol (Chedraoui et al., 2017 ; Khare., 2007).

El Kabbar (*C. spinosa* L.) est une plante originaire des régions sèches de l'Asie occidentale ou centrale et s'est particulièrement répandue dans le bassin méditerranéen (Inocencio et al., 2006 ; Yang et al., 2010) (Fig.7). Le câprier se développe naturellement dans les régions

montagneuses, il s'adapte aux sols pauvres et résiste à la chaleur et à l'ensoleillement (Akkari et al., 2016).

En Algérie cette espèce est pousse naturellement à l'état sauvage dans des endroits ensoleillés et sur des sols squelettiques, rocheux, secs et caillouteux. Elle couvre de vastes surfaces mais de manière éparse et on la rencontre souvent dans les secteurs semi-aride et dans le subhumide (Benseghir-Boukhari et Seridi., 2007).

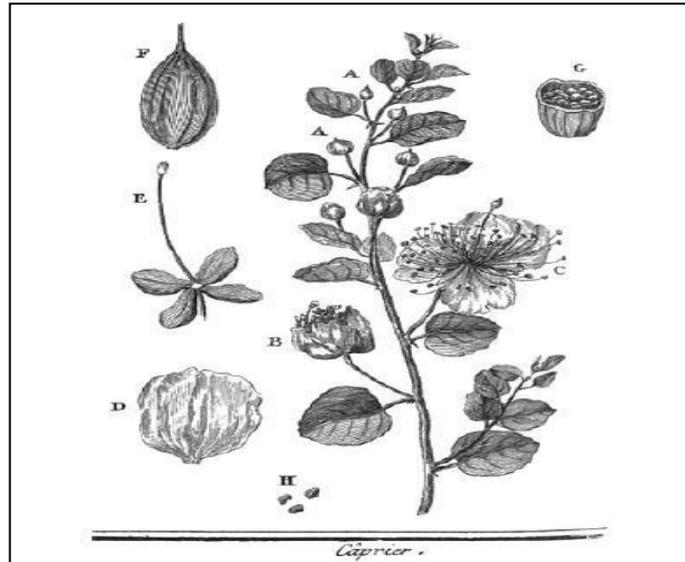


Figure 6. Différentes parties de *Capparis spinosa* L. (Meddour., 2019 ; Fadili et al., 2017).

A : bouton à fleur, **B** : bouton prêt à s'épanouir, **C** et **D** : la fleur composée de quatre pétales disposés en rose, blancs, échancrés, grands et ouverts ; les étamines, en nombre indéterminé de soixante à cent, colorées en rouge, **E** : le pistil est vert dans toute sa longueur, plus grand que les étamines, et rougeâtre à son sommet. **F** : fruit, baie charnue à une seule loge, représentée coupée horizontalement en **G**, renfermant des graines **H** en forme de rein.

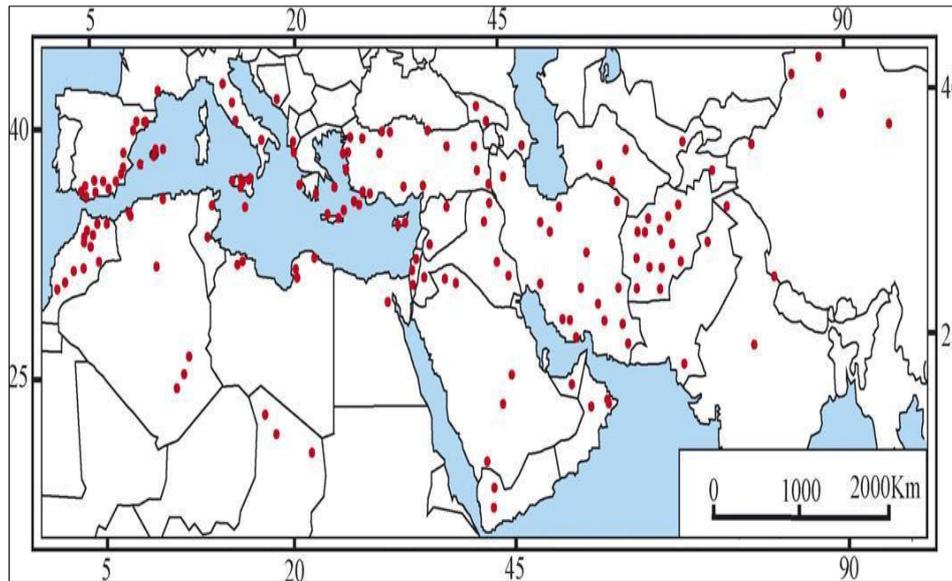


Figure 7. Distribution naturelle du câprier (Inocencio et al., 2006 ; Jiang et al., 2007).

I.2.2. Place dans la systématique (botanique)

La position taxonomique de l'espèce type *Capparis spinosa* L. est comme suite :

Tableau 2. Selon Quezel et Santa., (1962) et Dhakad et al., (2016), la systématique de cette espèce est la suivante.

Règne	Plantae
Sous règne	Eucaryotes
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Polypetales
Ordre	Thalamiflores
Sub-order	Parietales
Famille	Capparidaceae
Genre	<i>Capparis</i>
Espèce	<i>Capparis spinosa</i> L.

I.2.3. Utilisations traditionnelles

Le câprier est utilisé depuis l'antiquité dans plusieurs pays en cuisine, et les câpres (bourgeons floraux) sont généralement utilisées comme épice. De nos jours, les fruits, les graines et les boutons floraux sont utilisés dans les salades, les pizzas et les pâtes (Assadi et al.,

2021 ; Al Tamimi et al., 2019).

Il a été utilisé depuis des siècles dans la phytothérapie traditionnelle comme antifongique (Lemhadri et al., 2007 ; Ali Shtayeh et Abu Ghdeib., 1999), anti-inflammatoire (Satyanarayana et al., 2008), antihépatotoxique (Gadgoli et Mishra., 1999), antidiabétiques (Huseini et al., 2013) et antirhumatismales (Feng et al., 2011).

Dans l'antiquité, les racines étaient consommées par les anciens égyptiens et les arabes pour le traitement des maladies rénales, des maladies du foie, des problèmes d'estomac et les piqûres de scorpion (Oudah et al., 2014). Les feuilles étaient utilisées contre les maladies de la peau et les bourgeons étaient utilisés contre les maladies de la rate (Tlili et al., 2011).

Les Iraniens utilisaient la racine, le fruit et l'écorce de cette espèce comme diurétiques et toniques contre la malaria et les maladies des articulations (Afsharypuor et al., 1998). Au Pakistan, les feuilles de *C. spinosa* sont utilisées comme analgésiques, anti-hémorroïdes et apéritive (Chopra et al., 1986). L'écorce est utilisée contre la toux et les inflammations (Chedraoui et al., 2017). En Indonésie, la racine de cette espèce est utilisée contre la bronchite et les maux d'estomac. Les feuilles de *C. spinosa* sont utilisées par les somaliens pour traiter la toux, et au Bahreïn comme tonique et expectorant (Tlili et al., 2011).

I.2.4. Composition chimiques du genre *Capparis* selon la littérature

Les analyses du matériel végétal de l'espèce *C. spinosa* L. par plusieurs chercheurs ont permis d'identifier un large éventail de composés phytochimiques qui sont présents dans diverses parties de cette espèce et qui ont plusieurs propriétés pharmacologiques de grand intérêt (Tlili et al., 2017).

C. spinosa, contient une large gamme de composés naturels tel que les flavonoïdes (rutine), les alcaloïdes (capparisine, tétrahydroquinoline et stachydrine), les composés phénoliques, les terpénoïdes, les huiles volatiles et les acides (Yang et al., 2010 ; Matthäus et Ozcan., 2003).

D'après Duman et Ozcan., (2014), Les principaux composants des graines de *C. Spinosa* sont l'acide palmitique, l'acide linoléique, l'acide linoléique et les stérols.

Aussi, plusieurs composés phénoliques et flavonoïdes dont l'acide caféique, la catéchine, l'acide chlorogénique, la coumarine, l'acide férulique, le kaempférol, la lutéoline, la quercétine, le resvératrol, la rutine, l'acide syringique et l'acide vanillique ont été identifiés dans les feuilles et les fruits de la même espèce (Tlili et al., 2017 ; Nabavi et al., 2016 ; Oudah et al., 2014 ; Sharrif Moghaddasi et al., 2012 ; Sharaf et al., 2000).

D'autres études ont confirmées la présence d'un nombre important de composés bioactifs à savoir les alcaloïdes : spermidines, cadabicine et stachydrine (Fu et al., 2008), Les terpénoïdes (Tesoriere et al., 2007), les composés réducteurs : glucose, arabinose, mannose et galactose

(Demir et al., 2008), les lipides (Argentieri et al., 2012 ; Tlili et al., 2010) et les caroténoïdes (Tlili et al., 2009),

I.2.5. Activités biologiques du genre *Capparis* selon les études antérieures :

Capparis spinosa L. est un arbuste épineux de la famille des Capparidaceae, cette dernière qui est largement répandu dans tout le bassin méditerranéen (Vahid et al., 2017). La plupart des organes de cette plante ont été utilisés comme remèdes populaires pour différentes maladies (Tlili et al., 2017).

➤ Activités antidiabétiques

Assadi et al., (2021), ont testé les effets protecteurs *in vitro* de l'extrait hydro-éthanolique du fruit de cette espèce contre le diabète et le stress oxydatif chez les rats diabétiques de type 2, les résultats montrent que cette espèce possède un effet anti-hyperglycémique significatif et peut représenter un complément alimentaire antioxydant valable pour les patients atteints de diabète de type 2.

La racine et les feuilles de *C. spinosa* inhibent l'hydrolyse des hydrates de carbone dans l'intestin grêle en réduisant l'activité de l'alpha-amylase, L'effet inhibiteur de l'extrait méthanolique des feuilles sur cette enzyme est plus puissant que celui de la racine (Vahid et al., 2017). L'inhibition de l'alpha-amylase réduit la vitesse d'absorption des glucides dans l'intestin grêle et entraîne une diminution du taux de glycémie postprandiale (Eddouks et al., 2017).

➤ Activités antibactériennes

C. spinosa a un large effet bactéricide contre les bactéries gram-positives et négatives (Muraih et al., 2020). La décoction de racines de *Capparis spinosa*, est largement utilisée dans la médecine traditionnelle du sud de l'Italie. Elle a été préparée et soumise à des tests d'activité antibactérienne, et elle a montré une capacité antibactérienne intéressante vis-à-vis *Deinococcus radiophilus*, alors que les tests effectués sur *Escherichia coli* n'ont montré aucune activité (Boga et al., 2011).

Des extraits des bourgeons floraux et fruits immatures du *C. spinosa* d'Algérie ont une activité antibactérienne contre *S. aureus*, alors qu'*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* sont résistantes (Meddour et al., 2013). Les résultats de l'activité antibactérienne des extraits acétonique et méthanolique de *C. spinosa* du Maroc testés contre des souches pathogènes *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*, a révélé l'inefficacité de divers extraits (Tagnaout et al., 2016).

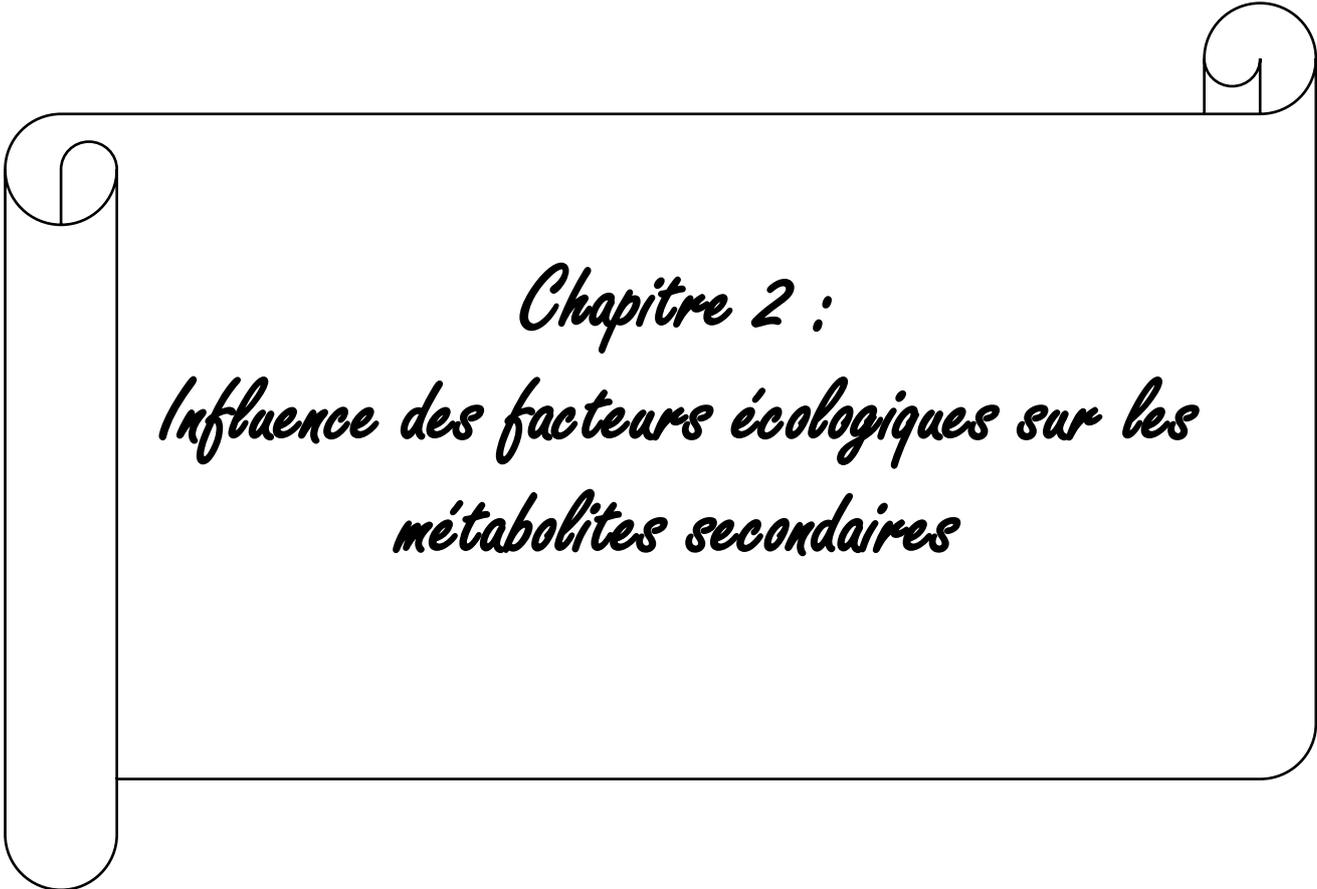
➤ Activités antioxydantes

Différentes parties de *C. spinosa* ont été étudiées pour leur activité antioxydante. L'huile essentielle de *C. spinosa* de Croatie a montré une activité antioxydante intéressante vis-à-vis la

méthode de blanchiment au β -carotène (Kulisic-bilusic et al., 2010).

L'extrait méthanolique de bourgeons de câprier d'Algérie montre une activité remarquable de piégeage des radicaux (DPPH), avec une valeur d'IC50 = 53.53 μ g/mL. Cette activité est supérieure à celle de contrôle positif (BHT). Par contre, son activité chélatante sur les ions ferreux est modérée (FRAP), avec une IC50 = 190 μ g/mL (Bouriche et al., 2011).

L'extrait méthanolique des fruits de *C. spinosa* de Bahreïn a été évalué pour sa capacité antioxydante à l'aide de plusieurs méthodes DPPH, FRAP et ABTS. Les résultats ont révélé une capacité antioxydante et anti radicalaire supérieure dans la graine par rapport au fruit (Allaith., 2016). Plusieurs études et recherches prouvent et appuient les propriétés antioxydantes de *Capparis spinosa* (Meddour et al., 2013 ; Yang et al., 2010 ; Bonina et al., 2002).



Chapitre 2 :
Influence des facteurs écologiques sur les
métabolites secondaires

II. Eléments actifs des plantes médicinales

Le métabolisme primaire de tous les êtres vivants fournit un grand nombre des molécules de base tel que les protéines, les lipides, les acides nucléiques et les glucides. De plus, les plantes produisent des molécules qui ne sont pas issus directement de la photosynthèse, mais résultent des réactions chimiques ultérieures. Ces molécules sont appelées métabolites secondaires (Badiaga., 2011 ; Berreghioua., 2016) dont leurs fonctions ne sont pas essentiel à la vie de la plante, mais, ils jouent un rôle majeur dans leurs interactions avec l'environnement (Richter., 1993).

II.1. Classification des composés bioactifs :

On différencie deux types de molécules bioactifs : les métabolites primaires qui sont directement impliqués dans les processus vitaux de la plante dont la croissance, le développement, la reproduction et l'assimilation des nutriments, et les métabolites secondaires quant à eux, jouent plusieurs rôles comme servir de défense pour la plante ou attirer certaines espèces polinisatrices. Ils permettent également la communication de plantes à plantes (Verpoorte et Alfermann., 2013 ; Kang et al., 2010).

- **Métabolites primaires**, Ils se trouvent dans toutes les cellules, leurs présence est nécessaire à la survie des plantes (Croteau et al., 2000), ils sont classés en:
 - Glucides représentent une source d'énergie surtout au niveau des parois cellulaires.
 - Lipides constituent aussi une source d'énergie présente dans les membranes cellulaires.
 - Et amino-acides représentent une source primaire de construction des protéines (Zaiter., 2017 ; Badiaga., 2011).
- **Métabolites secondaires**, Ils ont une répartition limitée, et ils interviennent dans les relations qu'entretient la plante avec l'environnement et les organismes vivants qui l'entourent (Anulika et al., 2016). Ces molécules peuvent être divisés en trois grandes catégories selon leur structure chimique, composition, leur solubilité dans les différents solvants ou leurs voies de biosynthèse en :
 - Composés polyphénoliques.
 - Terpénoïdes.
 - Alcaloïdes et Composés azotés (Kabera et al., 2014) (Tab.3).

Tableau 3. Principaux familles de métabolites secondaires (Anulika et al., 2016).

Familles	Sous-familles
Composés phénoliques	Coumarines, Flavonoïdes, Tannins, Anthraquinones
Terpenoïdes	Monoterpènes, Sesquiterpènes, Diterpènes, Triterpènes, Polyterpènes
Alcaloïdes	Amines, Alcaloïdes

II.1.1 Composés polyphénoliques

Les polyphénols sont des composés qui existent dans toutes les plantes et renferment plus de 8000 composés naturels dont les flavonoïdes sont la classe la plus importante (Hummer et Schreier., 2008 ; Djeridane et al., 2006).

Cette famille est caractérisée par la présence de phénol dans leur structure : un cycle aromatique portant un groupement hydroxyle libre (Watson., 2018) (Fig.8). Elle peut être classé en fonction du nombre et de la disposition de leurs atomes de carbone (Pandey et Rizvi., 2009) et sont couramment conjugués aux sucres et aux acides organiques.

Ils sont présents dans toutes les parties des plantes et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la germination des graines et la maturation des fruits (Boizot et Charpentier, 2006 ; O'Connell et Fox., 2001). Ils peuvent se regrouper en deux grands groupes : les flavonoïdes et les non flavonoïdes (Ejaz et al., 2017 ; Crozier et al., 2007) (Fig.9).

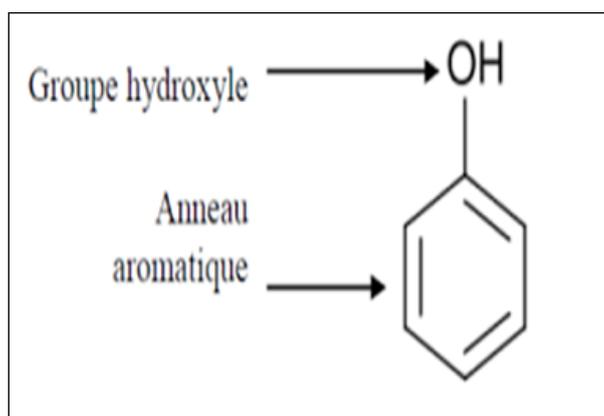


Figure 8. Structure de base des composés phénoliques (phénol) (Dacosta, 2003).

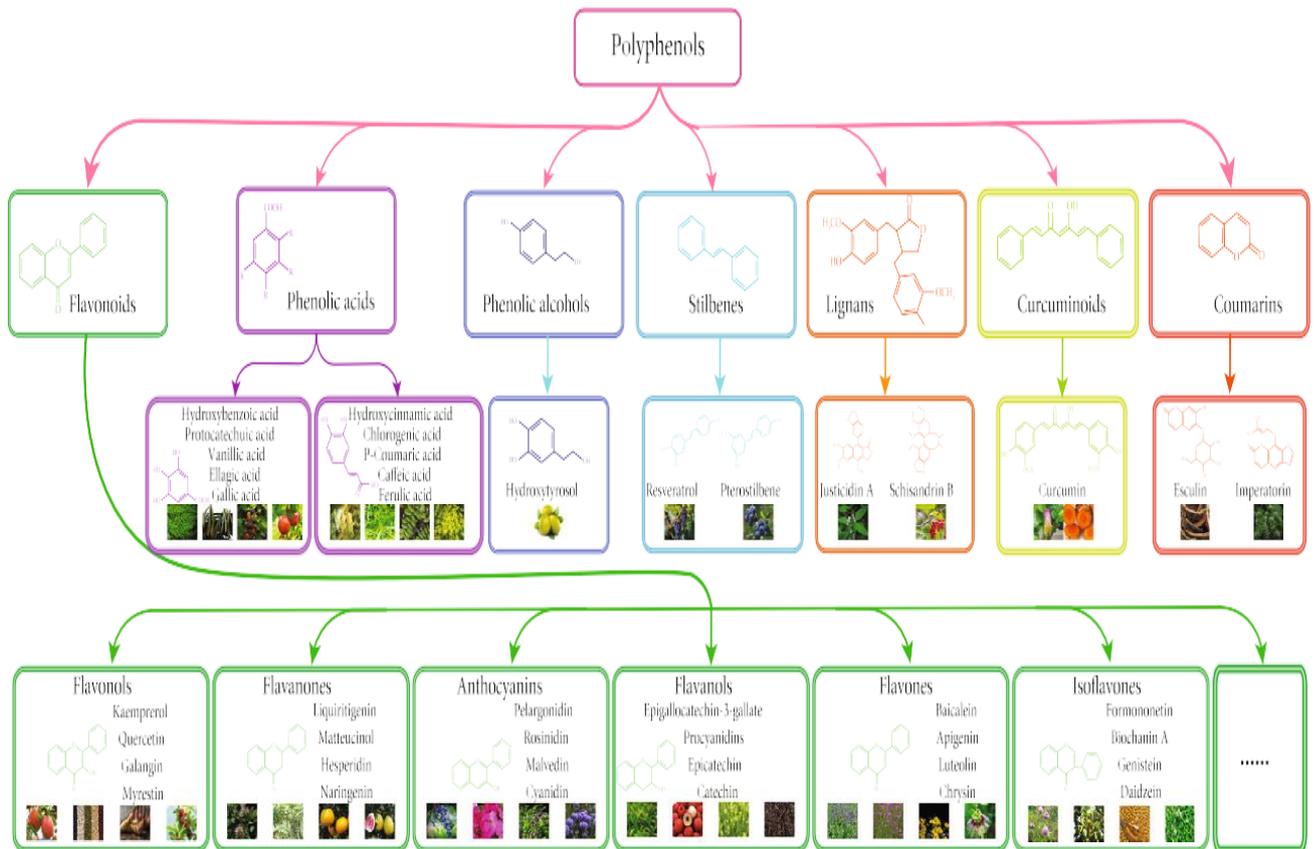


Figure 9. Différentes classes de polyphénols (Yan et al., 2022).

🌈 Flavonoïdes

Ils sont constitués de deux anneaux de benzène séparés par une unité de propane, et sont généralement hydrosolubles (Williams et Grayer., 2004). On les trouve généralement dans les fruits, les légumes, les céréales, les racines, les tiges et les fleurs (Olajid et Sarker., 2020 ; Min et al., 2018).

Chimiquement, ils sont formés par un diphenylpropane C6-C3-C6, qui se compose de deux cycles benzéniques A et B reliés par une chaîne à trois atomes de carbone qui forment un hétérocycle C oxygéné (Abotaleb et al., 2019) (Fig.10). Les flavonoïdes sont maintenant considérés comme des composants indispensables dans diverses applications pharmaceutiques, médicinales et cosmétiques (Crozier et al., 2007 ; Ren et al., 2003). Ils sont capables de piéger des radicaux libres, d’inhiber la peroxydation lipidique et de piéger les ions métalliques (Humer et Schreier., 2008).

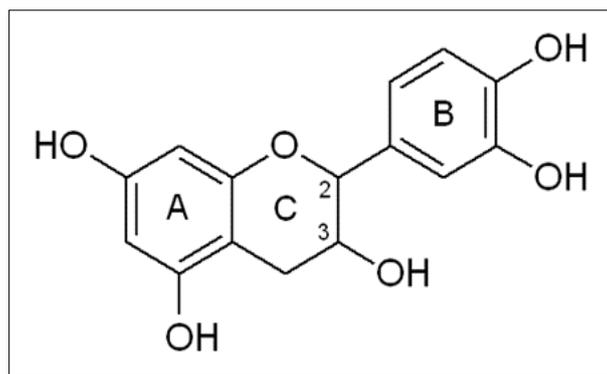


Figure 10. Squelette de base des flavonoïdes (Heim et al., 2002 ; Di Carlo et al., 1999).

Ces molécules peuvent être classées en six sous-groupes principaux, sur la base de l'état d'oxydation de l'hétérocycle C :

- Flavonols (quercétine).
- Flavones (apigénine).
- Flavanones (naringénine).
- Isoflavones (biochanine A).
- Anthocyanidins et Flavanols (catéchine et proanthocyanidines) (D'Archivio et al., 2007; Kinoshita et al., 2005) (Fig.11).

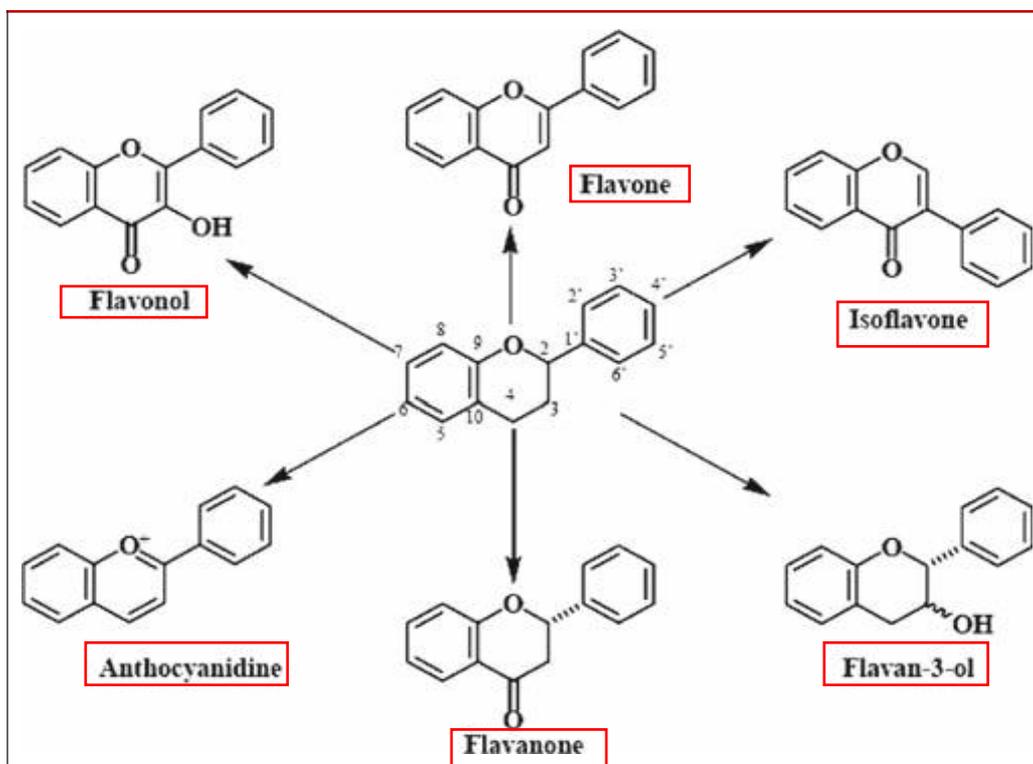


Figure 11. Différentes classes des flavonoïdes (Kinoshita et al., 2005 ; O'Connell and Fox., 2001).

✚ Non flavonoïdes

a. Acides phénolique :

L'acide-phénol est un composé organique possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique (Ignat et al., 2011). Ils sont présents en abondance dans les aliments, ils incluent les acides hydroxybenzoïques (acides vanilliques) et les acides hydroxycinnamiques (Pandey et Rizvi., 2009). Les deux classes fréquentes d'acides phénoliques sont :

✓ Acides hydroxybenzoïques

Sont dérivés de l'acide benzoïque (dérivent par hydroxylation de l'acide benzoïque) et ont une formule de base de type C₆-C₁ (Fig.12-A-). Les dérivés substitués des acides hydroxybenzoïques sont les acides phénoliques prédominants dans les plantes. Les acides hydroxybenzoïques qui se produisent fréquemment dans les aliments comme des esters simples avec de l'acide quinique ou du glucose sont : l'acide protocatéchique, vanillique, ellagique, gallique, syringique, salicylique et l'acide gentisique (Călinoiu et Vodnar., 2018).

✓ Acide hydroxycinnamique

Sont des dérivés appartiennent à la famille des phénylpropanoïdes, qui représentent une classe très importante dont la structure de base (C₆-C₃) provient de celle de l'acide hydroxycinnamique (Fig.12-B-). Les molécules de base de la série hydroxycinnamiques sont l'acide caféique, p-coumarique, l'acide férulique et l'acide sinapique (Bijalwan et al., 2016 ; Ignat et al., 2011).

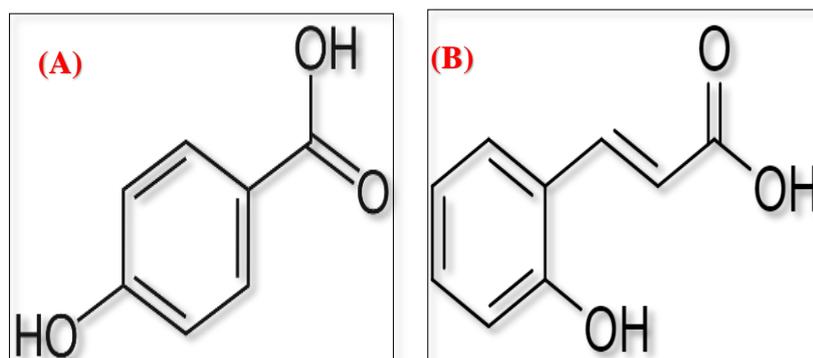


Figure 12. Structure chimique de l'acide phénolique, **A** : l'acide hydroxybenzoïque et **B** : l'acide hydroxycinnamique (Călinoiu et Vodnar., 2018).

b. Tanins

Ce sont des oligomères hydrosolubles, riches en groupes phénoliques, capables de se lier ou de précipiter des protéines solubles dans l'eau. Les tanins sont très répandus dans le règne végétal, mais ils sont particulièrement abondants dans certaines familles comme les Conifères,

les Fagacée et les Rosacée (Ghestem et al., 2001).

On les trouvent principalement dans les tissus ligneux, les feuilles, les fleurs et les graines (Khanbabae et Ree., 2001). Les tissus végétaux riches en tanins ont un goût très amer et sont évités par la plupart des animaux (Hagerman et Butler., 1989). Sur le plan structural, ces molécules sont divisées en deux groupes :

- ✓ **Tanins Hydrolysables** : Ce sont des hétérosides polyphénoliques issus de la combinaison d'un sucre estérifié (le glucose ou l'acide quinique) par un nombre variable de molécules d'acides phénoliques (acide gallique → tanins gallique, ou acide hexahydroxydiphénique et ses dérivés → tannins ellagiques) (O'Connell et Fox., 2001).
- ✓ **Tanins Condensés** : Ce sont les tanins catéchiques, oligomères et polymères d'aglycones polyphénols flavaniques (unités flavan-3-ols et flavan-3-4-diols), et ils sont résistants à l'hydrolyse (Gourlay et Constabel., 2019).

II.1.2. Terpénoïdes

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels de structure cyclique ou de chaîne ouverte (Fig.13). Leur particularité structurale est la présence dans leur squelette d'unité isoprénique à 5 atomes de carbone (C_5H_8) dérivées du 2-méthylbutadiène (Bekkali et al., 2008).

Les terpénoïdes jouent divers rôles chez les plantes, dont la gibbérélines et l'acide abscisique en tant qu'hormones, les stérols entrent dans la composition des membranes végétaux (Ejaz et al., 2017), et les caroténoïdes en tant que précurseurs de l'acide abscisique , qui règlent la croissance et les réponses au stress (Mahmoud et Croteau, 2002).

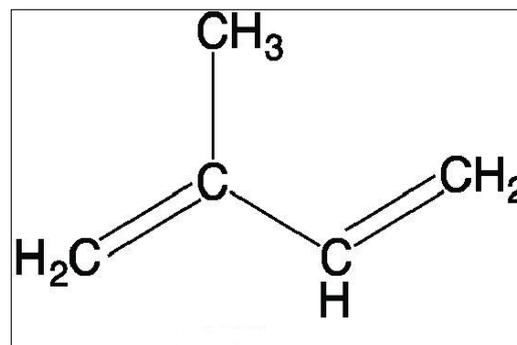


Figure 13. Structure de l'unité isoprénique (Qureshi et Porter., 1981).

Les terpènes sont subdivisés selon le nombre d'entités isoprènes en :

- Monoterpènes : formés de deux isoprènes ($C_{10}H_{16}$).
- Sesquiterpènes : formés de trois isoprènes ($C_{15}H_{24}$).
- Diterpènes : formés de quatre isoprènes ($C_{20}H_{32}$).

- Triterpènes : formés de six isoprènes ($C_{30}H_{48}$).
- Tétraterpènes : formés de huit isoprènes qui conduisent aux caroténoïdes.
- Polyterpènes : formés de $(C_5H_8)_n$, ou, (n de 9 à 30) (Anulika et al., 2016 ; Bekkali et al., 2008).

II.1.3. Alcaloïdes

Ce sont des substances organiques azotées d'origine végétale, de caractère alcalin (pH=7) et de structure complexe (noyau hétérocyclique) (Anulika et al., 2016), et sont, généralement, synthétisés à partir d'acides aminés aliphatiques et aromatiques (la tyrosine, la lysine, le tryptophane et l'aspartate) (Loomis et Croteau, 1980). On les trouve dans plusieurs familles des plantes, la plupart des alcaloïdes ont un goût amer et certains sont fortement toxiques. Certains alcaloïdes sont utilisés comme moyen de défense contre les infections microbiennes (nicotine, caféine, morphine, lupinine) (Moghtet., 2018 ; Badiaga., 2001).

Ils sont classés en trois groupes :

- Alcaloïdes typiques ayant un cycle hétérocyclique avec un atome d'azote et sont dérivés d'acides aminés.
- Amines biologiques qui sont non hétérocycliques.
- Alcaloïdes stéroïdiens ayant un hétérocycle avec un atome d'azote mais non dérivé d'acides aminés (Ejaz et al., 2017).

II.2. Rôle des métabolites secondaires

D'après Wink., (2013), les métabolites secondaires protègent les plantes dans des conditions défavorables, contre des pathogènes et les stress environnementaux. Ils ont des propriétés d'attraction de pollinisateur, de défense contre des agents pathogènes, des prédateurs ou encore contre des facteurs de contrainte liées à leur environnement direct : UV, température.

Certain terpènes tels que les gibbérellines, les stérols, les caroténoïdes, et l'acide acétique jouent un rôle important dans la croissance et le développement des plantes. Ils jouent un rôle essentiel dans la défense des plantes, car ils présentent une toxicité pour les insectes et les mammifères. Les pyréthroïdes du chrysanthème qui agissent comme des insecticides en sont un bon exemple (Al Naser., 2018). Les polyphénols ont également un rôle dans le contrôle de développement des plantes en interagissant avec les diverses hormones végétales de croissance. Ils permettent aux végétaux de se défendre contre les rayons ultraviolets (Zergui., 2016). Ils ont aussi, une activité antioxydante en raison de leurs capacités à réduire les espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Naghiloo et al., 2012), et ils peuvent être utilisés comme indicateur de stress, car leurs teneur est augmentée suite à l'exposition à des substances toxiques ou autres facteurs de stress (Achakzai et al., 2009). Les coumarines sont considérées comme des phytoalexines,

c'est-à-dire des métabolites que la plante synthétise en grande quantité pour lutter contre une infection causée par des champignons ou par des bactéries (Hofmann., 2003). Les flavonoïdes aussi, ont un effet protecteur contre le stress thermique. Ils pourraient également permettre aux plantes de survivre sur les sols riches en métaux toxiques comme l'aluminium, ils ont un rôle important dans la protection contre les rayons ultraviolet (UV), et sont de puissants piègeurs des espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Treutter., 2005).

II.3. Effet des facteurs écologiques sur la l'accumulation des métabolites secondaires

La teneur et le profil chimique des plantes varient en fonction des facteurs intrinsèques et extrinsèques. Les premiers facteurs sont fortement liés à la biosynthèse de la plante, de son profil génétique et de l'organe. Alors que les seconds sont liés principalement à l'origine géographique, aux facteurs écologiques notamment climatiques : température, pluviométrie, humidité, altitude et pédologiques (type du sol) (Djouahri et al., 2015 ; Radušienė et al., 2012). Ces deux facteurs sont parmi les facteurs qui ont un effet fort et direct sur la teneur et la composition chimique en substances actives chez les plantes (Al Naser., 2018 ; Ncube et al., 2012), pour que les plantes de la même espèce qui se développent dans des lieux différents peuvent avoir des métabolites secondaires différents de point de vue quantitative et qualitative (Verma et Shukla., 2015). Aussi, l'effet des facteurs écologiques sur les plantes apparaissent sous forme de réponses fonctionnelles, les végétaux perçoivent les signaux extrinsèques et les transmettent à la machinerie cellulaire pour activer les mécanismes de réponses (Aissaoui., 2010).

Facteurs écologiques

a. Facteurs climatiques

✚ Facteurs biotiques

Ce sont des interactions des plantes avec d'autres organismes vivants animaux ou végétaux comme les parasites, les prédateurs ou les pollinisateurs (plante/agent pathogène). D'après Al Naser., (2018), certains métabolites secondaires qui s'appellent phyto-alexines ont des activités antimicrobiennes qui fonctionnent comme un système défensif chez les plantes contre les agents pathogènes. Les molécules synthétisées en réponse à une attaque par des agents pathogènes peuvent être des éliciteurs qui jouent un rôle d'activateur de gènes de défenses (Schulze et al., 2002), et peuvent être de différentes natures et proviennent le plus souvent de l'agent pathogène. A titre d'exemple l'acide jasmonique est un éliciteur qui favorise la production des molécules bioactives chez les plantes (Poulev et al., 2003).

Facteurs abiotiques :

Ce sont des facteurs de nature physico- chimique « non liés à la vie», qui caractérisent le milieu considéré (climatiques et pédologiques) généralement indépendants de la densité de la population sur laquelle, ils exercent leurs effets et ont des paramètres mesurables (Verma et Shukla., 2015). On peut dire que ce sont des interactions des végétaux avec les différents composants abiotiques de l'environnement tel que la température, les précipitations, l'humidité, le sol et les éléments minéraux. Donc une existence plus ou moins importante de ces éléments abiotiques à une influence directe ou indirecte sur les voies métaboliques est par conséquent sur la quantité et la qualité des métabolites secondaires chez les plantes (Al Naser., 2018 ; Ramakrishna et al., 2011 ; Schulze et al., 2002).

✓ **Stress hydrique**

Il correspond à toute condition ou combinaison de conditions environnementales qui sont défavorables et qui empêche la plante de réaliser l'expression de son profil génétique pour la croissance, le développement et la reproduction (Jones et Qualset., 1984).

L'eau est un élément nécessaire dans toutes les réactions métaboliques, et molécule clé dans la quasi-totalité des activités physiologiques des végétaux. Elle alimente la sève des plantes qui transporte les éléments nutritifs indispensables à leur croissance, elle permet le maintien des organes et participe à l'allongement cellulaire (Ghestem et al., 2001).

Doré et al., (2006), ont été déclaré que le déficit hydrique affecte plusieurs processus vitales de la plante telles que le métabolisme, l'organogénèse (production d'organe par les méristèmes) et la morphogénèse (phénomène de différenciation, et de croissance aboutissant à des organes matures) selon sa durée et son intensité (De Abreu et Mazzafera., 2005). Aussi, il provoque une diminution voire un arrêt de la croissance (Yoland., 2015), un flétrissement des parties aériennes et, si le stress est trop intense ou trop long, la mort de la plante (Yokota et al., 2006).

Différents auteurs, ont noté une diminution significative de la photosynthèse en cas d'un déficit hydrique (Nouri., 2011). Cette diminution est liée à la réduction de la pénétration du CO₂ et à la fermeture des stomates (Plaut et Federman., 1991). En effet, l'effet dépressif d'une contrainte hydrique sur la photosynthèse des végétaux résulte non seulement d'une baisse de la conductance stomatique, mais également d'une altération de l'appareil photosynthétique et/ou d'une diminution de la surface foliaire (Kaiser., 1987).

✓ **Stress thermique**

La température joue un rôle majeur dans la distribution des plantes sur la surface terrestre, elle a un impact direct ou indirect sur tous les processus physiologique et métabolique des plantes (Ramakrishna et al., 2011 ; Yadave., 2010). Egalement, elle a la capacité d'orienter leurs croissance ainsi leurs teneurs en composés bioactifs (Moudjahid., 2004). La synthèse de ces derniers est le résultant de nombreuses réactions biochimiques qui sont dominées par des systèmes enzymatiques caractérisés par une température optimale dans laquelle l'activité est maximale, et au-delà duquel la plante présente des troubles métaboliques (Haykel., 1993).

Hauchinal et al., (1993), mentionnent que le stress thermique déclenche une accélération du développement et une réduction des dimensions des organes constitutifs végétal. La résultante est un effet négatif sur la productivité globale de la plante.

Les températures élevées affectent fortement les organes floraux et la formation des fruits, ainsi que le fonctionnement de l'appareil photosynthétique, elles accélèrent le dessèchement des feuilles et interviennent aussi sur la physiologie, notamment en inhibant la photosynthèse puis en dégradant les pigments, en particulier les chlorophylles (Jonathan., 2020). Alors que les baisses températures, provoque de nombreuses perturbations dans la plante. Lorsque la température chute fortement, des cristaux de glace se forment dans les espaces intercellulaires déshydratant les cellules dont l'eau migre vers ces espaces. La membrane plasmique perd sa spécificité et il y a arrêt du fonctionnement cellulaire (Kabongo Tshiabukole., 2018).

✓ **Stress salin**

Le stress salin est l'un des principaux stress abiotiques limitant la croissance végétale (Hakemi., 2019). Est un stress hydrique auquel se surajoute l'effet toxique de fortes concentrations en sodium dans les tissus végétaux (Tippmann et al, 2006). Il crée souvent un stress ionique et osmotique dans les plantes, ce qui peut affecter à la fin la croissance et la photosynthèse et donc modifier la disponibilité en carbone pour la production des métabolites secondaires (Mahajan et al., 2005). Selon Al Naser., (2018), ce stress peut conduit à la déshydratation cellulaire, ce qui provoque un stress osmotique et l'élimination de l'eau du cytoplasme, ce qui entraîne une réduction des volumes cytosolique et vacuolaire.

La salinité provoque le plus souvent un dépérissement des tissus, suivi par une perte de turgescence, par une chute des feuilles et finalement par la mort de la plante (Zid., 1982).

✓ **Lumière**

La lumière est un élément environnemental important requis par les plantes pour les échanges photosynthétiques et respiratoires (Haykel., 1993) et donc la fourniture des squelettes carbonés et l'énergie nécessaire à la formation des molécules bioactives, et d'autres composés nécessaires à la construction de organes végétal (Ncube et al., 2012). Néanmoins, elle peut devenir une source de stress par son intensité, éclairage trop faible ou trop élevé, en conduisant à des phénomènes de photosensibilisation dangereux pour la plante (Leclerc., 2010). Szymańska et al., (2017), ont déclaré que lorsque l'intensité lumineuse est élevée, on va voir une augmentation de fixation du carbone dans le chloroplaste, suivi par la formation des radicaux libres et on parle de stress photo-oxydatif.

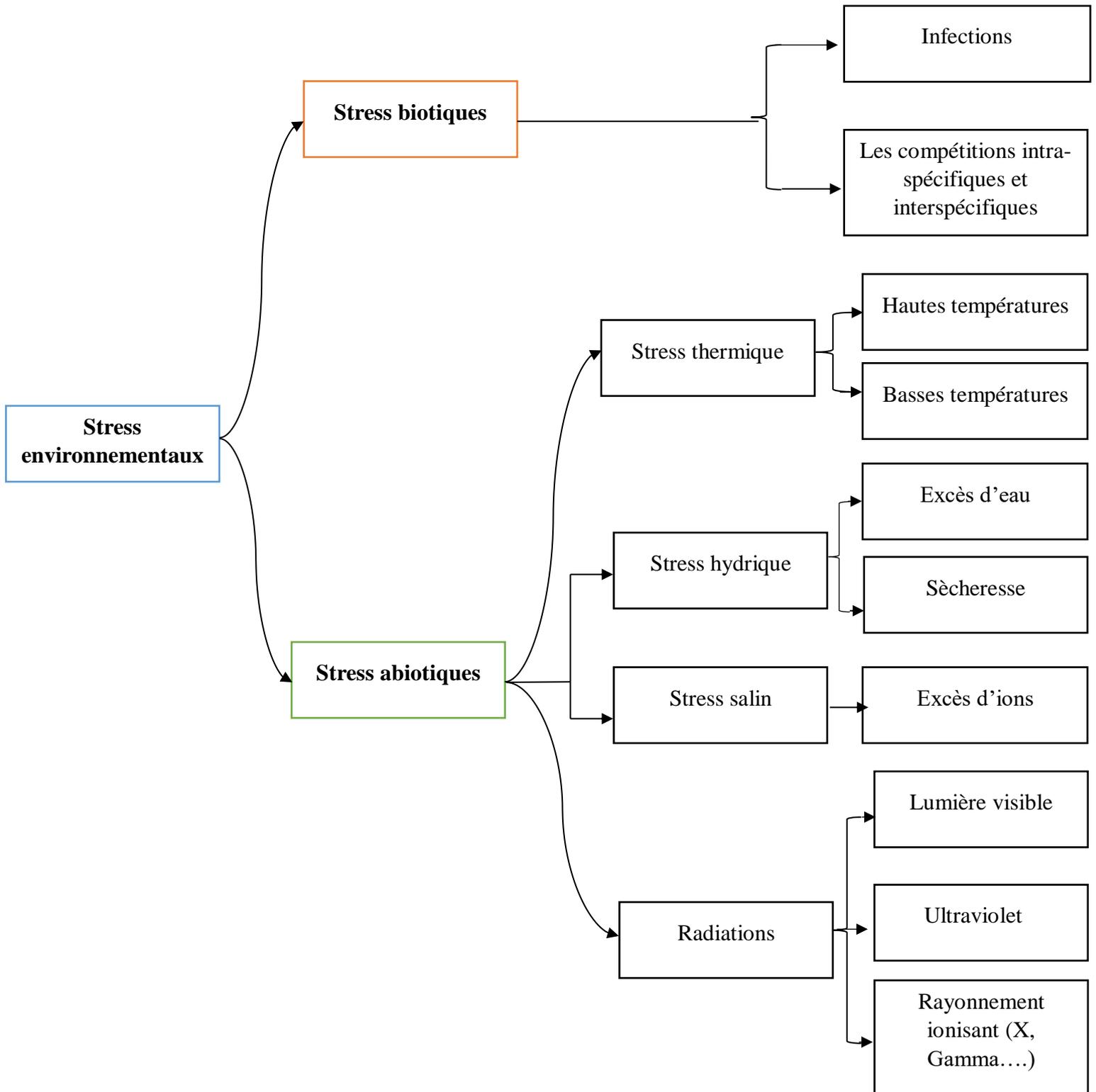


Figure 14. Principaux stress environnementaux auxquels les plantes sont confrontés (Schulze et al., 2002).

Tableau 4. Principaux facteurs écologiques influençant les réponses du métabolisme secondaire des plantes (Pavarini et al., 2012).

Facteur environnementaux	Plante	Effet
La basse température	<i>Artemisia spp.</i>	niveaux plus élevés d'artémisine
Une exposition plus longue à la lumière	<i>Panax quinquefolius</i>	niveaux plus élevés de ginsénosides
Atmosphère enrichie en dioxyde de carbone	<i>Quercus spp.</i> ; <i>Galactia elliottii</i>	niveaux de tanin plus élevés
Déficit hydrique	<i>Quercus ilex</i>	réduire les émissions de monoterpènes
Conditions élevées de nutrition en cuivre et magnésium	<i>Eugenia uniflora</i>	diminuer la teneur en tanins et en flavonoïdes

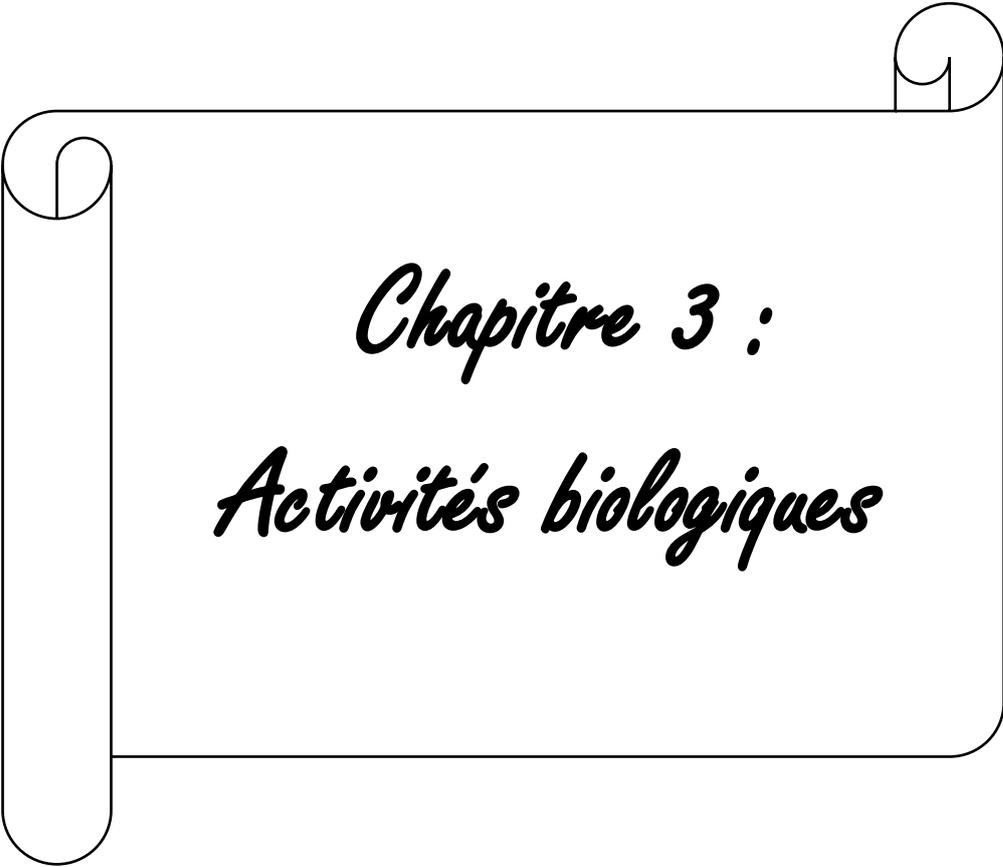
b. Facteurs pédologiques

Le sol est le produit de l'altération du remaniement et de l'organisation des couches supérieures de la croûte terrestre sous l'action de la vie, de l'atmosphère et des échanges d'énergie qui s'y manifestent. Il confère aux végétaux l'eau, les minéraux et la matière organique nécessaires à leur croissance. L'obtention d'une grande quantité de métabolites secondaires des plantes demande une bonne terre nutritive (Freschet et al., 2018).

De très nombreux facteurs édaphiques influencent la végétation, il peut s'agir de facteurs physiques (texture, densité, structure, température... etc), de facteurs chimiques (quantité de matière organique, capacité d'échange anionique et cationique), ou de la disponibilité en ressources (eau, éléments minéraux) (Bronick et al., 2005). A titre d'exemple, le tableau 5 représente la liste des principales conditions abiotiques de sol qui influencent l'établissement, la croissance et la survie des plantes.

Tableau 5. Principales propriétés du sol imposant des contraintes aux plantes
(Gardner et al., 1999).

Contraintes abiotiques	Effets sur le fonctionnement des plantes
<u>Facteurs physiques</u>	
Faible contenu en argiles	Faible disponibilité en éléments minéraux limitant la croissance des plantes, et plus particulièrement leurs parties aériennes
Sols sableux et absence d'agrégation	Sols érosifs et faible ancrage des plantes
<u>Facteurs chimiques</u>	
Faible contenu en eau liquide	Faible disponibilité en eau et éléments minéraux en milieux arides et sols gelés limitant la croissance des plantes et peuvent entraîner un flétrissement
Faible contenu en matières organiques	Faible disponibilité en éléments minéraux, en particulier azote limitant la croissance des plantes
Forte salinité	Stress osmotiques et toxicité en sodium et chlore
Sols acides	Faible disponibilité en éléments minéraux, en particulier azote, phosphore et potassium limitant la croissance des plantes
Sols calcaires	Déficiência en microéléments, en particulier fer, zinc entraînant des dysfonctionnements métaboliques



Chapitre 3 :
Activités biologiques

III.1. Activités Antioxydantes

Les plantes médicinales ont de nombreuses vertus, en raison de la présence des composés actifs qui peuvent jouer un rôle positif pour la santé humaine (Wadood et al., 2013). Lors des réactions biochimiques il y a possibilité de générer des espèces réactives de l'oxygène (ROS) et des radicaux libres, l'excès de ces derniers peut endommager l'ADN et provoquer plusieurs maladies telles que le cancer (Soni et Sosa., 2013). Les activités néfastes des radicaux libres peuvent être bloquées par des molécules qui peuvent être synthétiques ou d'origine végétale et qui s'appellent "antioxydants". L'un des effets bénéfiques des plantes sur la santé est la prévention des troubles chroniques. Ils sont attribués aux métabolites secondaires de ces plantes, et en particulier aux composés phénoliques qui constituent une part importante de ces métabolites (Taslimi et al., 2019). Ces structures ont un impact sur les fonctions biologiques des cellules via des moyens tels que l'élimination des radicaux libres et l'inhibition de certaines enzymes métaboliques (Bursal et Gülçin, 2011). L'identification et la quantification des structures chimiques d'une plante après avoir démontré son potentiel biologique, et isoler ces structures ont une importance capitale (Zhang et al., 2016).

III.1.1. Radicaux libres

Les radicaux libres sont des atomes ou groupes d'atomes ayant un ou plusieurs électrons libre (non appariés) sur leurs orbitales ultrapériphériques. Ces électrons célibataires provoquent des dérèglements dans leurs champs magnétiques, rendant ainsi ces espèces très instables. Elles vont alors tenter de récupérer des électrons sur d'autres molécules comme les substrats biologiques, en les oxydant (Halliwell et Gutteridge., 2015). Il existe deux grandes familles d'espèces réactives :

- les espèces réactives de l'oxygène **ROS** (Reactive Oxygen Species) ; ce sont des radicaux dérivés de l'oxygène tels que : le radical hydroxyle ($\text{OH}\cdot$), l'anion superoxyde ($\text{O}_2^{\cdot-}$), l'oxygène singulet ($^1\text{O}_2$), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), le radical peroxyde ($\text{ROO}\cdot$) et le radical peroxyde ($\text{RCOO}\cdot$) (Ifeanyi., 2018).
- et les espèces réactives d'azote **RNS** (Reactive Nitrogen Species) ; le monoxyde d'azote ($\text{NO}\cdot$) est produit par l'oxydation de l'un des atomes d'azote de L-arginine, par l'enzyme $\text{NO}\cdot$ synthase. Selon le micro-environnement, le $\text{NO}\cdot$ peut être converti en diverses autres espèces réactives d'azote (ERN) telles que le cation nitrosonium (NO^+), le dioxyde d'azote (NO_2), le peroxyde d'azote ($\text{ONOO}\cdot$) et l'acide peroxydazotique (ONOOH) (Phaniendra et al., 2015 ; Dröge., 2002).

Il existe d'autres variétés d'entités oxydantes ou de radicaux, tel que : les espèces réactives du chlore RCS (Reactive Chlorine Species) comme l'acide hypochlorique (Auberval., 2010), les radicaux centrés du carbone et les radicaux centrés du soufre (Valko et al., 2006 ; Favier., 2003).

III.1.2. Les antioxydants

Ce sont des agents qui réagissent facilement avec les espèces réactives d'oxygène et d'azote pour les inactiver et les éliminer, ou empêcher leur production afin d'éviter les dommages provoqués par ces substances oxydantes. Les antioxydants agissent par plusieurs mécanismes, ils peuvent agir comme des piègeurs des entités oxydantes, chélateurs de métaux de transition, inhibiteurs des enzymes productrices des espèces réactives (RS) ou cofacteurs des enzymes antioxydants (Gupta., 2015 ; Behera et al., 2006 ; Alam et al., 2013). D'après Edeas., (2005), chaque antioxydant ne peut réagir qu'avec un seul radical libre. Une bonne santé résulte d'un bon équilibre entre la production de radicaux libres et l'action des antioxydants.

III.1.3. Types d'antioxydants

Le système de défense antioxydant comprend plusieurs lignes qui visent à prévenir la formation des radicaux libres, les neutraliser quand ils sont déjà formés, réparer leurs dégâts et/ou prévenir les conditions favorables à leur synthèse, comme par exemple, en bloquant/séquestrant les atomes de fer, qui agissent comme des catalyseurs dans la formation des entités oxydantes. Ainsi, les antioxydants servent à contrôler le niveau des espèces réactives pour minimiser le dommage oxydatif (Dias., 2019).

Il existe deux classes des antioxydants :

- ✓ **les antioxydants enzymatiques**, ils sont produits de manière endogène, ils comprennent trois enzymes : Le superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GP_x) (Mollica et al., 2019) (Fig.15).
- ✓ **et les antioxydants non enzymatiques**, la plupart de ces derniers ne sont pas produits par l'organisme et peuvent provenir de nourriture. Ces molécules comprennent de petites molécules qui sont caractérisés par de faible poids moléculaires, telles que les vitamines (A, C...), les caroténoïdes (β -carotène), les minéraux (zinc, sélénium), les

polyphénols (acides phénoliques, flavonoïdes), le glutathion et l'ubiquinone (Nimse et Pal., 2015 ; Moharram et Youssef., 2014) (Fig.15).

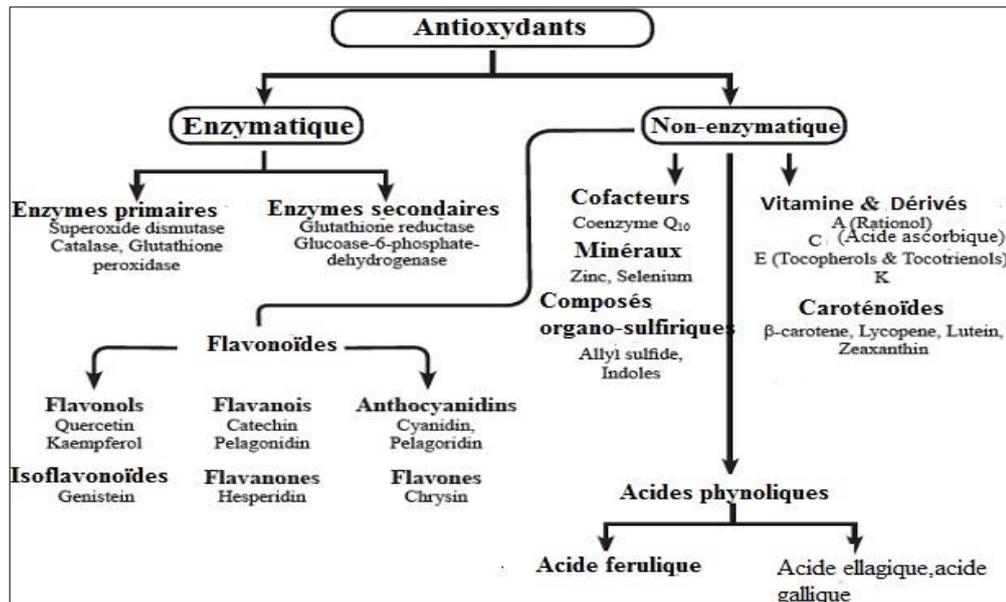


Figure 15. Classification des antioxydants (Carocho et Ferreira., 2013).

III.1.4. Stress oxydant

Le stress oxydatif est un déséquilibre entre les systèmes oxydants et les capacités antioxydantes de l'organisme en faveur des premiers, ce qui conduit à des dommages cellulaires nocifs et irréversibles (Altin et al., 2017 ; Gupta., 2015). Cette perturbation peut avoir plusieurs origines, telle que la surproduction endogène des entités oxydantes, un déficit nutritionnel ou productif en antioxydants au niveau de l'organisme ou une exposition à des facteurs déclenchant externes comme la pollution, les rayons gamma, ultraviolet, consommation de tabac et d'alcool et aussi prise des médicaments (Favier., 2003).

III.1.5. Conséquences pathologiques du stress oxydant

Le stress oxydant provoque des dommages sur tout l'organisme (Sivanandham., 2011), en accélérant le vieillissement et l'apparition de plusieurs maladies cardiovasculaires (Incalza et al., 2017), neurodégénératives notamment la maladie d'alzheimer et parkinson (Vina., 2019 ; Van Raamsdonk et al., 2017), des maladies pulmonaires (Duecker et al., 2018), le cancer (Nichols et al., 2017), le diabète (Oguntibeju., 2019), l'hypertension (Montezano et al., 2015) et l'insuffisance rénale (Tucker et al., 2015) (Fig.16).

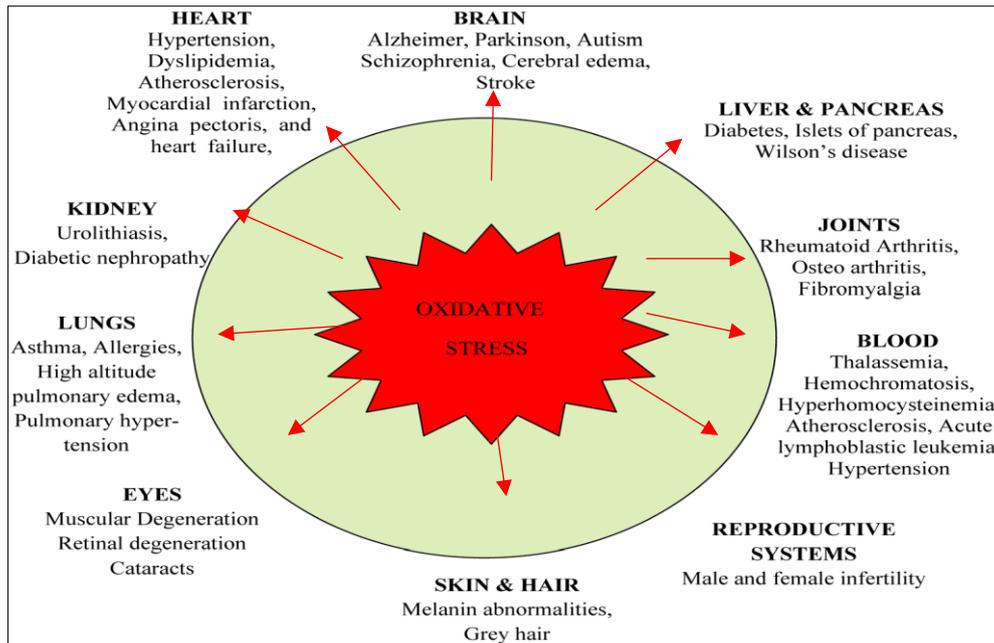


Figure 16. Maladies provoquées par le stress oxydatif chez l'être humain

(Rahman et al., 2012).

III.1.6. Méthodes d'évaluation *in vitro* des capacités antioxydantes

L'examen des données bibliographiques fait apparaître plusieurs méthodes spectrométriques de détermination de l'activité antioxydante, en se basant sur des réactions de coloration ou de décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel. Parmi les tests les plus utilisés, nous présenterons ceux couramment cités et qui ont été utilisés au cours de notre étude.

➤ Méthode au DPPH[•] (Diphényl Picrylhydrazyle)

Le 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle est un radical libre (capteur de proton), relativement stable et largement utilisé pour évaluer l'activité antioxydante (Cotelle et al., 1996 ; Trouillas et al., 2003). Ce radical de couleur violet, en présence d'une molécule dite "antioxydant" (donneurs de proton), va se réduire en formant une liaison moléculaire stable. Le produit réduit présente une couleur jaune et n'absorbe plus à 517 nm. La diminution de coloration de la solution est proportionnelle à la quantité d'antioxydant (Fig.17). L'activité antioxydante de l'extrait est comparée à celle d'un antioxydant de référence en termes d'inhibition (Alam et al., 2013 ; Huang et al., 2014).

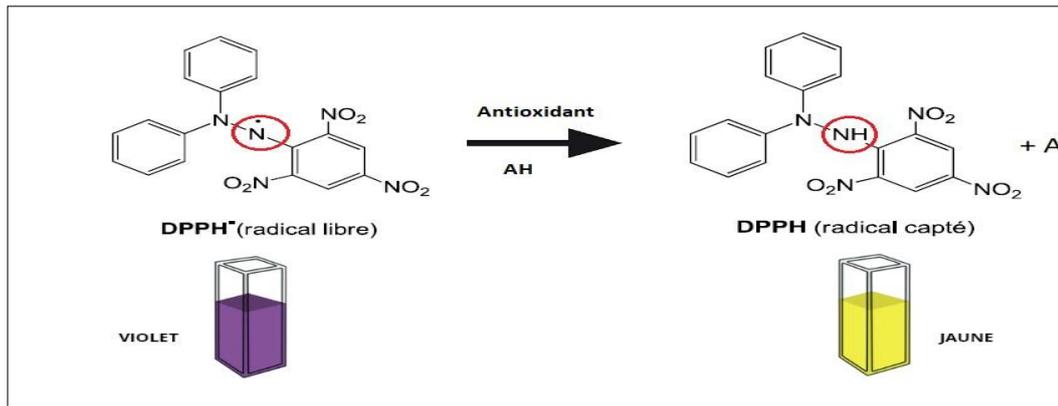


Figure 17. Mécanisme de réduction du radical libre DPPH• par un antioxydant

(Alam et al., 2013).

➤ **Méthode de FRAP (Ferric Reducing Antioxydant Power)**

Généralement, les métaux sont les meilleurs initiateurs de réactions en chaîne susceptibles de déséquilibrer la balance du stress oxydatif en faveur de pro-oxydants. Parmi ces métaux, on trouve le cation ferrique Fe^{3+} , ce dernier est le plus actif et on le retrouve dans les aliments d'origine végétale ou animale. L'effet réducteur d'un extrait vis-à-vis du cation ferrique peut être considéré comme un indicateur de son activité antioxydante.

La méthode de la réduction du fer (FRAP) consiste à réduire le complexe tripyridyltriazine ferrique [(Fe(III)-TPTZ)] de couleur jaune en complexe ferreux [(Fe(II)-TPTZ)] de couleur bleu, sous l'action d'un antioxydant par un transfert d'électron (Fig.18). La variation de la coloration est mesurée à 700nm (Bolanos de la Torre et al., 2014).

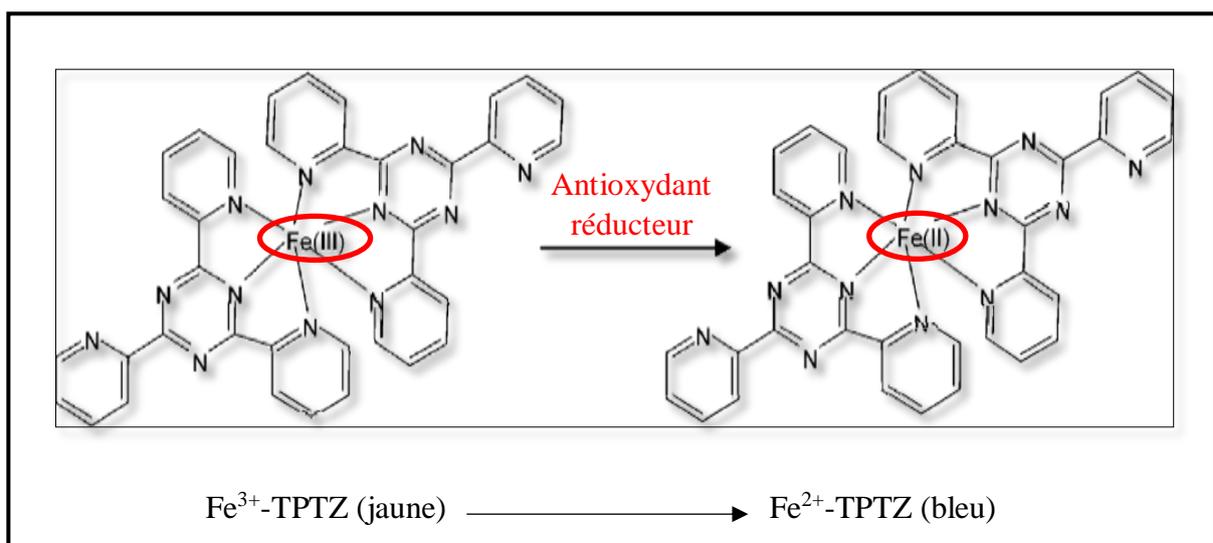


Figure 18. Mécanisme réactionnel du test FRAP (Chélation d'ions ferreux)

(Seraoui et al., 2019).

➤ **Piégeage de l'ABTS⁺** (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-[3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic])

Ce radical libre et stable, à la capacité de réagir avec tout composé donneur d'hydrogène ou d'électron. Il est très utilisé pour évaluer le pouvoir antioxydant des extraits de plantes, des mélanges complexes ou bien des composés purs (Rivero-Pérez et al., 2007). Le radical ABTS⁺, en contact avec un donneur de H⁺ conduit à l'ABTS^H et à la décoloration à 734 nm (Miller et al., 1996) (Fig.19).

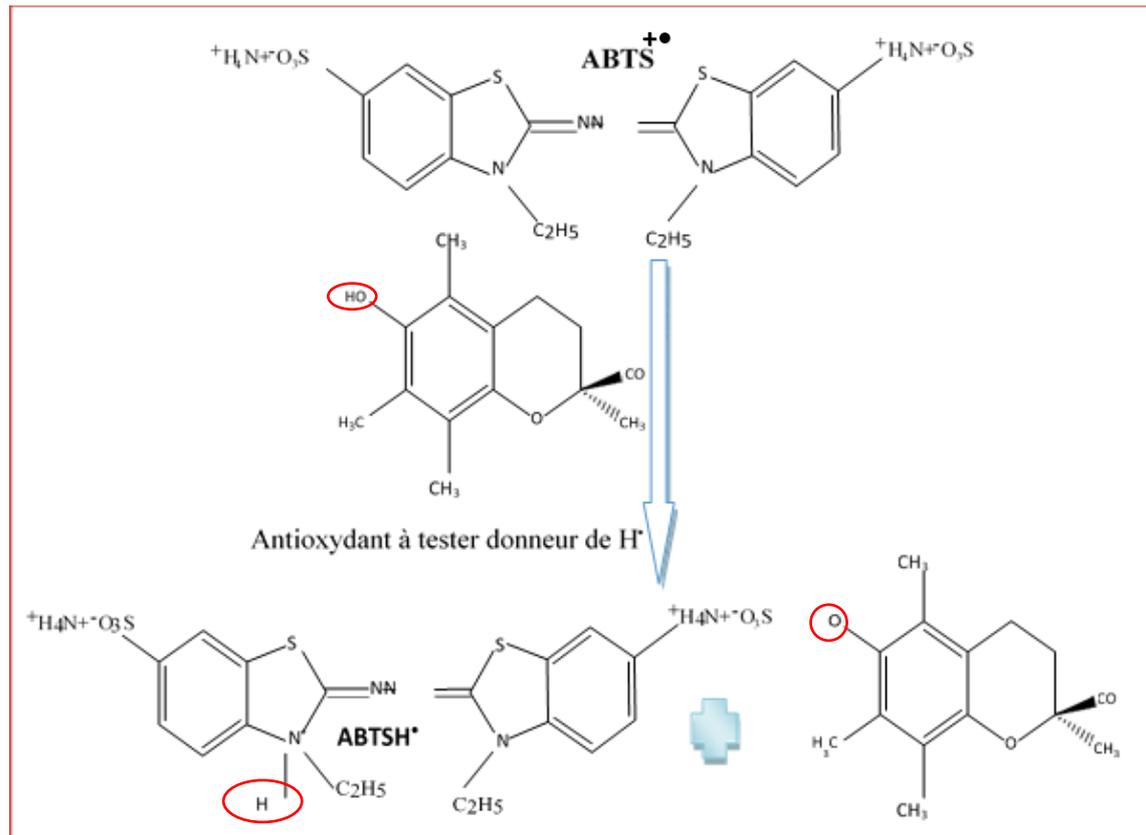


Figure 19. Piégeage du radical ABTS⁺ avec un antioxydant donneur de H⁺ (Miguel., 2010).

➤ **Test de blanchiment (décoloration) du β-carotène**

Dans ce test, l'oxydation de l'acide linoléique produit des radicaux peroxydes qui attaquent les onze doubles liaisons du β-carotène, ce qui provoque sa décoloration soit la perte de sa coloration jaune. La présence d'un antioxydant dans le milieu réactionnel va neutraliser les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique et donc inhiber l'oxydation et par conséquent ralentir le blanchiment du β-carotène (Cheurfa et Allem., 2016). L'absorbance est ainsi lue au temps 0 puis au bout de deux heures à 470nm. Cette méthode est sensible, ceci étant dû à la forte absorption du β-carotène mais est plus lente que celle du DPPH (Bensouici., 2014).

➤ **Test de la capacité antioxydante par réduction du cuivre (CUPRAC)**

La méthode CUPRAC (Cupric ion Reducing Antioxidant Capacity) est basée sur le suivi de la diminution de l'absorbance accrue du complexe Néocuproène (NC), cuivre (Cu^{+2}) $\text{Nc}_2\text{-Cu}^{+2}$. En effet, en présence d'un agent antioxydant, le complexe cuivre-neocuproène est réduit et cette réaction est quantifiée spectrophotométriquement à une longueur d'onde de 450nm (Apak et al., 2004) (Fig.20). Ce test se base sur la conversion des hydroxyles phénoliques en quinones à travers la réduction du complexe $\text{Cu}^{+2}\text{-Nc}$, produisant ainsi un complexe chromogène de $\text{Cu}^{+}\text{-Nc}$ qui absorbe à 450 nm (Bensouici., 2014).

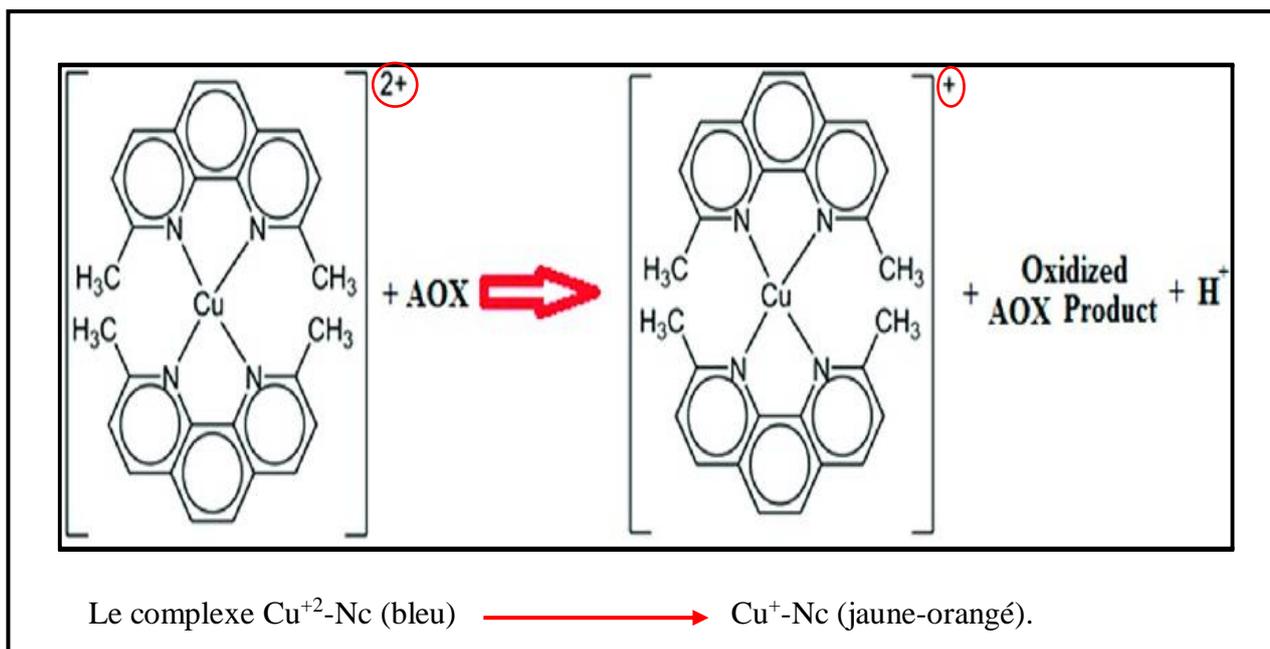


Figure 20. Réduction du complexe chromogène $\text{Cu}^{+2}\text{-Nc}$ par un antioxydant (Miguel., 2010).

 **Activité enzymatique**

III.1.7. Généralités sur la maladie d'Alzheimer

Par définition, la maladie d'Alzheimer (MA) est une maladie neurodégénérative incurable du tissu cérébral qui entraîne la perte progressive et irréversible des fonctions des cerveaux et notamment la mémoire (Mohebbi et al., 2016). Elle est décrite par le médecin allemand Alois Alzheimer en 1906, et se manifeste par un taux bas d'acétylcholine (Berchtold et Cotman., 1998), et toucherait environ 44 millions de personnes dans le monde, et on estime qu'elle triplera d'ici 2050 en raison du vieillissement général de la population (Olajide et Sarker., 2020). L'acétylcholine est une molécule organique importante pour la mémoire, libérée au niveau des terminaisons nerveuses comme un neurotransmetteur. La métabolisation de cette substance se fait par l'acétylcholinestérase (AChE) qui la transforme en choline et en acétate

(Zengin et al., 2018). L'inhibition de cette dernière va engendrer une élévation du turnover de l'acétylcholine au niveau synaptique et donc augmenter les effets cholinergiques. Dans le cerveau de patients atteints de MA, la concentration d'acétylcholine est très faible. Les anticholinestérasiques diminuent l'activité de l'acétylcholinestérase, par conséquent favorise l'élévation de la concentration d'acétylcholine dans le cerveau (Rezai et al., 2020).

III.1.8. Méthode de détermination de l'Activité antibactérienne *in vitro*

Il existe plusieurs méthodes pour déterminer l'activité antibactérienne *in vitro*, parmi lesquelles la méthode de diffusion sur disques (Antibiogramme). C'est une technique utilisée en bactériologie médicale appelée méthode de disques ou méthode par diffusion en milieu gélosé, elle consiste à utiliser des disques de papier imprégnés des différentes substances à tester, puis déposés à la surface d'une gélose uniformémentensemencée avec une suspension de la bactérie à étudier. Après incubation, les colonies se développent à la surface de la gélose laissant des zones vierges autour des disques appelées zones d'inhibition.

Plus le diamètre de la zone d'inhibition est grand, plus la souche est sensible à la substance testée, plus il est petit plus la bactérie est résistante. Donc, le diamètre de ces zones d'inhibition est proportionnel à l'activité antibactérienne de la substance sur la souche testée (CLSI., 2006 ; NCCLS., 1997).

- **Description des bactéries étudiées**

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

-  **Bactéries à Gram positives**

- a) *Staphylococcus aureus*

Ce sont des cocci Gram positif appartenant à la famille des Micrococcaceæ avec un diamètre de 0.5 à 1.5µm, de forme non sporulée qui tendent à se grouper en paires et en petites chaînes et habituellement non capsulée ou possédant des capsules limitées. Elles sont anaérobies

facultatifs. *Staphylococcus aureus* représente l'agent commun des infections postopératoires de blessures, endocardite aigue et intoxication alimentaire (Carbonnelle et al., 1987).

b) *Enterococcus faecalis*

Ce sont des Gram positif anaérobies facultatifs, qui se trouvent sous forme commensale dans les voies gastro-intestinales des humains et des animaux et dans des sources environnementales comme l'eau et le sol. Il supporte des conditions extrêmes de température (5-65 °C) et de pH (4.5 à 10). Ce germe est capable de provoquer des infections mortelles et une variété d'infections nosocomiales sur les tissus des valves cardiaques et les voies urinaires (Carbonnelle et al., 1987).

 **Bactéries à Gram négative**

c) *Klebsiella pneumoniae*

C'est une entérobactérie appartenant au genre *Klebsiella*, il s'agit d'un bacille à Gram négatif immobile est souvent capsulé poussant sur un milieu ordinaire en atmosphère aéro-anaérobie. Est une espèce ubiquitaire, elle peut être isolée de l'environnement (sol, eau de surface, eaux usées) ainsi que des flores commensale de l'homme et des animaux. *K. pneumoniae* représente la bactérie la plus impliquée dans les infections nosocomiales, est la principale espèce bactérienne responsable d'épidémie intra-hospitalière (Wu et al., 2021).

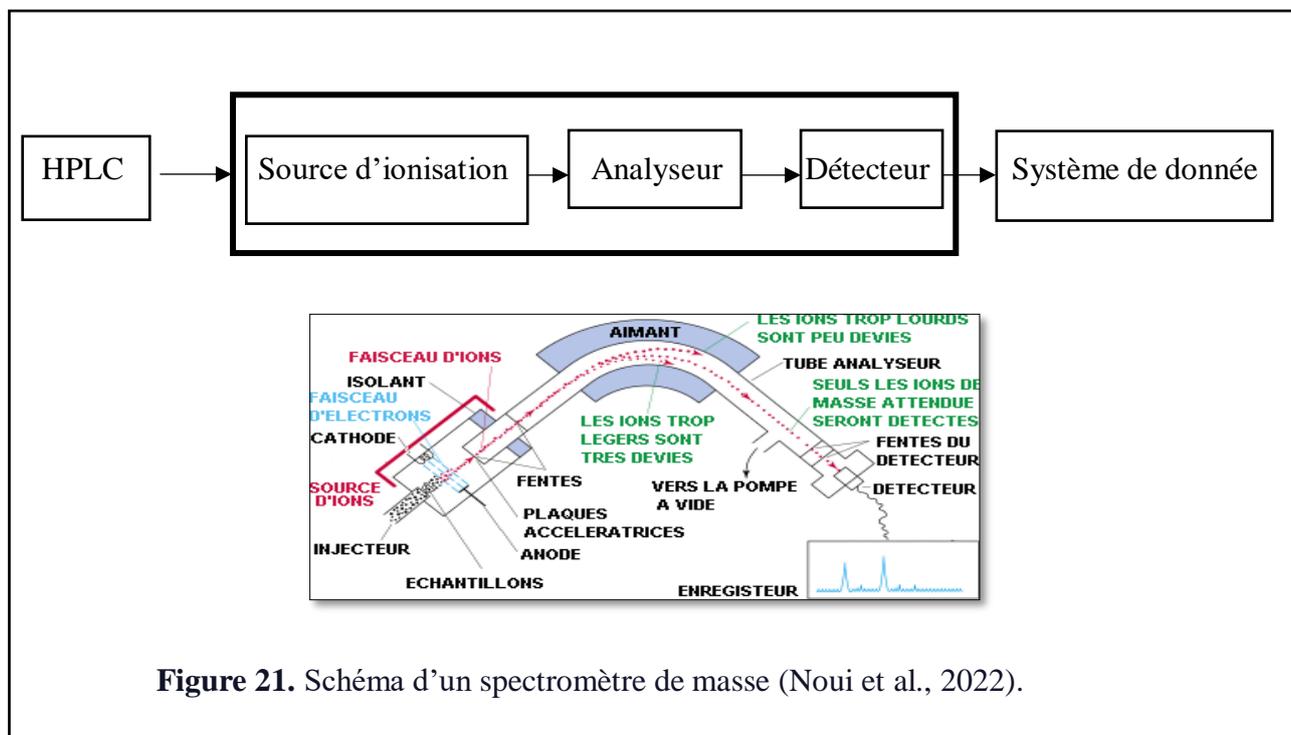
d) *Escherichia coli*

C'est une bactérie à Gram négatif, commensal du tube digestif de l'homme et de l'animal et qui appartient à la famille des Entérobactéries. Elle est de forme non sporulée, de type aérobie facultative et généralement mobile grâce aux flagelles. Sa longueur varie de 2 à 6µm alors que sa largeur est de 1.1 à 1.5µm. *E. coli* représente la bactérie la plus impliquée dans les infections aigues de l'appareil urinaire, elle provoque également les diarrhées d'été, diarrhée infantile et les intoxications alimentaires (Kaper et al., 2004).

III.1.9. Spectrométrie de masse

Cette technique est très utilisée pour l'analyse des composés organiques solides, liquides ou gazeux. Elle permet la détermination de la masse moléculaire et la corrélation de spectre d'un composé avec sa structure, elle a un rôle très important dans les études de pollution de l'environnement et de dopage grâce à sa sensibilité, sa sélectivité et sa possibilité de faire des analyses quantitatives rapides (Noui et al., 2022). De façon générale, le spectromètre de masse convertir les molécules d'analytes en molécules chargées positivement ou négativement. L'analyse des ions formés ainsi que des fragments des ions produits lors du processus

d'ionisation vont permettre de séparer tous les ions présents en fonction de leur rapport masse sur charge. Un spectromètre de masse est composé de trois éléments majeurs : une source d'ionisation, qui va générer des molécules chargées, d'un analyseur qui détermine le rapport masse sur charge des ions qui ont été formés et d'un détecteur qui transforme les ions en un signal électrique (Seraoui et al., 2019) (Fig.21).



III.1.10. Chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC/MS)

Est une méthode d'analyse qui combine les performances de la chromatographie en phase liquide et de la spectrométrie de masse afin d'identifier et/ou de quantifier précisément de nombreuses substances. Elle utilise un système de HPLC, mais au moment où les phases mobiles du liquide quittent la colonne, l'échantillon est vaporisé sous forme de microgouttelettes. Celles-ci s'évaporent rapidement et libèrent des molécules ionisées de l'analyte qui sont ensuite séparées dans la spectrométrie de masse (Bensouici., 2014).

Une unité LC-MS est composée de deux blocs principaux : un chromatographe en phase liquide et un spectromètre de masse.

III.1.11. Spectrométrie de masse tandem (LC-MS/MS)

La spectrométrie de masse tandem (MS/MS) et son utilisation dans la chimie organique est apparue dans les années 60. Le développement d'instruments variés éventuellement couplés

à la chromatographie a conduit dans les années 70 et 80 à une multiplication des domaines d'applications de la spectrométrie de masse tandem, en particulier dans les sciences du vivant (Niessen., 2000). Le tandem MS/MS se différencie de la MS par une fragmentation des ions pour permettre une meilleure identification. Les ions séparés lors d'un simple MS sont sélectionnés dans un collecteur et sont fragmentés. Les fragments sont analysés dans un deuxième analyseur (fragments MS). L'identification obtenue est plus fine et plus exacte. La spectrométrie de masse permet une analyse qualitative et quantitative (Jennings., 1968). Il est composé sous sa forme

- **Simple MS** : d'un ionisateur, d'un analyseur et d'un détecteur
- **Tandem MS/MS** : d'un collecteur d'ions et d'un deuxième analyseur en plus de la partie simple MS.

Un spectromètre de masse est composé principalement de : un ionisateur, un détecteur et un analyseur de masse.

- **L'ionisateur** : Sert à produire des ions positifs ou négatifs. Les principales sources ioniques dépendent de l'échantillon à analyser
- **L'analyseur de masse** : sert à séparer les ions collectés soit sous l'action d'un champ électrique, soit sous l'action d'un champ magnétique. Il peut être couplé avec presque tous les ionisateurs. Les analyseurs de masse se différencient par leur résolution et leur domaine de masse d'analyse.
- **Le détecteur** : sert à mesurer le nombre d'électrons et à amplifier le signal pour atteindre une bonne sensibilité. Le plus utilisé est un multiplicateur d'électrons. Ensuite le signal est enregistré et un spectre de masse est produit (Fig.22).

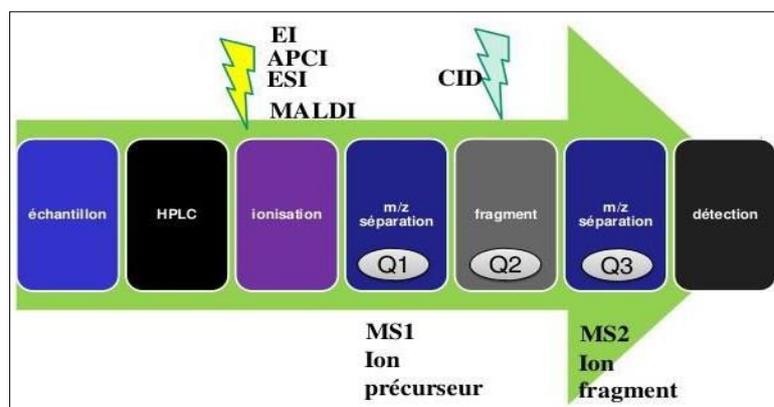
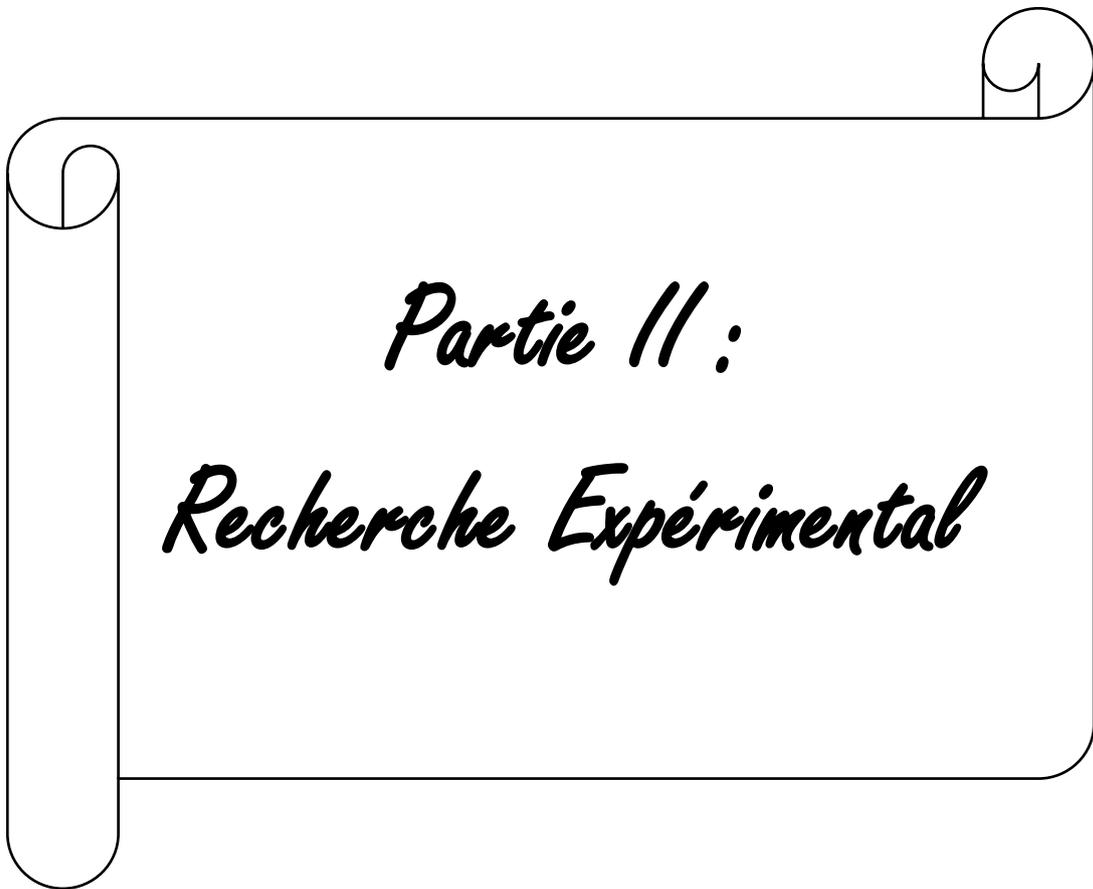


Figure 22. Principe d'un couplage LC/MS-MS (Bensouici., 2014).



Partie II :

Recherche Expérimental



Matériels et Méthodes

IV. Matériels et Méthodes

Pour le présent travail, nous avons sélectionné deux plantes médicinales ayant un fort potentiel d'activité du fait de leurs usages traditionnels largement répandus :

- Une plante à usage thérapeutique : *Aristolochia longa* L. de la famille des Aristolochiaceae (El Omari et al., 2020).
- Une plante à usage thérapeutique et alimentaire : *Capparis spinosa* L. de la famille des Capparidaceae (Khojasteh Rad et al., 2021).
- ❖ A notre connaissance, et après plusieurs recherches infructueuses, les deux espèces étudiées n'ont jamais fait l'objet d'une quelconque étude enzymatique.

Etapes de travail

Les étapes impliquées dans le côté pratique sont les suivantes :

- ❖ Analyse granulométrique et physico-chimique des sols de différentes stations d'étude.
- ❖ Analyse climatique de trois wilayas d'étude : Mila, Jijel et Sétif afin de déterminer le type de climat de chaque wilaya et d'avoir son effet sur l'accumulation des métabolites secondaires chez les deux plantes étudiées.
 - ✓ Précipitations
 - ✓ Températures
 - ✓ Humidité
 - ✓ Indice d'Emberger
 - ✓ Indice de Gaussen
- Préparation des extraits bruts de feuilles, tiges et racines d'*Aristolochia longa* L. et *Capparis spinosa* L. par macération méthanolique et décoction aqueuses selon un protocole adopté.
- Caractérisation qualitative des différents extraits de deux plantes par un screening phytochimique en se basant sur des réactions colorimétriques et de précipitations différentielles afin de déterminer la présence ou l'absence de quelques groupes de composés bioactifs.
- Détermination quantitative des différents extraits en dosant les teneurs des polyphénols totaux, flavonoïdes, flavones et flavonols par des méthodes spectrophotométriques ;
- Evaluation des activités biologiques des extraits *in vitro* ; à savoir :
 - ❖ Le pouvoir antioxydant :

- ✓ en déterminant la capacité de piégeage du radical libre DPPH[•] ;
 - ✓ Réduction du radical cation ABTS^{•+} (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-Azino-Bis (3-éthylbenzoThiazoline-6-Sulphonique) ;
 - ✓ CUPRAC (Cupric Reducing Antioxidant Aapacity) ;
 - ✓ FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) ;
 - ✓ et blanchissement du β -carotène.
- ❖ Le pouvoir enzymatique : anti AChE et anti BChE.
 - ❖ Le pouvoir antibactérien : vis-à-vis des souches pathogènes de référence.
 - ❖ Caractérisation chromatographique par LC-MS/MS des extraits actifs, afin de déterminer le profil qualitatif et quantitatif des composés chimiques qui confèrent aux extraits leur caractère bioactif.
- Corrélation entre la teneur en polyphénols totaux (TPC, TFC, TFF) et les activités biologiques.
 - Corrélation entre la teneur en métabolites secondaires, activités biologiques, données climatiques (Précipitations (P), Températures (T) et Humidité (H)) et les paramètres granulométriques et physicochimiques de sol.
 - Analyse en Composants Principales (ACP) entre l'étude quantitative (TPC, TFC et TFF) et les activités biologiques (DPPH, ABTS, CUPRAC, FRAP, β -carotène, AChE et BChE).

Lieux du travail

Ce travail a été effectué au niveau des laboratoires suivants :

-  Les analyses granulométriques et physicochimiques du sol ont été réalisées au niveau du Laboratoire de Géologie, Université Mohamed Seddik BenYahia Jijel.
-  Les extractions ainsi que les analyses qualitatives (l'investigation phytochimique) et quantitatives ont été réalisées au niveau du laboratoire des Sciences de la Nature et des Matériaux (LSNM) ; Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf Mila.
-  Les activités antioxydantes et enzymatiques ont été faites au Laboratoire de Biochimie, Centre de Recherche en Biotechnologie (CRBT), Ali Mendjli ; Constantine.
-  Les essais antibactériens ont été réalisés au niveau du Laboratoire de Microbiologie Appliquée, Département de Microbiologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Ferhat Abbes Sétif 1.
-  Les analyses chromatographiques par la LC-MS/MS des extraits actifs ont été faites

à l'université de Tokat Gaziosmanpasa, Faculté des Arts et des Sciences, Département de Chimie, Tokat, Turquie.

IV.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé est composé de feuilles, tiges et racines de deux plantes : *Aristolochia longa* L. (Fig.23) et *Capparis spinosa* L. (Fig.24), récoltées à partir de trois wilayas : Mila, Sétif et Jijel (Fig.25). Ces trois organes ont été cueillis en 2018 ; pendant la saison de floraison correspondante aux deux plantes étudiées.

1. *Aristolochia longa* L. a été récoltée durant la période entre le mois de Mars et le mois d'Avril dans trois stations (Rouached (wilaya de Mila), Boucif Ouled Askeur (wilaya de Jijel) et Béni Aziz (wilaya de Sétif)).

2. *Capparis spinosa* L. a été récoltée durant la période de mois de juin et le mois de juillet 2018 dans trois stations (Zeghaia (de Mila), Aftis (de Jijel) et Dehamcha (de Sétif)).

Les trois parties de deux plantes ont été séparées, nettoyées puis séchées à l'air libre et à l'ombre afin de préserver, au maximum, l'intégrité des molécules, pendant au moins 02 à 03 semaines. Chaque partie séchée a été ensuite broyée en poudre fine. Bonnaillie et al., (2012), ont montré que sous cette forme, elle présente une plus grande surface de contact avec le solvant extracteur et permet ainsi d'améliorer le rendement des extractions. Pour son utilisation ultérieure et afin d'empêcher sa photo-oxydation, la poudre a été conservée à l'obscurité dans des bocaux hermétiquement fermés jusqu'au moment de l'extraction.



Figure 23. *Aristolochia longa* L. **A:** Feuilles ; **B:** racines et **C:** Tiges
(Photos personnelle, 2018).

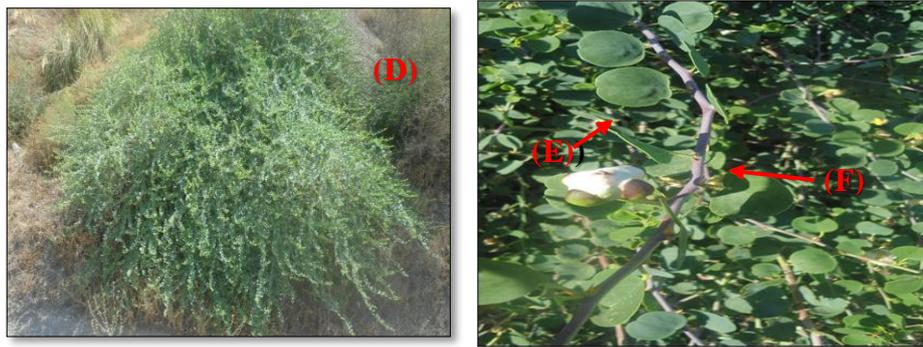


Figure 24. *Capparis spinosa* L. D: plante entière ; E: Feuilles et F: Tiges
(Photos Personnelle, 2018).

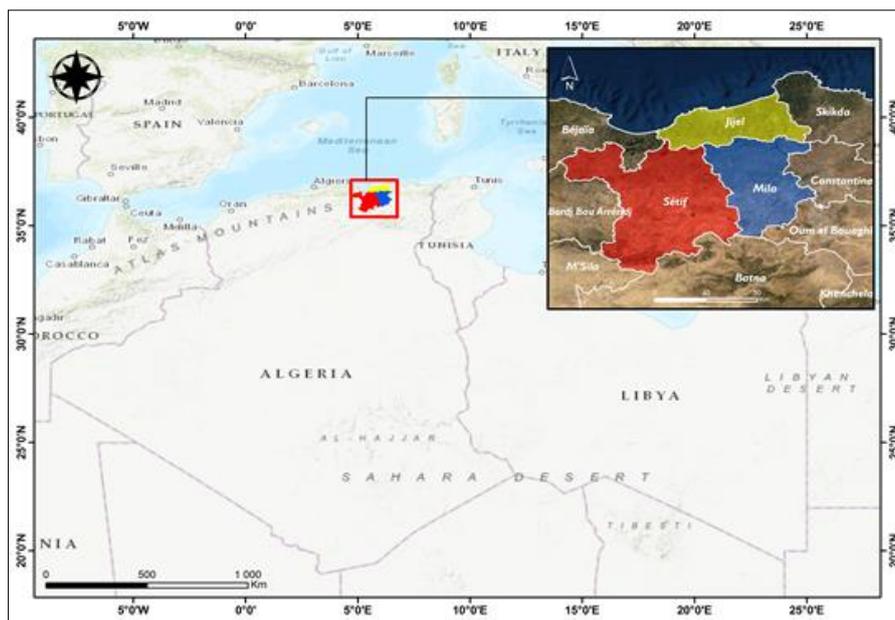


Figure 25. Situation géographique de trois wilayas d'étude : Mila, Sétif et Jijel
(Carte établie à l'aide du logiciel ArcGIS, Version 10.8).

IV.2. Présentation et localisation des wilayas d'étude

IV.2.1. Présentation de la wilaya de Sétif

- **Aspect géographique**

Elle est située entre 35° à 36.5° de latitude nord et entre 5° à 6° de longitude Est. Du point de vue géographique, la wilaya de Sétif est localisée dans les hautes plaines de l'Est algérien. Elle occupe une superficie de $6.549.64 \text{ km}^2$ et comporte 60 communes réparties en 20 Daïras. Elle occupe une position centre et constitue un carrefour entouré de 6 wilayas. Elle est limitée :

-au Nord par les wilayas de Bejaia et Jijel,

-à l'Est par la wilaya de Mila,

-au Sud par les wilayas de Batna et Msila

-et à l'Ouest par la wilaya de Bordj Bou Arreridj (Chacha., 2011) (Fig.26).

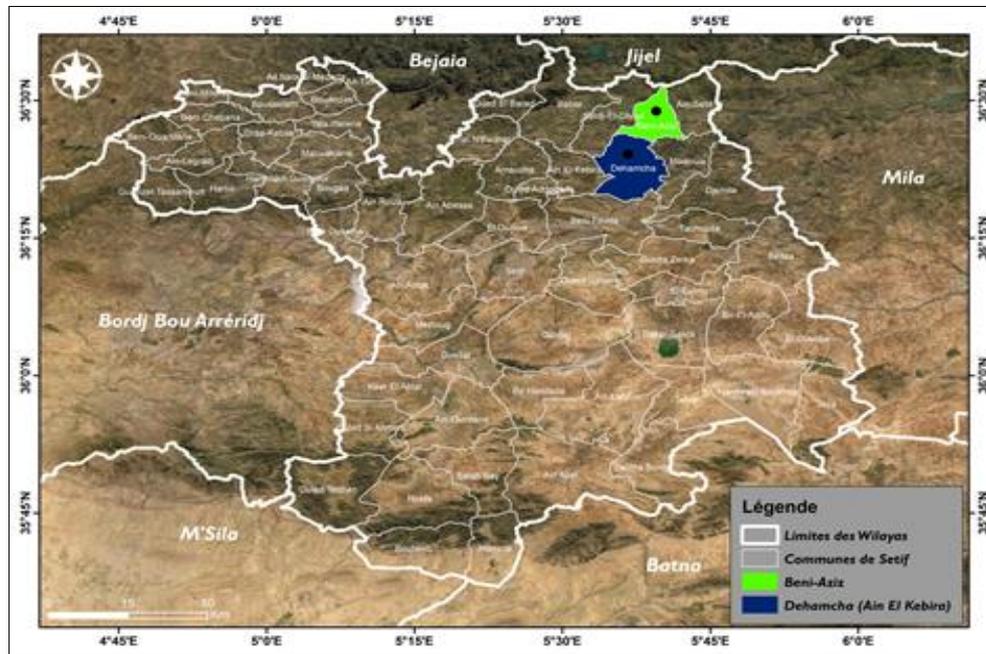


Figure 26. Situation géographique de lieu de récolte au sein de la wilaya de Sétif :
Aristolochia longa L. (Beni Aziz) et *Capparis spinosa* L. (Dehamcha)

(Carte établie à l'aide du logiciel ArcGIS, Version 10.8).

- **Aspect physique**

- **Climat**

Selon Bounechada et Fenni., (2012), la wilaya de Sétif se caractérise par un climat continental semi-aride (Fig.29), avec des étés chauds et secs et des hivers froids et pluvieux.

IV.2.2. Présentation de la station de Mila

- **Aspect géographique**

La wilaya de Mila se situe au Nord-est de l'Algérie à 464m d'altitude, et à 73 km de la mer Méditerranée. Elle fait partie de l'Est de l'Atlas tellien, par une chaîne de montagnes qui s'étend d'Ouest en Est sur l'ensemble du territoire Nord du pays. Elle occupe une superficie totale de 3480.54 km². Elle est limitée :

-Au Nord-ouest par la wilaya de Jijel ;

-Au Nord-est par la wilaya de Constantine et Skikda ;

- À l'Ouest par la wilaya de Sétif ;
- Au Sud-est par la wilaya d'Oum-El Bouaghi ;
- Au sud par la wilaya de Batna (Aissaoui., 2012) (Fig.27).

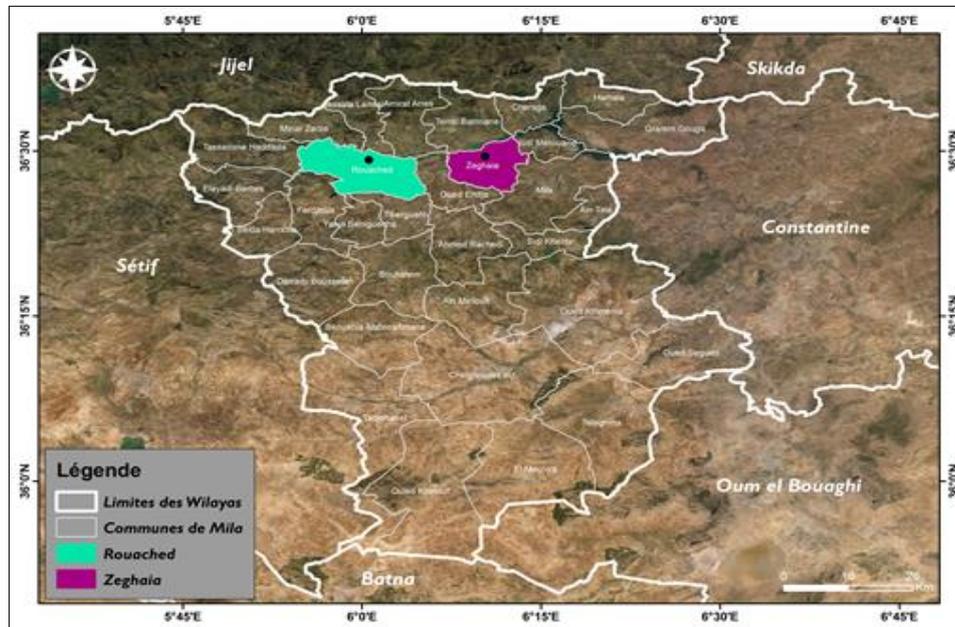


Figure 27. Situation géographique de lieu de récolte au sein de la wilaya de Mila :

Aristolochia longa L. (Rouached) et *Capparis spinosa* L. (Zeghaia)

(Carte établie à l'aide du logiciel ArcGIS, Version 10.8).

- **Aspect physiques**

- **Climat**

Elle est caractérisée par un climat méditerranéen de type subhumide (Fig.29), elle est globalement caractérisé par :

- Une saison (hiver) humide et pluvieuse s'étendant de Novembre à Avril.
- Et une période estivale longue chaude et sèche allant de Mai à Octobre (Zouaidia., 2006).

IV.2.3. Présentation de la station de Jijel

- **Aspect géographique**

Elle fait partie du Sahel littoral de l'Algérie ; elle est située au Nord-Est de l'Algérie entre les latitudes 36° 10 et 36° 50 Nord et les longitudes 5° 25 et 6° 30 Est. Elle couvre une superficie de 2.396.63km², avec une façade maritime de 120km. Le territoire de la wilaya dont la superficie s'élève à 2396 km² est bordé :

- Au Nord par la mer méditerranéenne ;
- Au Sud par la wilaya de Mila ;
- Au Sud-Est par la wilaya de Constantine ;
- Au Sud-Ouest par la wilaya de Sétif, La wilaya de Skikda délimite la partie Est, tandis que celle de Bejaia borde la partie Ouest (Bourib et Kaouche., 2016) (Fig.28).

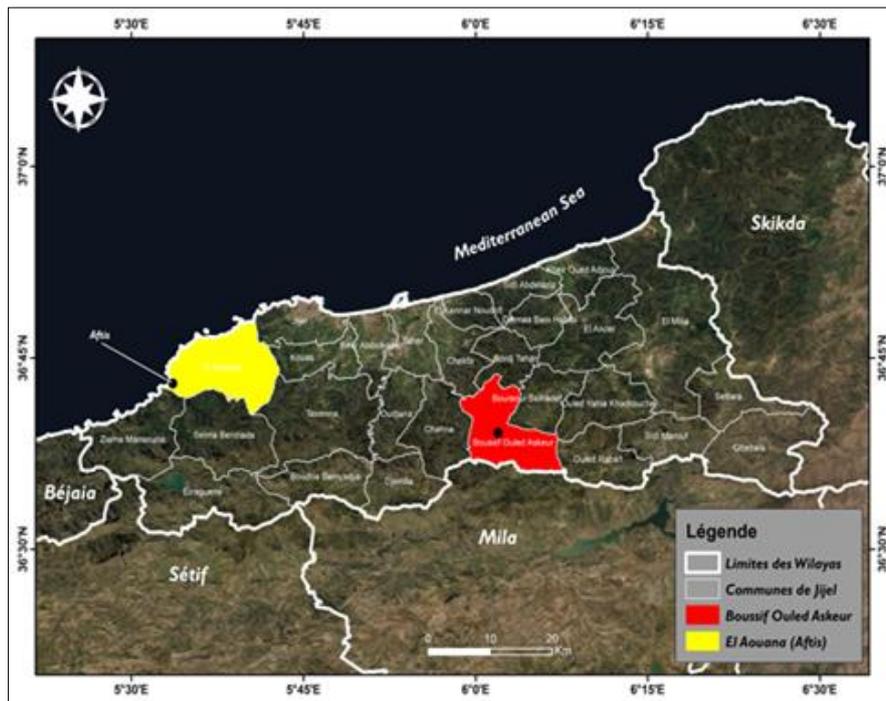


Figure 28. Situation géographique de lieu de récolte au sein de la wilaya de Jijel :

Aristolochia longa L. (Boucif Ouled Askeur) et *Capparis spinosa* L. (Aftis)

(Carte établie à l'aide du logiciel, ArcGIS Version 10.8).

- **Aspect physiques**

- **Climat**

D'après Aribi., (2012) et Boudjedjou., (2010), La wilaya de Jijel est considérée parmi les régions les plus pluvieuses d'Algérie. Elle est caractérisée par un climat méditerranéen de type humide (Fig.29), pluvieux et froid en hiver, chaud et humide en été.

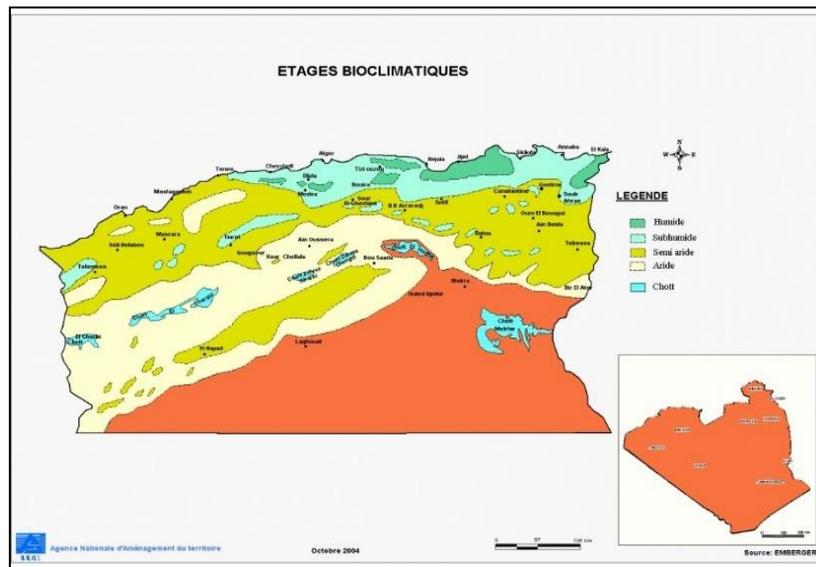


Figure 29. Carte bioclimatique de l'Algérie (Nedjraoui et Bédrani., 2008).

IV.3. Analyse de sol

IV.3.1. Prélèvement et préparation d'échantillons de sol

La collecte d'échantillons de sol à des fins d'analyse est une étape très importante pour connaître l'étendue de son impact sur la plante et sur leurs voies métabolique (Zargoosh et al., 2019). A chaque point de récolte des plantes, des échantillons de sol ont été prélevés au niveau du porte-greffe de la plante à une profondeur de 0.5m afin d'étudier certaines des propriétés physiques et chimiques du sol et leur effet sur les deux plantes étudiées (Cherifi et al., 2011). Ces échantillons sont ensuite mis à sécher à l'air libre pendant 15 jours, puis broyés et tamisés à 2mm pour séparer la fraction fine de la fraction grossière. L'ensemble des analyses porte sur la fraction fine (terre fine) (Zargoosh et al., 2019).

IV.3.2. Caractérisation physico-chimique des échantillons de sol

IV.3.2.1. PH-eau

Il consiste à mesurer la force électromotrice d'une solution aqueuse du sol à l'aide d'un pH-mètre (Tab.6). Le pH est un mode d'expression de la concentration en ions H^+ d'un liquide. Au laboratoire, il s'agira du liquide surnageant dans un bécher, après agitation d'une certaine quantité d'échantillon de sol dans de l'eau distillée, et dans les rapports pondéro-volumétriques de 1/5 (Aubert., 1978).

Tableau 6. Echelle d'interprétation de pH (Aubert., 1978).

Valeur de pH	Classe d'interprétation
< 4.5	Extrêmement acide
4.5-5.0	Très fortement acide
5.1-5.5	Fortement acide
6.1 -6.5	Légèrement acide
6.6 -7.0	Très légèrement acide
7.1 -7.5	Très légèrement alcalin
7.6 -8.0	Légèrement alcalin
8.1-8.5	Moyennement alcalin
> 8.5	Très fortement alcalin

IV.3.2.2. Carbone organique (CO%)

Le dosage du carbone organique est réalisé suivant la méthode décrite par Walkley-Black., (1974). Le carbone représente 58% de la matière organique. La technique est basée sur l'oxydation du carbone par le bichromate de potassium en milieu acide. Le carbone est transformé en CO_2 et CrO_7^{-2} et réduit en Cr^{3+} . La quantité de bichromate de potassium utilisée excède la quantité nécessaire pour l'oxydation du carbone à doser. L'excès de bichromate de potassium ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) est titré à l'aide d'une solution de sulfate ferreux sept fois hydraté. Le résultat est exprimé en % de sol sec en carbone organique (C) ou de matière organique (MO) selon la relation suivante :

$$\text{M.O} (\%) = 1.725 \times \text{CO}\%$$

Tableau 7. Echelle d'interprétation de la matière organique (Aubert., 1978).

Taux de M.O(%)	Nom de classe
0.5 à 1 %	Très pauvre en M.O
1 à 2 %	Pauvre en M.O
2 à 3 %	Moyenne riche en M.O
3 à 5 %	Riche en M.O
> 5 %	Très riche en M.O

IV.3.2.3. Conductivité électrique (CE)

Cette méthode permet d'obtenir une estimation de la teneur globale en sels dissous. Elle est mesurée dans l'extrait de sol à température donnée dans le rapport sol /eau est de 1/5. La valeur de la conductivité électrique du milieu est lue directement sur l'écran du conductimètre. Elle est exprimée en $\mu\text{S}/\text{cm}$ à 20°C (Aubert., 1978). L'estimation de la teneur globale en sels dissous a été faite à l'aide de l'échelle de salure des sols selon le tableau 8.

Tableau 8. Echelle de la salinité en fonction de la conductivité électrique (Aubert., 1978).

CE (ms/cm)	Degré de salinité
CE < 0.6	Sol non salé
0.6 < CE < 02	Sol peu salé
02 < CE < 2.4	Sol salé
2.4 < CE < 06	Sol très salé
CE > 06	Sol extrêmement salé

IV.3.2.4. Dosage du calcaire total (CT)

Le dosage du calcaire total est fait à l'aide du calcimètre de Bernard, par dosage du CO_2 provenant de la réaction du carbonate de calcium (CaCO_3) avec l'acide chlorhydrique (HCl). Le volume de CO_2 dégagé est proportionnel à la quantité de carbonates présents et donc du calcaire. La quantité de carbonates est déduite de la courbe d'étalonnage effectuée avec une série de quantités connues de carbonate de calcium (Duchaufour., 1979). L'échelle d'interprétation des carbonates permet de déterminer la quantité du CaCO_3 comprise dans un échantillon de sol (Tab.9).

Tableau 9. Echelle d'interprétation des carbonates (AFNOR., 2004).

Carbonates (%)	Charge en calcaire
<1 %	Sol non calcaire
1 à 5 %	Sol peu calcaire
5 à 25 %	Sol modérément calcaire
25 à 50 %	Sol fortement calcaire
50 à 80 %	Sol très fortement calcaire
>80 %	Sol excessivement calcaire

IV.3.3. Analyse granulométrique par tamisage

Cette analyse permet de quantifier pondéralement en pourcentage les particules de sol (sables, limons et argiles). La méthode internationale, à la pipette de Robinson (ISRIC., 1984) est la méthode utilisée pour la détermination des fractions granulométriques. Elle consiste à séparer la partie minérale du sol en fonction des diamètres des particules est à déterminer les proportions relatives de ces fractions. Les fractions grossières, sont séparées par tamisage, tandis que les fractions fines (limons et argiles), sont séparées par sédimentation. Le prélèvement de ces dernières se base sur la relation liant le temps de sédimentation et le diamètre des particules, donnée par la loi de Stocks. On prélève à la pipette un petit volume connu de la suspension dont on pèsera le résidu solide après évaporation du liquide.

IV.4. Synthèse climatique

Pour la synthèse bioclimatique, nous avons retenu les indices les plus utilisés en région méditerranéenne :

- le Diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gaussen.
- le Quotient pluviothermique d'Emberger.

IV.5. Méthodes

IV.5.1. Préparation des extraits bruts

Deux méthodes d'extraction ont été adoptées pour l'obtention des extraits à partir de feuilles, tiges et racines des plantes *Aristolochia longa* L. et *Capparis spinosa* L. de trois wilayas.

- **Extraits méthanoliques**

L'extraction méthanolique a été effectuée par macération de la poudre obtenue de chaque partie dans le méthanol pur. Pour cela, 20g de matériel végétal (racines, feuilles et tiges) sont macérés dans 200ml de méthanol absolu à température ambiante pendant 48 heures et sous agitation. Le macérât est ensuite filtré sur du papier Whatman n°3 et enfin le filtrat est concentré dans un rotavapor à 35°C (Rajhi et al., 2019 ; Tlili et al., 2017). Le résidu obtenu est pesé pour estimer le rendement et conservé à -20°C à l'abri de la lumière jusqu'à leur analyse. Le processus d'extraction est résumé par l'organigramme reporté dans la Figure 30.

- **Extraits aqueux**

L'extraction aqueuse a été réalisée en ajoutant 200ml d'eau distillée à 20g de la poudre. Le mélange est chauffé pendant 15 mn puis mis en macération sous agitation pendant 48 heures, à l'abri de la lumière et à température ambiante. Après macération, l'extrait aqueux a été filtré

à travers un papier filtre Whatman n°3 et le filtrat a été évaporé par un évaporateur rotatif à 40°C et séché à l'air libre (Benzakour et al., 2012 ; Belhattab et al., 2004). Le résidu obtenu est pesé pour estimer le rendement et conservé à -20°C à l'abri de la lumière pour une utilisation ultérieure (Fig.30).

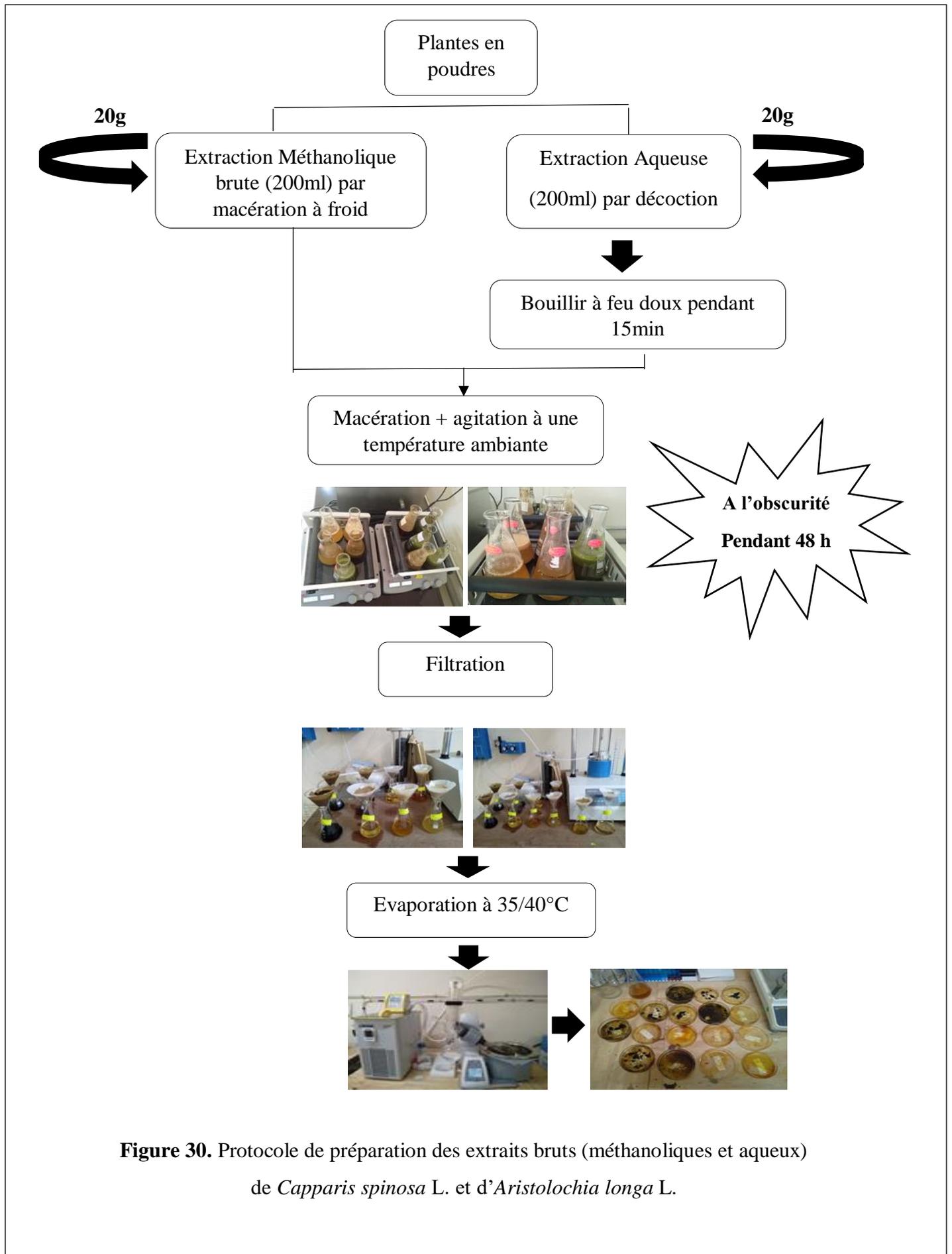


Figure 30. Protocole de préparation des extraits bruts (méthanoliques et aqueux) de *Capparis spinosa* L. et d'*Aristolochia longa* L.

IV.5.2. Calcul du rendement des extraits

Le rendement des différents extraits obtenus est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenue après évaporation et la masse initiale de la poudre végétal utilisée. Ce rendement est calculé par l'équation suivante :

$$\text{Rendement (\%)} = M_0 / M_1 \times 100$$

Dont :

- ✓ M_0 : Poids du résidu sec évaporé.
- ✓ M_1 : Poids de poudre initiale.

IV.5.3. Analyse qualitative (Screening phytochimique)

L'investigation phytochimique est basée sur des réactions de coloration ou de précipitation plus ou moins spécifiques à chaque classe de principes actifs. Elle a été effectuée soit sur la poudre de la plante, soit sur son infusé à 5%. Les méthodes de caractérisation utilisées dérivent de celle décrites par : Bekero et al., 2007 ; Merouani., 2017; Benaraba., 2013; El-Haoud et al., 2018 ; Amadou., 2005 ; Senhaji et al., 2005.

Les résultats sont classés selon l'apparition en :

- Réaction franchement positive : (+ + +)
- Réaction positive : (+ +)
- Réaction moyennement positive : (+)
- Réaction négative : (-)

Préparation de l'infusé à 5%

L'infusé à 5% est préparé par l'ajout de 5g de poudre végétale à 100mL d'eau distillée chaude. Après 15 à 20 minutes de contact, la solution est filtrée à l'aide d'un papier filtre.

➤ Polyphénols

Une goutte de chlorure ferrique (FeCl_3) à 2% est ajoutée à 2mL de l'infusé. La présence des polyphénols se traduit par une coloration bleue-noirâtre ou vert foncé.

➤ Tanins

À 5ml de l'infusé, on ajoute quelques gouttes d'une solution de chlorure ferrique (5%). Le virement de couleur vers le vert foncé indique la présence de tanin.

➤ **Flavonoïdes**

Un volume de 5mL d'ammoniaque dilué (NH₄OH) et 1mL d'acide sulfurique (H₂SO₄ à 10%) sont ajoutés à 5mL de l'infusé. La présence de flavonoïdes se manifeste par une coloration jaune.

➤ **Anthocyanes**

Elle est réalisée par l'addition de 5mL H₂SO₄ à 10% et quelques gouttes de NH₄OH à 5 mL de l'infusé. La présence de ces métabolites est confirmée par le virage de la couleur vers le bleu violacé.

➤ **Dérivés anthracénique**

○ **Anthraquinone libres**

A 1g de poudre de la plante on ajoute 10mL de chloroforme et on chauffe pendant 3 minute au bain Marie. Après filtration, 1mL de l'extrait chloroformique est agité avec 1mL de NH₄OH. La présence des anthraquinones libres est confirmée par le virage de la couleur vers le rouge.

➤ **Saponosides**

On prépare un décocté 1% de la poudre de deux plantes, on le filtre, et le filtrat obtenu est mis dans un tube à essai. Le tube est agité pendant 15s puis laissé au repos 15min. Une hauteur de mousse persistante, supérieur à 1cm indique la présence des saponosides (réaction positive)

➤ **Alcaloïdes**

La détection de la présence des alcaloïdes est faite par différents tests avec le changement de réactif, parmi ces tests : test de Bouchardat et test de Wagner (Annexe 02). 2mL de décocté préparé pour les tests précédent sont additionnés à 2 gouttes du réactif de Bouchardat ou Wagner. Le résultat positif est révélé par une précipitation de couleur brun rougeâtre.

➤ **Quinones**

Faire bouillir 0,5g de poudre de plante dans 20mL de l'eau distillé, on filtre et à 1mL du filtrat on ajoute 1ml d'acide sulfurique concentré, la couleur rouge indique la présence des quinones.

➤ **Terpènes**

On mélange 0,5g de poudre de la plante avec 10mL de MeOH, on agite le mélange puis on le filtre, à 5mL de filtrat obtenu on ajoute 2mL de chloroforme, et 3mL d'acide sulfurique, l'apparition d'une couleur brune rougeâtre indique la présence des terpènes.

➤ **Composés réducteurs**

Leur détection consiste à introduire 2mL du décocté (10%) dans un tube à essai et 2mL de la liqueur de Fehling (Annexe 02). Ensuite, l'ensemble est porté au bain-marie bouillant durant 3min. L'obtention d'un précipité rouge brique au fond de tube à essai indique la présence des composés réducteurs.

➤ **Mucilage**

Après avoir introduit 1ml de décocté (10%) dans un tube à essai, 5mL d'éthanol absolu ont été ajoutés, suivi d'une agitation. Le mélange a été reposé pendant dix minutes et la présence de mucilage a été indiquée par l'obtention d'un précipité floconneux.

➤ **Protéines**

Cinq mL de décocté préparé avant ont été chauffés avec quelques gouttes d'acide nitrique (HNO_3). La couleur jaune qui vire à l'orange lors de l'ajout d'une base (NaOH) prouve la présence des protéines.

IV.5.4. Analyse quantitative

La quantification des polyphénols totaux, des flavonoïdes, des flavones et des flavonols des différents extraits est déterminée à partir des équations de la régression linéaire des courbes d'étalonnages et exprimés en μg équivalent/ mg d'extrait. La raison principale pour le choix de ces substances réside dans le fait que la majorité des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes des plantes leur sont attribuées (Bendif., 2017).

IV.5.4.1. Détermination de la teneur en polyphénols totaux

- **Principe**

La teneur en polyphénols totaux des extraits méthanoliques et aqueux de *Capparis spinosa* L. et d'*Aristolochia longa* L. a été déterminée par la méthode colorimétrique en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce réactif est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($\text{H}_3\text{PWO}_{12}\text{O}_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($\text{H}_3\text{PMO}_{12}\text{O}_{40}$) qui est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (MO_8O_{23}). La coloration bleue produite possède une absorption maximum aux environs de 725nm. Elle est proportionnelle aux taux de composés phénoliques (Ereifej et al., 2016).

- **Mode opératoire**

- ✓ **Préparation de la solution de Carbonate de Sodium Na_2CO_3 à 7.5%**

Une quantité de 7.5g de Na_2CO_3 est dissous dans 100mL d'eau distillée (solution **S1**).

- ✓ **Préparation de la solution de Folin Ciocalteu (FCR) dilué 10 fois**

Un ml de la solution de réactif de Folin Ciocalteu concentré, est complété à 10mL avec de l'eau distillée (solution **S2**).

 **Procédure**

Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par (Belkhiri et al., (2017) ; Singleton et Ross., (1965)) en y apportant quelques modifications. Brièvement, dans des tubes à hémolyse en verre, un volume de 200 μL de chaque extrait de deux plantes avec des dilutions convenables sont ajouté à 1ml de **S₂**, après 15min d'incubation à température ambiante 800 μL de **S₁** sont ajoutés. Les tubes sont agités et conservés pendant deux heures à l'obscurité. L'absorbance est lue à 765nm sur un spectrophotomètre de type biochrom libra S22 (Fig.31). Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (MeOH ou l'eau distillé). Avec 3 répétitions pour chaque essai. La teneur en polyphénols totaux est estimée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique (10-120 $\mu\text{g}/\text{mL}$) et est exprimée en μg d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (μg EAG/mg d'extrait).

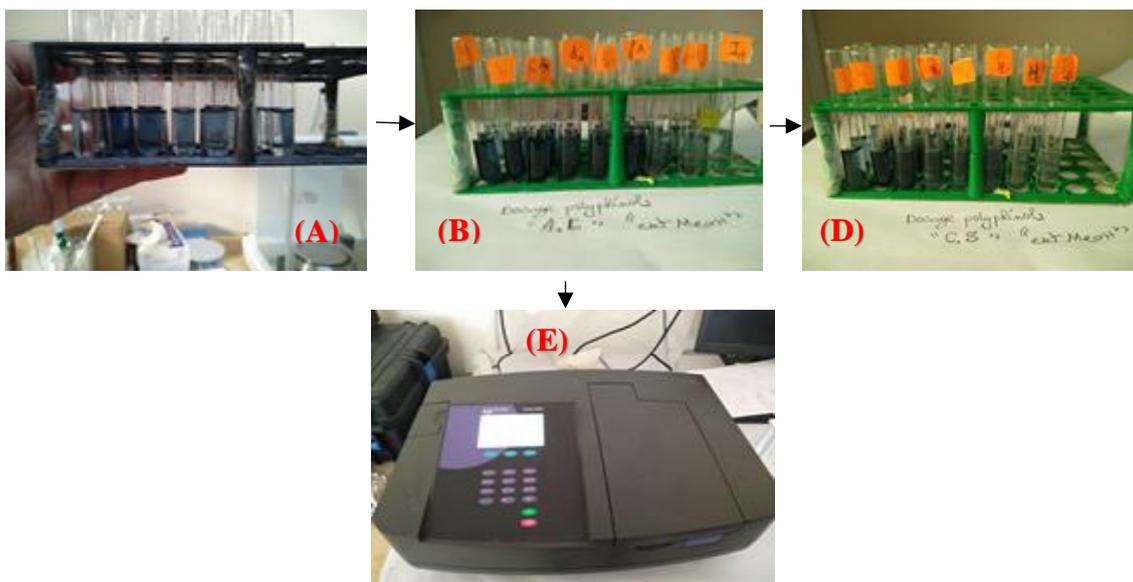


Figure 31. Etapes de dosage des polyphénols, **A** : Série de dilution de standard (l'acide gallique) ; **B** : Dilutions d'*A. longa* L. ; **C** : Dilutions de *C. spinosa* L. et **D** : Lecture au spectrophotomètre (**Photos Personnelle, 2020**).

IV.5.4.2. Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux

La quantification des flavonoïdes de différents extraits d'*Aristolochia longa* L. et *Capparis spinosa* L. a été réalisée par la méthode de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$). En présence de ce dernier, les flavonoïdes sont capables de former un complexe acide stable de couleur jaunâtre qui absorbe dans le visible à 510nm. Ce complexe est dosé spectrophotométriquement à 430nm (Ali-Rachedi et al., 2018).

- **Mode opératoire**

- ✓ **Préparation de la solution d' $AlCl_3$**

Une quantité de 2g d' $AlCl_3$ est dissoute dans 100mL de méthanol (Solution **S3**).

- ✚ **Procédure**

Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par (Kosalec et al., 2004). Toujours, dans des tubes à hémolyse en verre, 1mL des extraits de chaque partie de deux plantes préparés dans le MeOH ou dans l'eau distillée, avec des dilutions convenables ont été ajoutés à 1mL d'une solution fraîchement préparée de **S3**. L'absorbance est lue à 430nm après dix minutes d'incubation à l'obscurité (Fig.32). Un blanc est préparé en remplaçant les extraits par le solvant utilisé dans l'extraction. La teneur en flavonoïdes est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la quercétine (2.5-25 μ g/mL) et est exprimée en microgramme d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait (μ g EQ/mg d'extrait).

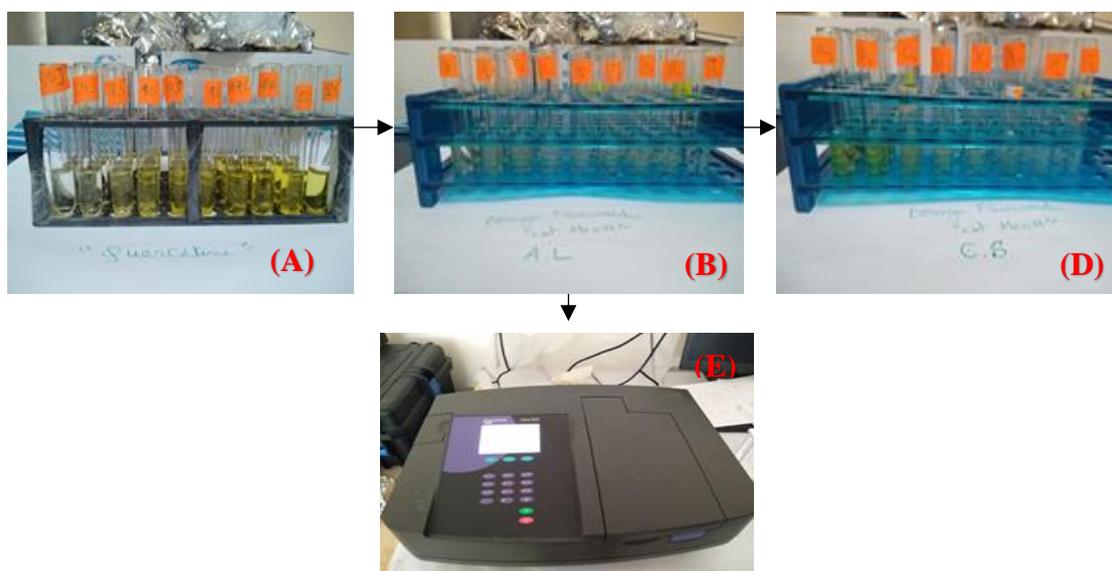


Figure 32. Étapes de dosage des flavonoïdes, **A** : Série de dilution de standard (quercétine) ; **B** : Dilution d'*A. longa* L. ; **C** : Dilution de *Capparis spinosa* L. et **D** : Lecture au spectrophotomètre (**Photos Personnelle, 2020**).

IV.5.4.3. Détermination de la teneur en flavones et flavonols

- **Mode opératoire**

- ✓ **Préparation de la solution d'AlCl₃**

Une masse de 10g d'AlCl₃ est dissoute dans un volume de 100mL de méthanol donne une solution **S4**.

- ✓ **Préparation de la solution d'acétate de sodium (5%)**

Cinq grammes d'acétate de sodium sont dissous dans un volume de 100mL de méthanol donne une solution **S5**.

- ✚ **Procédure**

La méthode utilisée pour la détermination de la teneur en flavones et flavonols est celle décrite par Kosalec et al., (2004). Un volume de 500µL d'extrait végétal a été mis à 1500µl d'éthanol, 100µL de **S4**, puis 100µl de **S5** et 2800µL de l'eau distillé, 30min plus tard, l'absorbance est lue à 415nm. Un blanc est préparé en remplaçant les extraits par le solvant utilisé dans l'extraction. Toutes les opérations sont effectuées en triplicata. La concentration en flavones et flavonols contenus dans les extraits végétaux est calculée par rapport à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant la quercétine comme standard à différentes concentrations (1-200µg/mL) dans les mêmes conditions que les échantillons. Le résultat est exprimé en microgramme d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait (µg EQ/mg d'E) (Fig.33).

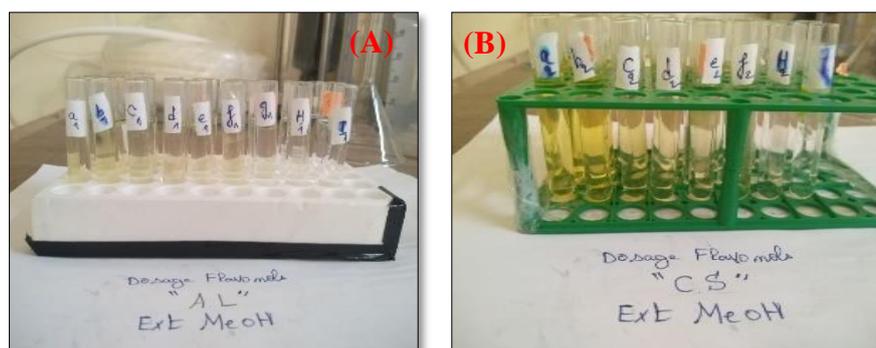


Figure 33. Dosage des flavones et flavonols des extraits bruts, **A** : d'*Aristolochia longa* L.et **B** : de *Capparis spinosa* L. (Photos Personnelle, 2020).

IV.5.5. Evaluation *in vitro* des activités biologiques

- ❖ **Le potentiel antioxydant des plantes**

La capacité antioxydante des substances peut être évaluée soit de façon *in vivo*, sur des organismes vivants, soit de manière *in vitro* comme le cas de notre travail. Plusieurs méthodes

sont utilisées *in vitro*, parmi ces méthodes, on a choisi d'appliquer cinq méthodes, à savoir : Piégeage du radical libre **DPPH[•]**, Réduction du radical cation **ABTS^{•+}**(sel d'ammonium de l'acide 2,2'-Azino-Bis (3-éthylbenzoThiazoline-6-Sulphonique), **CUPRAC** (Cupric Reducing Antioxidant Capacity), **FRAP** (Ferric Reducing Antioxidant Power) et blanchissement du **β -carotène**, pour évaluer la capacité antioxydante des extraits bruts de trois organes d'*Aristolochia longa* L. et de *Capparis spinosa* L. de trois wilayas : Mila, Sétif et Jijel, en utilisant un lecteur de microplaques à 96 puits de marque Perkin Elmer (USA) avec son logiciel EnSpire (Fig.34).



Figure 34. Lecteur à microplaque (Perkin Elmer, Enspire) (Photo Personnelle, 2021).

IV.5.5.1. Test du piégeage du radical libre DPPH

- **Préparation de la solution des extraits de deux plantes**

Quatre mg d'extrait sec de différentes parties d'*Aristolochia longa* L. et de *Capparis spinosa* L. sont dissous dans 1mL de MeOH ou de l'eau distillé. Différentes concentrations d'extraits de deux plantes ont été utilisées : 800; 400; 200; 100; 50; 25 et 12,5 μ g/mL.

- **Préparation de la solution méthanolique de DPPH**

Une quantité de 6mg de réactif de DPPH a été dissoute dans 100ml de MeOH (solution **S6**). L'absorbance du mélange est mesurée à 517 nm et doit être comprise entre 0,5 et 1nm (à $\lambda = 517$ nm). Ceci est dans le but d'assurer une quantité du radical (DPPH[•]) suffisante dans le milieu réactionnel pour le bon déroulement de la réaction (DPPH[•] (violet) \rightarrow DPPH (jaune)) (Fig.35) (Annexe 6).

✚ Procédure

Cette activité a été mesurée selon le protocole décrit par Blois., (1958). Brièvement, une quantité de 160µL de **S6** a été ajoutés à 40µL d'échantillon dilué dans des solutions de méthanol ou d'eau distillé à des concentrations différentes. La microplaque est incubée à température ambiante et à l'obscurité pendant 30 min. Après l'absorbance a été mesurée à 517nm. Les témoins positif utilisés sont des antioxydants de synthèse : le 2,6-di-t-butyl-4-methylphenol oubutylhydroxytoluène (BHT) et le butylhydroxyanisole (BHA). Chaque test est répété trois fois, le résultat est présenté par la moyenne des trois essais. La faible valeur d'absorbance de la réaction du mélange indique une activité de piégeage des radicaux libres supérieure. La capacité à piéger le radical DPPH a été calculée selon l'équation suivante :

$$(\%) \text{ d'Inhibition} = \left[\frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{extrait}}}{A_{\text{contrôle}}} \right] \times 100$$

Dont :

- ✓ $A_{\text{Contrôle}}$: est l'absorbance de la solution DPPH.
- ✓ A_{Extrait} : est l'absorbance de l'échantillon à une concentration donnée/standard.

L'étude de la variation de l'activité antiradicalaire en fonction de la concentration des extraits permet de déterminer la concentration qui correspond à 50% d'inhibition (CI_{50}), plus la valeur de (CI_{50}) est faible plus l'extrait est puissant vis-à-vis des radicaux libres.

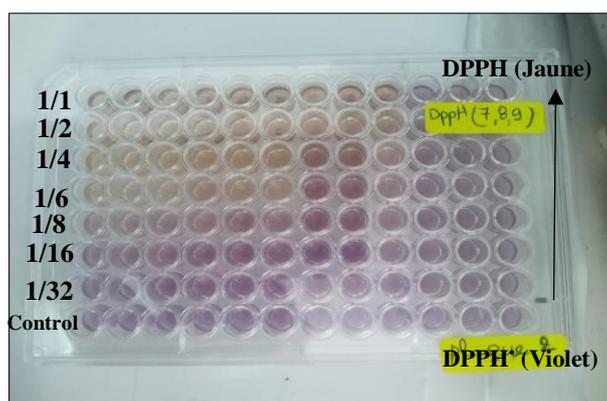


Figure 35. Résultat du test de DPPH sur microplaque (Photo Personnelle, 2021).

IV.5.5.2. Piégeage de l'ABTS^{•+}

- **Principe**

Il est basé sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique ABTS^{•+} de coloration bleu verte. Ce dernier est formé suite à l'oxydation de l'ABTS initialement incolore avec les différents composés comme le phosphate de potassium (KH₂PO₄). Ainsi, la réaction se déroule en deux étapes : Au cours de la première étape, le radical ABTS^{•+} est formé par arrachement d'un électron à un atome d'azote de l'ABTS. La deuxième se déroule en présence d'antioxydant donneur de H[•], le radical d'azote concerné piège un H[•], conduisant à l'ABTS-H⁺, ce qui entraîne la décoloration de la solution (Miguel., 2010) (Fig.36) (Annexe 6).

- ✓ **Préparation de la solution des extraits de deux plantes**

Quatre mg d'extrait est dissous dans 1ml de méthanol ou de l'eau distillé. Différentes concentrations d'extraits de deux plantes ont été utilisées : 800; 400; 200; 100; 50; 25 et 12,5 µg/mL.

- ✓ **Préparation de la solution ABTS^{•+}**

Une solution d'ABTS a été préparée en mélangeant 10mg d'ABTS (10mg/4ml) de H₂O avec 0,5 g de dioxyde de manganèse (MnO₂) (solution **S7**). Le mélange réactionnel est mis en incubation, à l'obscurité, pendant 16 heures à température ambiante. La solution de travail d'ABTS^{•+} finale est obtenue en diluant la solution mère d'ABTS^{•+} avec du méthanol jusqu'à obtention d'une absorbance voisine de 1 ± 0.03 à 734nm. Les deux standards BHA et BHT sont utilisés comme des normes antioxydantes pour la comparaison de l'activité de nos extraits.

- ✚ **Procédure**

Le protocole adopté est celui de Re., (1999), et pour cela un volume de 160µL de **S7** a été ajouté à 40µL d'extrait dissout dans le méthanol ou dans l'eau distillé à différentes concentrations (12.5-800µg/mL). 10min plus tard, l'absorbance est mesurée à 734 nm en utilisant un lecteur de microplaques. Chaque test est répété trois fois, le résultat est présenté par la moyenne des trois essais. L'évaluation de l'activité antioxydante est faite par la détermination de IC₅₀, c'est la quantité d'antioxydant nécessaire pour réduire 50 % de ABTS^{•+}. Les IC₅₀ sont calculés graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés représentant le pourcentage d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testés et les standards. La capacité de piégeage de l'ABTS^{•+} a été calculée en utilisant l'équation suivante :

$$(\%) \text{ d'Inhibition} = \left[\frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{extrait}}}{A_{\text{contrôle}}} \right] \times 100$$

Dont :

- ✓ $A_{\text{Contrôle}}$: est l'absorbance de la solution ABTS.
- ✓ A_{Extrait} : est l'absorbance de l'échantillon à une concentration donnée/standard.

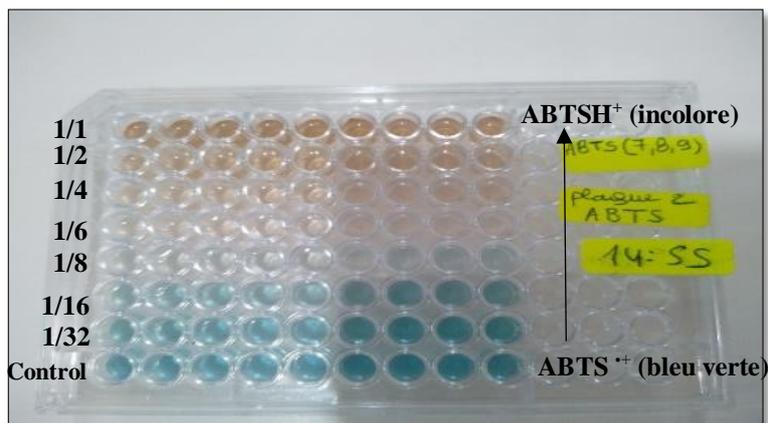


Figure 36. Résultat du test $ABTS^{++}$ sur microplaque (Photo Personnelle, 2021).

IV.5.5.3. Méthode de réduction de cuivre (CUPRAC)

- **Principe**

Ce test a été déterminé par la méthode décrite par Apak., (2004). Il consiste au suivi de la diminution de l'absorbance accrue du complexe néocuproïne, cuivre (NC_2-Cu^{2+}). En effet en présence d'un agent antioxydant, le complexe cuivre-néocuproïne est réduit (Fig.37) (Annexe 6).

- **Mode opératoire**

- ✓ **Préparation des solutions des extraits de deux plantes**

Quatre mg d'extrait est dissous dans 1mL de méthanol ou de l'eau distillé. Différentes concentrations d'extraits de plantes ont été utilisées : 800; 400; 200; 100; 50; 25 et 12,5 μ g/mL.

Trois solutions sont préparées pour effectuer cette activité :

- ✓ **Solution tampon S8** : 1.927g d'acétate d'ammonium (CH_3COONH_4) sont dissoutes dans 25 mL (H_2O) de coloration transparente.
- ✓ **Solution 9** : 0.042625g de ($CuCl_2 \cdot 2H_2O$) sont dissoutes dans 25 mL (H_2O) de coloration bleue.

- ✓ **Solution 10** : 0.039g (Néocuprine) sont dissoutes dans 25mL d'éthanol.

✚ Procédure

Un volume de 40µL des extraits à différentes concentrations (12.5-800µg/mL) sont mélangé avec : 60µL de **S8** (pH=7,0), 50 µL de **S10** et 50µL de **S9**. Le mélange est homogénéisé à l'aide d'un agitateur de microplaque est incubé à l'abri de la lumière. Après une heure, l'absorbance est mesurée à 450 nm. La capacité de réduction des extraits a été comparée à celles de deux standards BHA et BHT. Les résultats ont été calculés à titre d' $A_{0.5}$ (µg/mL) correspondant à la concentration indiquant 0.50 d'absorbance. La concentration de l'extrait fournissant une absorbance de 0.5 ($A_{0.5}$) a été déterminée à partir du graphique de l'absorbance en fonction de la concentration de l'extrait.

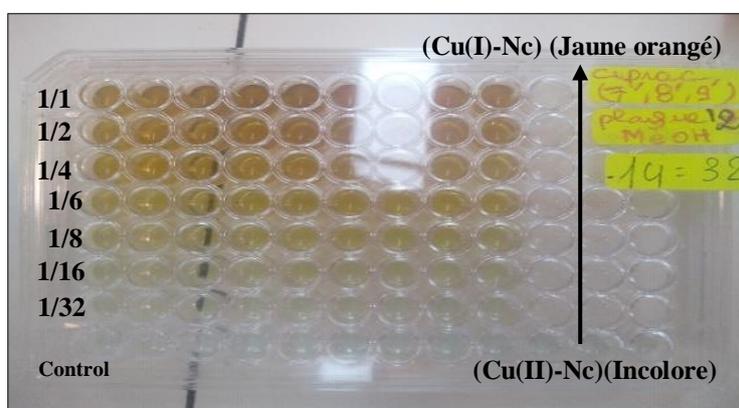


Figure 37. Résultat du test du CUPRAC sur microplaque (Photo Personnelle, 2021).

IV.5.5.4. Méthode de blanchiment du β -carotène

- **Mode opératoire**
 - ✓ **Préparation du β -carotène**

Une masse de 0,5mg de β -carotène est dissoute dans 1mL de chloroforme puis ajouté à un volume de 25µL d'acide linoléique et de 200µL de Tween 40, en donnant un mélange émulsifiant (**S11**). Après évaporation du chloroforme sous vide, 50mL d'eau distillée saturée en oxygène, ont été ajoutés avec agitation vigoureuse. L'absorbance de la solution du β -carotène doit être comprise entre 0.8 et 0.9nm.

✚ Procédure

Il est déterminé selon la méthode de décrite par Marco., (1968). Pour cela, un volume de 160µL de **S11**, a été ajouté à 40µL d'extrait à différentes concentrations (12.5-800µg/mL) (Fig.38). La lecture se fait immédiatement (T_0) à 470nm. Après le mélange est incubé pendant 120 min à l'obscurité et à 45°C, puis une deuxième lecture est faite à nouveau à la même

longueur d'onde (T_{120}). Un blanc sans échantillon est préparé dans les mêmes conditions en remplaçant l'extrait par le méthanol ou l'eau distillée. Les BHA et BHT ont été utilisés comme standards. Les pourcentages d'inhibition de blanchiment de la β -carotène ont été calculés par

$$AA(\%) = \left[1 - \frac{AH_0 - AH_t}{AC_0 - AC_t} \right] \times 100$$

la formule suivante :

Dont :

- ✓ **AA (%)** : Activité antioxydante ;
- ✓ **AH₀** : valeur d'absorbance du β -carotène en présence de l'extrait mesurée à $t = 0$;
- ✓ **AC₀** : valeur d'absorbance du β -carotène en présence du contrôle négatif mesurée à $t=0$;
- ✓ **AH_t** : valeur d'absorbance du β -carotène en présence de l'extrait mesurée à $t = 120$ min;
- ✓ **AC_t** : valeur d'absorbance du β -carotène en présence du contrôle négatif mesurée à $t = 120$ min. La concentration inhibitrice de 50% du blanchiment du β -carotène (IC_{50}) des différents échantillons a ensuite été calculée et comparée à celle du BHA et du BHT.

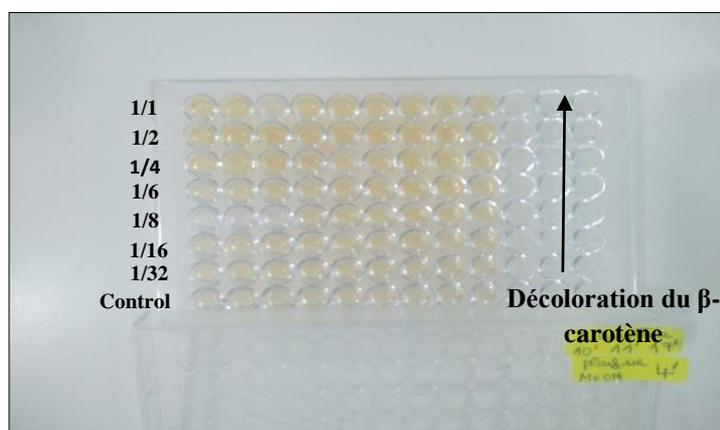


Figure 38. Résultat du test du β -carotène sur microplaque (Photo Personnelle, 2021).

IV.5.5.5. Test de la réduction du fer (FRAP) (Ferric Reducing Antioxidant Power)

Le pouvoir réducteur des extraits de deux plantes est déterminée selon la méthode décrite par Oyaizu., (1986), basée sur la réaction chimique de réduction des ions Fe^{3+} présent dans le complexe $K_3Fe(CN)_6$ à des ions de Fe^{2+} par les antioxydants qui donnent la couleur bleue (Fig.39). Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (Hubert., 2006).

- **Mode opératoire**

- ✓ **Préparation des solutions des extraits de deux plantes**

Une masse de 4mg d'extrait est dissoute dans 1mL de MeOH ou de l'eau distillée. Différentes concentrations d'extraits de plantes ont été utilisées : 200; 100; 50; 25; 12.5; 6.25 et 3.125µg/mL.

- ✓ **Préparation de tampon phosphate (S12):**

Solution 1 : 0,078g NaH₂PO₄ dissoute dans 50mL H₂O

Solution 2 : 0,1780g Na₂HPO₄, 2H₂O dissoute dans 100mL H₂O

- ✓ **Préparation de la Solution de potassium ferricyanide (1%)** : 1g de K₃Fe (CN)₆ dans 100 mL H₂O distillé (**S13**).

- ✓ **Préparation de la Solution de TCA à 10%** :

Une quantité de 1g de TCA est dissous dans 10mL d'eau distillé (**S14**).

- ✓ **Préparation de la solution de FeCl₃ à 0.1%** :

Une masse de 1g de FeCl₃ est dissous dans 100mL de l'eau distillée (**S15**).

Procédure

Un volume de 10µL des extraits à différentes concentrations, est ajouté à 40µL de **S12** (pH 6,6) et 50µL de **S13**. Après 20 minutes d'incubation à 50°C, des volumes de 50µL de **S14**, 40µL d'eau distillée et 10µL de **S15** fraîchement préparé ont été ajoutés. Un blanc sans échantillon est préparé dans les mêmes conditions en remplaçant l'extrait par le solvant d'extraction. La lecture se fait à 700nm. Les standards utilisés sont l'acide ascorbique et l'α-tocophérol. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés. Les résultats ont été donnés en A_{0.5} (µg/mL) correspondant à la concentration indiquant une intensité d'absorbance de 0.5. L'augmentation du pouvoir réducteur par l'extrait et l'étalon a été calculée comme suit :

$$\% \text{ d'Inhibition} = [(A_{\text{Extrait}} / A_{\text{Blanc}}) - 1] \times 100$$

Dont :

- ✓ **A_{Extrait}** : Absorbance de la réaction contenant les réactifs et l'extrait.
- ✓ **A_{Blanc}** : Absorbance de la réaction ne contenant que les réactifs.

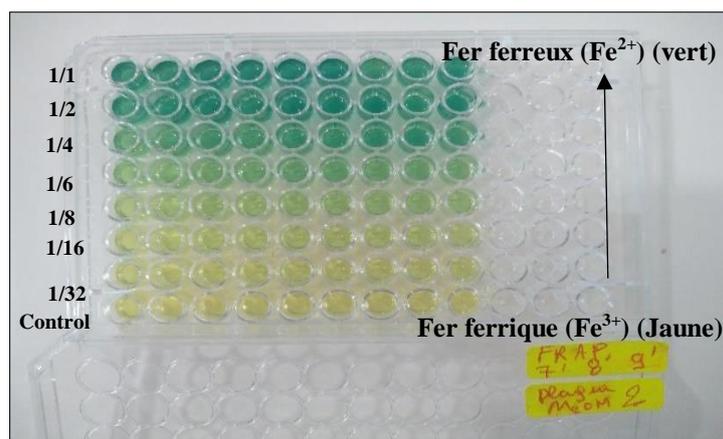


Figure 39. Résultat du test du pouvoir réducteur sur microplaque (Photo Personnelle, 2021).

IV.6. Détermination de l'activité anticholinestérasique

- **Principe**

Le pouvoir inhibiteur de l'activité enzymatique de l'acétylcholinestérase (AChE) et de la butyrylcholinestérase (BChE) est testé en utilisant la méthode décrite par Ellman et al., (1961). Il est basé sur la capacité d'acétylcholinestérase à hydrolyser le substrat et à produire de la thiocholines. Cette dernière réagit avec l'acide 2-nitrobenzoïque (DTNB) et générer un chromophore jaune (Fig.40) (Annexe 6), qui peut être quantifié à 412 nm.

- **Mode opératoire**

- ✓ **Préparation des solutions des extraits de deux plantes**

Une quantité de 4mg d'extrait est dissous dans 1mL de MeOH ou de l'eau distillé. Différentes concentrations d'extraits de deux plantes ont été utilisées : 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3.125 et 1.5625 μ g/mL.

- ✓ **Préparation de solution tampon (S16)**

- 8,890g de ($\text{Na}_2\text{HPO}_4, 2\text{H}_2\text{O}$) + 500mL d'eau distillé (V_1)

- 1.56g de ($\text{NaH}_2\text{PO}_4, 2\text{H}_2\text{O}$) + 100mL d'eau distillé (V_2)

$V_1+V_2 \longrightarrow$ Solution tampon comme le montre le tableau 6.

On ajoute du NaOH pour augmenter la valeur de PH.

Tableau 10. Valeurs des PH de la solution tampon.

PH	5,8	6,2	6,4	6,6	6,8	7	7,2	7,4	7,6	7,8	8
NaH_2PO_4 (ml)	92	81,5	73,5	62,5	51	39	28	19	13	8,5	5,3
Na_2HPO_4 (ml)	8	18,5	26,5	37,5	49	61	72	81	87	91,5	94,5

✓ **Préparation de la solution de DTNB (5,5-Dithiobis (2-nitro-benzoic acid)) (S17)**

Une masse de 16mg de DTNB + 1mL de tampon (PH=7) + 7,5mg de NaHCO₃ + 1mL de tampon (PH=7) + 2ml de tampon (PH=7) + 4mL de tampon (PH=8) → volume total 8mL.

✓ **Préparation de substrat (ACI) (Acetylcholine iodide) (S18)**

Une quantité de 16mg de ACI + 4mL H₂O + 4mL de tampon (PH=8).

✓ **Préparation de substrat (BuCI) (S-Butyrylthiocholine iodide) (S19)**

4mg de BuCI + 4mL H₂O + 4mL de tampon (PH=8).

✓ **Préparation des enzymes :****-AChE (S20) :**

- 0,2 mg AChE+4mL tampon (PH=8) pour donner la solution A.
- Mettre 20μL de la solution A dans 20 tubes à eppendorff.
- On prend un seul eppendorf qui contient 20μL de la solution A et on ajoute 3mL de tampon (PH=8) + contrôlé l'absorbance à 412nm qui doit être entre 0.4-0.5.

- BChE (S21) :

- 0.2 mg BChE+4mL tampon (PH=8) pour donner la solution A.
- Mettre 20μL de la solution A dans 20 tubes à eppendorff.
- On prend un seul eppendorf qui contient 20μL de la solution A et on ajoute 2mL de tampon (PH=8) + contrôlé l'absorbance à 412nm qui doit être entre 0.4-0.5.

 **Procédure**

Dans cette logique, 150μL de **S16** (pH=8.0), 10μL d'échantillon à différentes concentrations, et 20μL de **S20** ou de **S21** (enzymes) ont été mélangés et incubés pendant 15 min à 25 °C, puis 10μL de **S17** ont été ajoutés. La réaction a ensuite été initiée en ajoutant 10μL **S18** ou **S19** (substrats). Immédiatement, une première lecture a été faite à 412 nm suivie d'une seconde 15 min plus tard pour éviter la dégradation de l'enzyme. L'étalon utilisé est la galantamine. Les résultats ont été donnés en valeur IC₅₀ (μg/mL) correspondant à la concentration d'inhibition de 50%. Le pourcentage d'inhibition (I%) des extraits de plantes a été obtenu à l'aide de la formule :

$$\% \text{ d'Inhibition de l'AChE} = \frac{E -}{E} \times 100$$

Dont :

- ✓ **I (%)** = Pourcentage d'inhibition de l'AChE ou BChE.

- ✓ E= L'activité de l'enzyme sans extrait.
- ✓ S= L'activité de l'enzyme avec l'extrait.

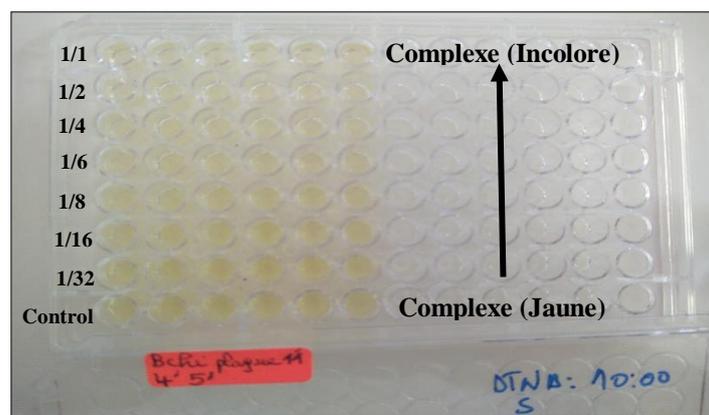


Figure 40. Résultat de l'effet inhibiteur de l'AChE ou BChE sur microplaque.

(Photo Personnelle, 2021).

IV.7. Évaluation de l'activité antibactérienne des extraits

Afin de caractériser l'activité antibactérienne des extraits bruts de deux plantes *in vitro*, nous avons utilisé la méthode de diffusion en disque sur milieu gélosé, qu'est une technique qualitative basée sur la mesure du diamètre des zones d'inhibition apparents autour des disques chargés d'extrait végétal (Rukayadi et al., 2008).

Ensuite, pour le calcul de la CMI (Concentration Minimale Inhibitrice) de ces extraits bruts testés efficaces, la méthode de micro-dilution sur microplaque de 96 puits est utilisée dans notre étude. Enfin, la CMB (Concentration Minimale Bactéricide) est également mesurée suivant le protocole ci-après. Un groupe de bactéries ATCC Gram⁺ et Gram⁻ sont utilisés pour évaluer cette activité (Tab.11). Les antibiotiques ; Gentamicine (GENT), Cefotaxime (CTX) et Colistine sulfate (CS) ont été utilisés comme des témoins positif.

Tableau 11. Souches microbiennes testées et leurs ATCC.

Souche bactérienne	ATCC	Gram
<i>Staphylococcus aureus</i>	25923	Positif
<i>Enterococcus faecalis</i>	51299	Positif
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	70603	Négatif
<i>Escherichia coli</i>	25922	Négatif

IV.7.1. Technique de diffusion des disques sur milieu solide (Antibiogramme)

Cette méthode permet de déterminer la susceptibilité des bactéries aux composés présents dans les extraits de plantes.

✓ Stérilisation du matériel

L'eau distillée, les tubes à essai utilisés dans la préparation des suspensions bactériennes (Inoculums) ainsi que dans la préparation des dilutions de nos échantillons, les milieux de cultures et les disques préparés de papier Whatman ont été stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 15 à 20 min.

✓ Préparation des différentes concentrations des extraits

Les extraits ont été dissous dans le diméthyle sulfoxyde (DMSO) pour l'extrait MeOH et l'eau distillé pour les extraits aqueux. Afin de préparé des solutions mères de concentrations 25, 50 et 100 µg/mL (extrait MeOH) et les concentrations 25, 50, 100 et 200µg/mL (extraits aqueux).

✓ Revivification des souches bactériennes

La revivification des souches bactériennes conservée est une étape nécessaire avant leur utilisation car l'activité est nulle à l'état conservé. Elle a pour objectif l'obtention d'une culture jeune et pure. Les souches sontensemencées dans le bouillon nutritif Brain Heart Infusion Broth (BHIB) (Annexe 01), puis elles sont incubées à 37°C pendant 24h, afin d'obtenir des cultures jeunes qui ont servi par la suite à préparer la suspension bactérienne (El Anachi et al., . 2020).

✓ Préparation de l'inoculum (Suspension bactérienne)

A partir des cultures jeunes préparé précédemment, des suspensions bactériennes sont préparées dans du sérum physiologique stérile (NaCl 0.9 %) (Annexe 01), puis agiter. Il faut s'assurer que la suspension bactérienne est bien homogénéisée. La turbidité des suspensions est fixée à (0.5 MacFarland) déterminée spectrophotométriquement par une densité optique (DO) entre 0.08 et 0.10 à 625-630nm. (La suspension peut être ajustée par l'addition des cultures jeunes s'il est trop faible, ou par l'ajout de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort). Cet inoculum ne doit pas être utilisé au-delà de 15 minutes faute de quoi la concentration et donc l'opacité risque d'augmenter à cause de la croissance bactérienne) (Merouani., 2017 ; Aboya-Moroh., 2013 ; Rahal., 2005).

✓ **Préparation du milieu Mueller Hinton (MH)**

Environs 26g d'agar nutritif sont pesés puis dissous dans un litre d'eau distillée, la solution obtenue est ensuite stérilisée à l'autoclave (à 120°C pendant 20min) (Annexe 01). Après le milieu est coulé à raison de 4mm d'épaisseur pour permettre une bonne diffusion de l'extrait et laisser refroidir. Les boîtes doivent être disposées sur une surface plane afin d'assurer une bonne uniformisation de la surface avant solidification de la gélose.

✓ **Préparation des disques**

Des disques de 6mm de diamètre ont été préparés en papier Whatman n°6. Les disques, une fois préparés, sont placés dans un tube à essai et autoclavés pendant 20min à 120°C, puis stockés à une température ambiante, en gardant le tube hermétiquement fermé (Le Minor et Veron., 1989).

✓ **Ensemencement**

- On trempe un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne ;
- On l'essor en le pressant fermement sur la paroi interne du tube, afin de décharger au maximum ;
- On frotte l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées, répéter l'opération, deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois ;
- On place les disques de papier Whatman aseptiquement avec une pince stérile sur la gélose Mueller Hinton (GMH);
- On prélève 20µL pour chaque dilution de chaque extrait à l'aide d'une micropipette et on les mettre sur les disques de papier Whatman (Benachour et al., 2020 ; Benzidane et al., 2020) ;
- Des disques imbibés seulement par le DMSO ou l'eau distillée ont été réalisés comme des témoins négatifs, est l'expérience est répétée en triplet pour chaque extrait et pour chaque bactérie pour minimiser les erreurs expérimentales. Les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures.

✓ **Lecture**

L'effet antibactérien des extraits de deux plantes a été déterminé en mesurant à l'aide d'une règle le diamètre de la zone d'inhibition, déterminé par les différentes concentrations autour des disques (Fig.41). Les résultats sont exprimés selon quatre niveaux d'activité (Tab.12).

Tableau 12. Sensibilité des souches microbiennes en fonction des zones d'inhibition

(Moreira et al., 2005).

Sensibilité	Zone d'inhibition
Non sensible ou résistant (-)	Diamètre < 8 mm
Sensible (+)	Diamètre compris entre 9 à 14 mm
Très sensible (++)	Diamètre compris entre 15 et 19 mm
Extrêmement sensible (+++)	Diamètre > 20 mm

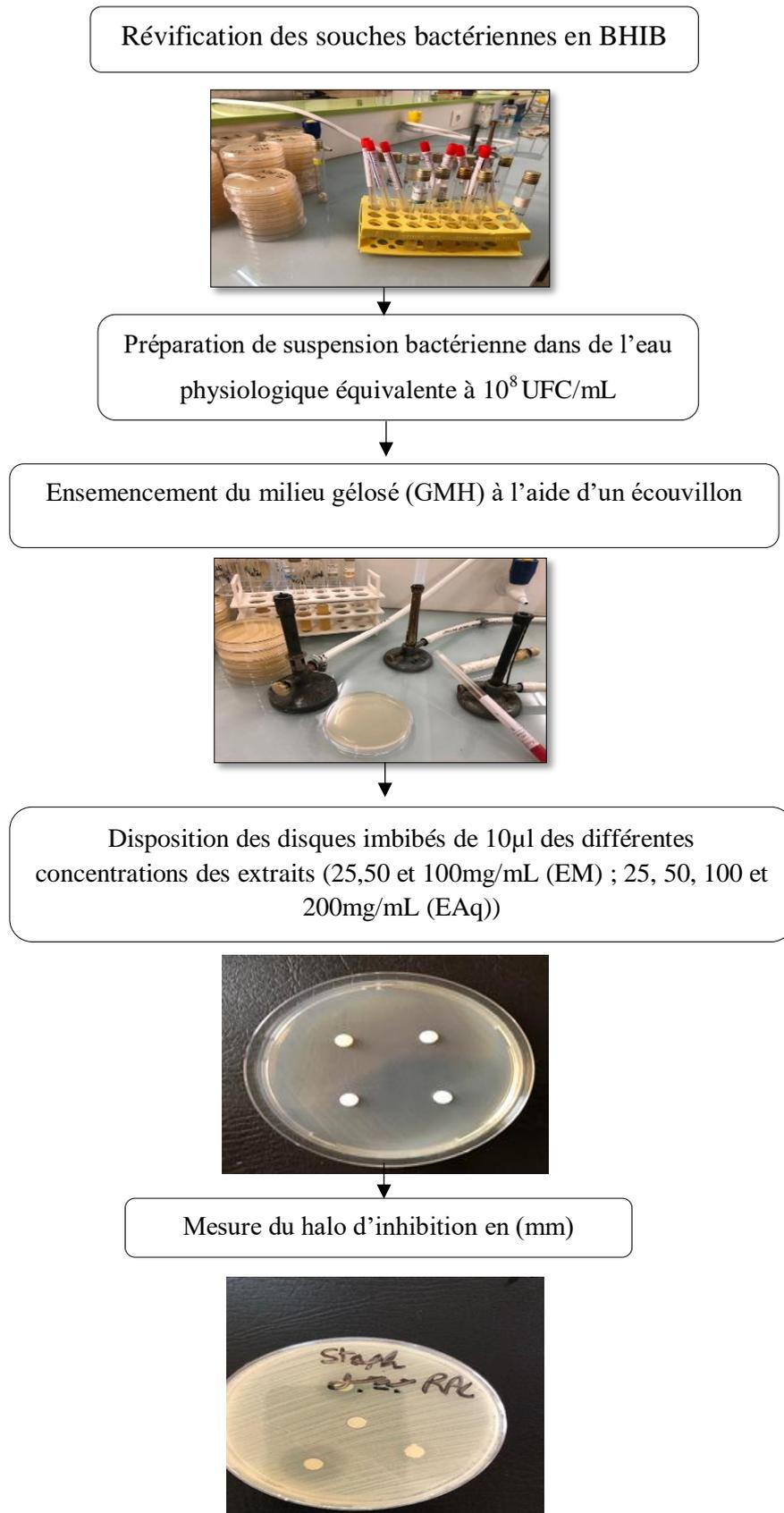


Figure 41. Organigramme de la méthode de diffusion des disques sur milieu gélosé (Antibiogramme).

IV.7.2. Technique de micro-dilution de plaque

La méthode de micro-dilution avec le bouillon Muller Hinton a été utilisée afin de déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) et les concentrations minimales bactéricides (CMB) (NCCLS., 1997). Seuls les extraits qui ont montré une activité par la méthode des disques ont fait l'objet d'une évaluation de leur activité par la méthode de dilution.

IV.7.2.1. Détermination des CMI (Concentration Minimale Inhibitrice)

La concentration minimale inhibitrice est la plus faible concentration d'un produit capable de provoquer une inhibition complète de la croissance bactérienne. Nous avons utilisé dans ce test des microplaques stériles à 96 puits, selon les recommandations du Comité National des Normes du Laboratoire Clinique (NCCLS., 1997).

✓ Préparation des dilutions

Les extraits ont été préparés en solubilisant 200mg de chaque extrait aqueux de deux espèces d'*A. longa* L. et *C. spinosa* L. dans un volume de 1mL de l'eau distillée, et 100mg des extraits MeOH dans 1mL de DMSO. À partir de ces solutions mères on réalise des dilutions en série successives par progression géométrique de raison 2 de façon à obtenir successivement les dilutions : 1/1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64 et 1/128µg/mL.

Procédé

On prépare une culture en phase exponentielle en milieu liquide des bactéries à étudier (10^7 UFC/ mL) est ajouté dans chaque puits de la microplaque à raison d'un volume de 20µL, 80µL du milieu Muller Hinton en bouillon et 80µL de différents extraits de deux plantes sont répartis dans les 96 puits de la microplaque. La concentration bactérienne dans le volume final est de 5×10^6 UFC/mL. L'ensemble des plaques inoculées sont incubés à 37°C pendant 24h. Chaque test a été réalisé en triple. Deux témoins sont réalisés : un témoin négatif avec 160µL du bouillon MH (comme contrôle de contamination.) et un témoin positif avec 20µL de la suspension bactérienne, 80µL de bouillon MH stérile et 80µL de DMSO (comme témoin de croissance bactérienne) (El Anachi et al., 2020).

✓ Lecture

Après l'incubation (24h à 37°C) un volume de 15µL d'une solution de Triphényl Tétrazolium Chloride (TTC) (2mg/mL) (indicateur de croissance bactérienne) (Fig.42-A-) est ajouté dans chaque puits de la microplaque est laissé agir pendant 20min. Selon Masadeh et al., (2014), la solution de TTC change du clair au pourpre en présence d'une croissance

bactérienne, tandis qu'elle reste claire lorsque la croissance est inhibée (Fig.42-B-). La CMI est définie comme la concentration pour laquelle il n'y a pas de culture bactérienne visible (pas de changement de couleur de TTC) (El Anachi et al., 2020).

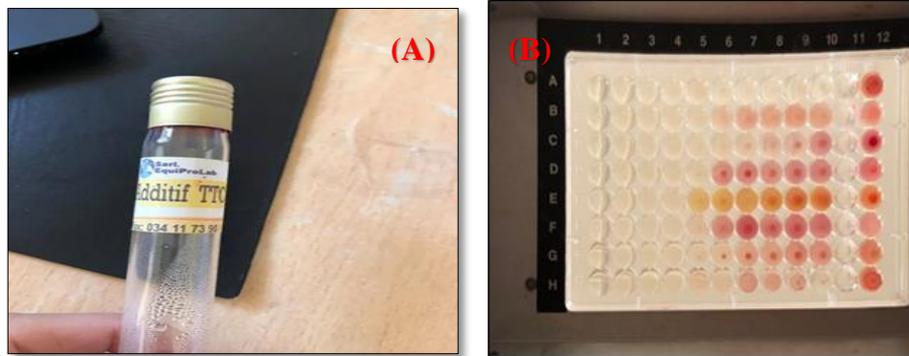


Figure 42. A : Réactif Triphényl Tétrazolium Chloride (TTC) et B : Changement de couleur au niveau des puits de la microplaque en présence d'activité bactérienne sous l'effet de la solution TTC (Photos Personnelle, 2021).

IV.7.2.2. Détermination des CMB (Concentration Minimale Bactéricide)

Elle correspond à la plus faible concentration d'antibiotique (ou d'extrait de plante) ne laissant subsister au maximum que 0,01% de survie de l'inoculum initial après 24 heures de culture à 37°C. Le test de la CMB succède directement au test de la CMI (Mayachiew and Devahastin., 2008).

Procédé

La méthode consiste à faire des prélèvements de 100µL des cultures n'ayant pas donné de développement bactérien au niveau des cupules de la microplaque (à partir des puits positives de la CMI) (les concentrations sub-CMI), c'est-à-dire les cupules ayant montré une absence totale de la croissance bactérienne dans le test CMI est les ensemencées sur gélose nutritive neuve. Après 24 heures d'incubation à 37°C, une croissance correspondant à l'activité bactériostatique, tandis que l'effet bactéricide (CMB) est révélé par une gélose claire (Draman., 2010) (Fig.43).

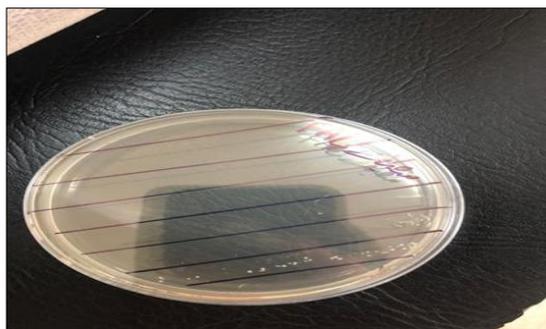


Figure 43. Méthode de CMB (Photo Personnelle, 2021).

IV.8. Chromatographie HPLC-MS/MS pour la caractérisation des polyphénols des extraits méthanoliques bruts des feuilles de deux espèces

L'analyse qualitative des composés phénoliques des extraits méthanoliques des feuilles d'*Aristolochia longa* L. et *Capparis spinosa* L. de trois wilayas est réalisée par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) couplée à la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS).

IV.8.1. Dispositif et appareils

La LC-MS/MS (Quadrupole Shimadzu LC-MS/MS-8050) a été utilisé pour l'analyse chromatographique. En outre, une micropipette, une seringue, des tubes de Falcon de 50 mL, un piston, un bain à ultrasons, des flacons en verre à bouchon à vis de 2 et 12 mL, des seringues de 5 ml, des filtres de seringue de 45/25 mm, un flacon, une pipette jetable et divers matériels tels que des coupes de pesée ont été utilisés pour l'analyse (Yaman et al., 2022 ; Karan et al., 2021).

IV.8.2. Conditions chromatographiques

Les analyses chromatographiques ont été réalisées à l'aide de l'appareil LC-MS/MS (Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometer), des pompes binaires LC-30AD, un dégazeur DGU-20A3r, un four à colonne CTO-10ASvp et un échantillonneur automatique SIL-30AC, dans le laboratoire d'analyse des résidus alimentaires de l'unité de détection et d'analyse des résidus alimentaires du centre d'application et de recherche scientifique et technologique de l'université Tokat Gaziosmanpaşa. Les conditions de fonctionnement de l'appareil sont indiquées dans le tableau 13. La LC-MS/MS (Shimadzu 8050) est équipé d'une interface ESI qui fonctionnent dans les deux modes d'ionisation. Cette interface est utilisée afin d'obtenir un spray stable et des résultats reproductibles. Les valeurs optimales des paramètres de la source ESI sont : température de l'interface ; 300°C, température de la DL ;

250°C, température du bloc thermique ; 400°C, température du bloc thermique de nébulisation ; 400°C, débit de nébulisation de gaz (azote) ; 10L min⁻¹ et débit de séchage de gaz (azote) ; 15L min⁻¹. Les données enregistrées ont été traitées à l'aide du logiciel Lab-Solutions (Shimadzu, Kyoto, Japon). Afin de tenter l'identification des composés phénoliques contenus dans les extraits, une série de 36 standards a été analysée en parallèle avec les différents extraits (Annexe 11). Les solutions mères de chaque standard ont été préparés par dissolution de 10 mg d'étalon analytique dans 10 ml d'éthanol à 80%, toutes les solutions ont été stockées à -20 °C. Des injections en triple ont été faites pour chaque standard et échantillon. Une solution intermédiaire contenant tous les composés standards (100 µg/ml) a été préparée dans de l'éthanol à 80%. Des dilutions ont été effectuées à partir de cette solution pour établir des courbes d'étalonnage et pour les expériences de validation (effets de matrice, précision et exactitude) (Yaman et al., 2022) (Annexe 11).

L'identification des composés phénoliques a été réalisée en comparant les temps de rétention avec ceux des étalons de référence disponibles les plus proches (Karan et al., 2021). La méthode analytique a été validée afin de déterminer la linéarité, les limites de détection (LODs), les limites de quantification (LOQs) et la précision (Annexe 11). La relation entre la surface du pic et la concentration était linéaire de 50 à 100 µg/mL (ppm) pour chaque composé.

Tableau 13. Conditions de la LC-MS/MS (Karan et al., 2021).

LC- MS/MS	Shimadzu 8050		
Phase mobile A	Eau distillée + formiate d'ammonium 5 mM		
Phase mobile B	Méthanol + formiate d'ammonium 5 mM		
Débit de la phase mobile	0,4 ml/min		
Colon	C18 Inertsil ODS-4 (3µm ; 2.1x150mm)		
Programme de gradient	Temps (min)	%A	%B
	0-8	5	95
	8.01-12	5	95
	2.01-14.99	95	5
Four de la colonne	40°C		
Volume d'injection	20µL		
Température du gaz MS	300°C		
Débit de gaz MS	10 L/min		
Pression du nébuliseur+ Température	270 kPa ; 20°C ±1		

IV.9. Analyses statistiques

Les résultats des tests effectués *in vitro* sont exprimés en moyenne \pm SD d'analyses en trois essais. Les valeurs de CI50 (concentration d'inhibition à 50%) et de A0.50 (la concentration indiquant 0.50 d'absorbance) sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir de deux courbes : [%inhibition = f (concentrations)] pour la CI50 et [% inhibition = f (Absorbance)] pour la A0.50. L'étude de la corrélation entre les teneurs en composés phénoliques et les activités biologiques des extraits bruts de deux plantes a été réalisée par la détermination du coefficient de corrélation linéaire (R), dit coefficient de Bravais-Pearson. Ce dernier est compris entre -1 et +1. Lorsqu'il est proche de zéro, les deux variables sont linéairement indépendantes, tandis qu'une liaison linéaire est d'autant plus marquée que le coefficient s'approche de -1 ou de +1. En outre, la corrélation d'une variable avec elle-même est égale à 1 (Rakotomalala, 2015). Les investigations sur les relations entre les composés phénoliques et la capacité antioxydante fournissent des preuves claires sur les effets de ces constituants en tant qu'agents antioxydants. Les données de *C. spinosa* L. et d'*A. longa* L. ont été analysées par ACP afin de visualiser les relations entre les activités biologiques, les composés phénoliques et les lieux des échantillons de deux plantes (Mila, Sétif et Jijel).



Résultats et Discussion

V. Résultats et Discussion

V.1. Analyses de sol

La structure du sol affecte la croissance des plantes en influençant la distribution des racines et la capacité d'absorption de l'eau et des nutriments (Bronick et al., 2004). La première étape du travail réalisé est une caractérisation granulométrique, et la deuxième étape c'est une analyse des paramètres physico-chimiques de sol de six stations.

V.1.1. Résultats des analyses granulométriques du sol

L'analyse granulométriques a pour objectif de mesurer la distribution par taille de particules d'un échantillon. L'identification des différentes familles granulométriques qui constituent un échantillon permet par ailleurs de définir sa texture.

Les résultats des analyses statistiques descriptives des fractions granulométriques du sol prélevé de six stations de prélèvement sont résumés dans le tableau 14.

Tableau 14. Répartition granulométrique des particules (%) du sol des six stations étudiées.

	Argile (%)	Limon (%)	Sable (%)	Classes texturales
S1(ALS)	60.2	27.1	12.7	A
S3(ALM)	58.5	30.1	11.4	A
S4(CSS)	56.7	32.8	10.5	A
S5(CSJ)	54.6	29.2	16.2	A
S6(CSM)	62.4	26.3	11.3	A
S2(ALJ)	63.3	27.5	9.2	A

A : classe texturales Argileuse. ALS : *A. longa* L. de Sétif ; ALJ : *A. longa* L. de Jijel ; ALM : *A. longa* L. de Mila ; CSS : *C. spinosa* L. de Sétif ; CSJ : *C. spinosa* L. de Jijel ; CSM : *C. spinosa* L. de Mila.

D'une manière générale, il apparaît que les argiles et les limons constituent les fractions granulométriques les plus importantes par rapport aux sables pour tous les sols étudiées. La projection des fractions granulométriques sur le triangle textural proposé par le Ministère de l'Agriculture des Etats-Unis (USDA) (Bonneau et Souchier., 1979) (Annexe 10), montre que tous les sols étudiés ont une texture **argileuse**.

V.1.2. Résultats des paramètres physico-chimiques du sol

Les résultats des analyses physico-chimiques du sol prélevé des six stations étudiées sont portés dans le tableau 15.

Tableau 15. Résultats des paramètres physico-chimiques du sol des six stations étudiées.

Stations Paramètres	St1 (ALS)	St2 (ALJ)	St3 (ALM)	St4 (CSS)	St5 (CSJ)	St6 (CSM)
PH	7.88	7.53	7.42	7.39	7.33	7.3
MO (%)	3.75	4.03	4.32	1.76	1.46	1.88
CE (ms/cm)	0.55	0.56	0.48	0.37	0.392	0.71
CaCO ₃ (%)	38.2	45	31.1	42.6	36.7	35.8

PH : potentiel d'Hydrogène ; MO : matière organique ; CE : conductivité électrique ; ALS : *A. longa* L. de Sétif ; ALJ : *A. longa* L. de Jijel ; ALM : *A. longa* L. de Mila ; CSS : *C. spinosa* L. de Sétif ; CSJ : *C. spinosa* L. de Jijel ; CSM : *C. spinosa* L. de Mila.

- ✚ Le sol de la St1 présente une teneur en argile 60.2%, limons 27.1% et un taux de sable 12.7%. Le sol étudié présente une texture argileuse, parmi ses propriétés chimiques, il contient 38.2% du carbonate de calcium a tendance à être légèrement alcalin car le pH est d'environ 7.88, la conductivité électrique à 25°C il était de 0.55μS/cm, donc il a un sol non salin et il contient également un pourcentage riche en matière organique où il atteint 3.75%.
- ✚ Le sol de la St2 présente une teneur en argile 67.3%, limons 30.5% et un taux de sable 13.2%. Le sol étudié présente une texture argilo-limoneuse, parmi ses propriétés chimiques, il contient 45% du carbonate de calcium a tendance à être légèrement alcalin car le pH est d'environ 7.53, la conductivité électrique à 25°C il était de 0.56μS/cm, donc il a un sol non salin et il contient également un pourcentage riche en matière organique où il atteint 4.03%.
- ✚ Le sol St3 présente une teneur en argile 58.5%, limons 30.1% et un taux de sable 11.4%. Le sol étudié présente une texture argilo-limoneuse, parmi ses propriétés chimiques, il contient 31.1% du carbonate de calcium a tendance à être très légèrement alcalin car le pH est d'environ 7.42, la conductivité électrique à 25°C, il était de 0.48μS/cm, donc il a un sol non salin et il contient également un pourcentage riche en matière organique où il atteint 4.32%.

- ✚ Le sol St4 présente une teneur en argile 56.7%, limons 32.8% et un taux de sable 10.5%. Le sol étudié présente une texture argilo-limoneuse, parmi ses propriétés chimiques, il contient 42.6% du carbonate de calcium a tendance à être très légèrement alcalin car le pH est d'environ 7.39, la conductivité électrique à 25°C, il était de 0.37 μ S/cm, donc il a un sol non salin et il contient également un pourcentage pauvre en matière organique où il atteint 1.76%.
- ✚ Le sol St5 présente une teneur en argile 54.6%, limons 29.3% et un taux de sable 16.2%. Le sol étudié présente une texture argilo-limoneuse un peu sableuse, parmi ses propriétés chimiques, il contient 36.7% du carbonate de calcium a tendance à être très légèrement alcalin car le pH est d'environ 7.33, la conductivité électrique à 25°C, il était de 0.39 μ S/cm, donc il a un sol non salin et il contient également un pourcentage pauvre en matière organique où il atteint 1.46%.
- ✚ Le sol St6 présente une teneur en argile 62.4%, limons 26.3% et un taux de sable 11.3%. Le sol étudié présente une texture argilo-limoneuse, parmi ses propriétés chimiques, il contient 35.8% du carbonate de calcium a tendance à être très légèrement alcalin car le pH est d'environ 7.3, la conductivité électrique à 25°C, il était de 0.71 μ S/cm, donc il a un sol peu salin et il contient également un pourcentage pauvre en matière organique où il atteint 1.88%.

❖ Il est à noter qu'*A. longa* L. pousse dans la texture argileuse (St1, St2 et St3). Le pH dans la majorité des échantillons varie entre 7.88 et 7.42, la conductivité électrique est faible, ne dépassant pas 0,5ms/cm, ce qui indique que ces sols sont légèrement alcalins et non salés. Le taux de calcaire total varie entre 38.2%, 45% et 31.1%. La présence de calcaire confère au sol des caractéristiques spécifiques en termes de comportement physique et chimique, et influe même sur son activité biologique. Le sol, de presque l'ensemble des stations (St1, St2 et St3), où pousse l'espèce *Aristolochia longa* L. est riche en matière organique. Cette dernière joue un rôle très important dans le fonctionnement physique, chimique ou biologique du sol ; elle améliore la cohésion des éléments structuraux, favorise la rétention en eau utile, participe au stockage réversible des éléments nutritionnels et augmente l'aération du sol (Du chauffour., 2001), tous ces conditions favorise l'espèce *A. longa* L. à synthétisée et à produisée les composés bioactifs.

❖ Conformément à nos résultats, il ressort que l'espèce *A. longa* L. se développe sur des sols légers à texture essentiellement argileux, riche en matière organique, à pH basique (alcalin) et non salin (Tela botanica., 2022) (Fig.44).

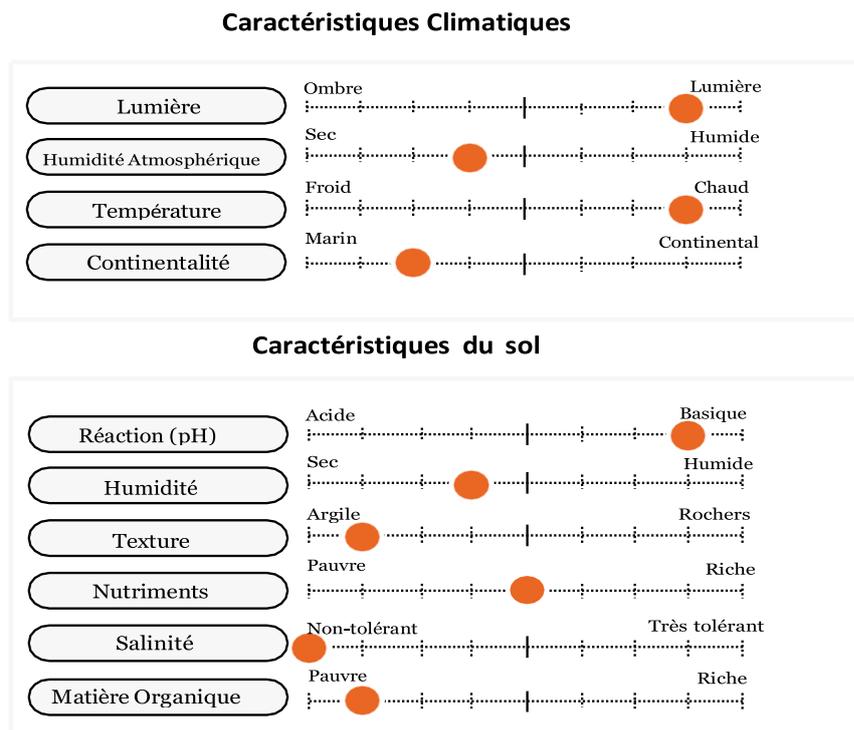


Figure 44. Caractéristique climatiques et édaphiques de l'espèce type : *A. longa* L. (Tela botanica., 2022).

- ❖ Il est à noter aussi, que l'espèce *C. spinosa* L. pousse dans la textures argilo-limoneuse (St4, St5 et St6). Le pH dans la majorité des échantillons varie entre 7.3 et 7.40, la conductivité électrique est faible, ne dépassant pas 0,7 ms/cm, ce qui indique que ces sols sont légèrement alcalins et non à peu salés. Le taux de calcaire total varie entre 35.8% et 42.6%. La présence de calcaire confère au sol des caractéristiques spécifiques en termes de comportement physique et chimique, et influe même sur son activité biologique. Le sol, de presque l'ensemble des stations (St4, St5 et St6), est pauvre en matière organique. Les résultats obtenus dans l'analyse du sol sont en excellent accord avec ce qui a été mentionné dans la littérature. Selon Bensghir Boukhari., (2014), le câprier semble préférer les sols légers, bien drainants avec un pH neutre à alcalin. Dans certaines régions on le retrouve sur des sols légers sablo-limoneux à pH 7,5 à 8 (Benzidane et al., 2020). Dans la région de Mila (Rouached), on le rencontre sur des sols argileux et peu drainants. L'analyse de quelques échantillons de sol prélevés sur des sols naturels et sur des anciennes cultures de cette région a montré que les sols sont pauvres en éléments minéraux et moyennement riches en matière organique. Ce sont également des sols riches en calcaire et à pH alcalin. Aussi, il a été déclaré que l'espèce

type *Capparis spinosa* L. se développe sur des sols légers à texture essentiellement rocheux, pauvre en matière organique, à pH basique (alcalin) et non salin (Tela botanica., 2022) (Fig.45).

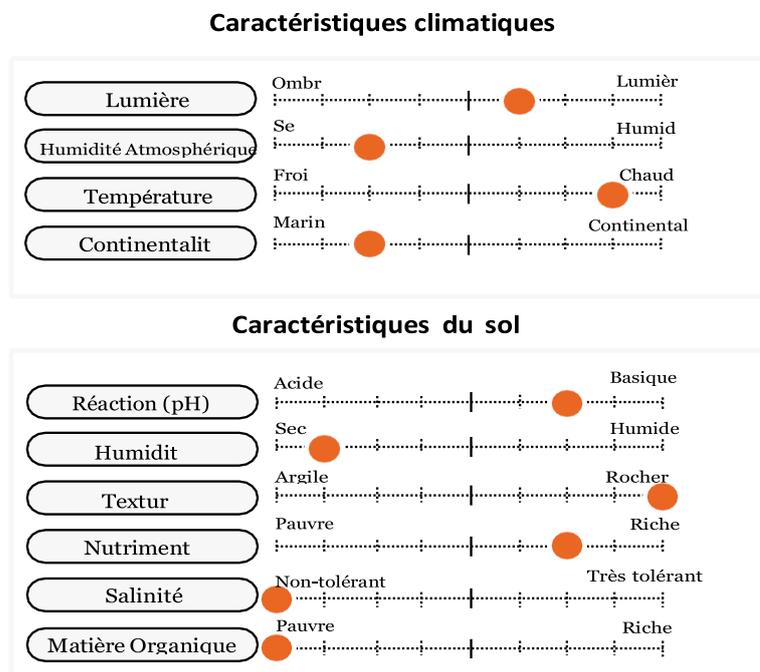


Figure 45. Caractéristique climatiques et édaphiques de l'espèce : *C. spinosa* L. (Tela botanica., 2022).

V.2. Caractéristiques climatiques de trois wilayas de récolte

Le climat est l'une des conditions les plus naturelles qui influencent la formation du couvert végétal et sa croissance, car le changement climatique affecte d'un endroit à l'autre la répartition, la diversité et la densité. Le taux de précipitations et la température sont les facteurs les plus influents sur le couvert végétal.

Les données climatiques utilisées durant la période de récolte de deux plantes *Aristolochia longa* L. et *Capparis spinosa* L. concernent la pluviométrie, l'humidité et les températures minima et maxima sur une période de 10 ans (de 2010 à 2019) (une période qui couvre l'année de récolte de deux espèces étudiées). Elles sont obtenues à partir des stations météorologiques aéroport "Aïn Arnat" pour la wilaya de Sétif, "Achouat" pour la wilaya de Jijel et station de "Ain tinn" pour la wilaya de Mila.

✓ Précipitations

La pluviométrie est un facteur primordial qui permet de déterminer le type de climat. Ces précipitations sont évaluées en millimètre (mm) par jour, par mois, par saison ou par an, et

constituent un facteur discriminant en matière de compréhension de la dynamique des biocénoses dans leur ensemble (Cherifi., 2013).

Les précipitations moyennes mensuelles et annuelles des trois wilayas durant la période (2010-2019) sont données par le tableau 16.

Tableau 16. Sommes des précipitations durant la période (2010-2019) de trois wilayas : Mila, Jijel et Sétif.

Wilaya	Jan	Fev	Mar	Avr	Mai	Jui	Juil	Aout	Sep	Oct	Nov	Dec	P ann (mm)
Mila	83	99	96	55	51	25	7	24	32	58	70	73	673
Jijel	149.7	164.8	114.2	68.144	48.07	22.90	1.91	23.91	54.92	145.2	189.33	126.8	960.154
Sétif	43.32	41.35	42.98	43.47	43.61	41.86	5.02	15.76	23.82	32.52	50.4	23.13	407.24

➤ Pour la wilaya de Mila

La précipitation annuelle dans la région d'étude équivaut à 673mm. Ainsi les mois de Février et Mars sont les plus pluvieux avec une pluviométrie moyenne de 99mm et 96mm. Le mois de juillet est le mois plus sec avec une précipitation moyenne de 7mm.

➤ Pour la wilaya de Jijel

La précipitation annuelle dans la région d'étude équivaut à 960.154mm. Ainsi le mois de Novembre est le plus pluvieux avec une pluviométrie moyenne de 189.33mm. Le mois de juillet est le mois plus sec avec une précipitation moyenne de 1.91mm.

➤ Pour la wilaya de Sétif

Le régime pluviométrique de la wilaya de Sétif présente une certaine variabilité (Tab.16), la moyenne la plus basse est enregistrée durant les mois de Juillet avec 5.02mm, alors que les mois les plus pluvieux sont : Novembre, Avril et Janvier avec moyennes mensuelles de : 50.4mm, 43.47mm et 43.32mm. La quantité de pluie moyenne annuelle relevée sur une période de 10 ans est de 407.24 mm, elle reflète la faiblesse de la pluviométrie dans la Wilaya de Sétif.

✓ **Température**

La température est également un élément écologique fondamental en tant que facteur climatique vital et déterminant dans la vie des végétaux. Elle conditionne en effet la durée de la période de végétation, ainsi que la répartition géographique des espèces (Ozenda, 1977). La température est un facteur climatique de toute première importance car elle contrôle l'ensemble

des phénomènes métaboliques et conditionne la répartition de la totalité des espèces et des communautés d'êtres vivants dans la biosphère (Ramade., 1984).

La caractérisation de la température en un lieu donné se fait généralement à partir de la connaissance des variables suivantes :

- Température moyenne mensuelle « T »,
 - Température maximale « M »,
 - Température minimale « m ».
- **Températures moyennes mensuelles (2010-2019)**

Les températures moyennes mensuelles et annuelles des trois wilayas durant la période (2010-2019) sont données par le tableau suivant (Tab.17).

Tableau 17. Températures moyennes mensuelles et annuelles T (°C) durant la période (2010-2019) de trois wilayas : Mila, Jijel et Sétif.

Wilayas	Jan	Fev	Mar	Avr	Mai	Jui	Juil	Aout	Sep	Oct	Nov	Dec	T°C Moy
Mila	8.9	9.0	11.3	14.5	17.7	23.4	28.6	26.3	22.3	18.7	13.2	9.7	20.36
Jijel	11.97	12.06	14.28	16.5	18.92	20.6	26.2	26.6	24.35	21.26	16.84	13.2	22.27
Sétif	5	5.33	7.86	12.8	16.73	22.06	26.36	25.8	20.76	16.13	9.77	5.7	17.43

Pour les 3 wilayas, le mois de Janvier est le plus froid alors que les mois d'Août et juillet sont considérés les plus chaud. Les températures varient entre 8.9 °C et 28.6 °C à Mila, entre 11.97 °C et 26.6 °C à Jijel, et entre 5 °C et 26.3 °C à Sétif. Donc d'après le tableau 17, on remarque que la période la plus froide s'étale de décembre à mars, la comparaison entre la moyenne annuelle des trois wilayas nous a permis de confirmer la présence d'une variation climatique.

✓ Humidité

C'est le rapport entre la quantité de vapeur d'eau dans un volume d'air donné et la quantité possible dans le même volume à la même température (Villeneuve., 1974). Elle dépend de plusieurs facteurs climatiques comme la pluviométrie, la température et le vent (Faurie et al., 1980).

Tableau 18. Moyennes mensuelles et annuelles de l'humidité de trois wilayas durant la période (2010-2019).

Mois	Jan	Fev	Mar	Avr	Mai	Jui	Juil	Aout	Sep	Oct	Nov	Dec	Moy. Anuelles
Mila	74	76	72	70	63	54	43	49	64	66	73	76	78
Jijel	76.7	75.4	74.41	76.5	75.3	73.14	70.7	70.82	73.04	73.64	74.81	76.82	86.42
Sétif	76.2	74.3	67.84	65.47	60.24	48.14	36.42	40.17	54.95	62.4	73.4	75.63	73.51

➤ **Pour la wilaya de Mila**

L'humidité est supérieure à 70% sur les 6 mois de l'année à partir du mois de Novembre. Le maximum est enregistré en saison hivernale (76%) alors que le minimum (43%) est observé en été (Tab. 18).

➤ **Pour la wilaya de Jijel**

L'humidité est supérieure à 70% sur les 12 mois de l'année. Le maximum est enregistré en saison hivernale (76.82%) alors que le minimum (70.7%) est observé en été (Tab.18).

➤ **Pour la wilaya de Sétif**

L'humidité est supérieure à 70% sur les 4 mois de l'année. Le maximum est enregistré en saison hivernale (76.2%) alors que le minimum (36.42%) est observé en été.

V.3. Synthèse bioclimatique

➤ **Diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gaussen**

C'est encore à l'heure actuelle un des représentations graphiques les plus utilisées. Ces diagrammes figurent, sur un même graphique, les courbes de pluies et de températures, qui permettent de délimiter la durée de la période sèche où : $P < 2 T$.

P : Précipitations moyennes mensuelles. **T** : Température moyenne mensuelle.

Le climat est sec lorsque la courbe des températures est au-dessus de celle des précipitations et humide dans le cas contraire (Hakemi., 2019 ; Laala., 2009).

• **Pour la wilaya de Mila**

Pour établir ce type de diagramme, on utilise la formule : $P \text{ (mm)} \leq 2T \text{ (}^\circ\text{C)}$. D'après le graphe si dessous (Fig.46), nous arrivons à déterminer la période sèche pour la wilaya de Mila qui s'étale entre avril et octobre avec quelques pluies à la mi-septembre.

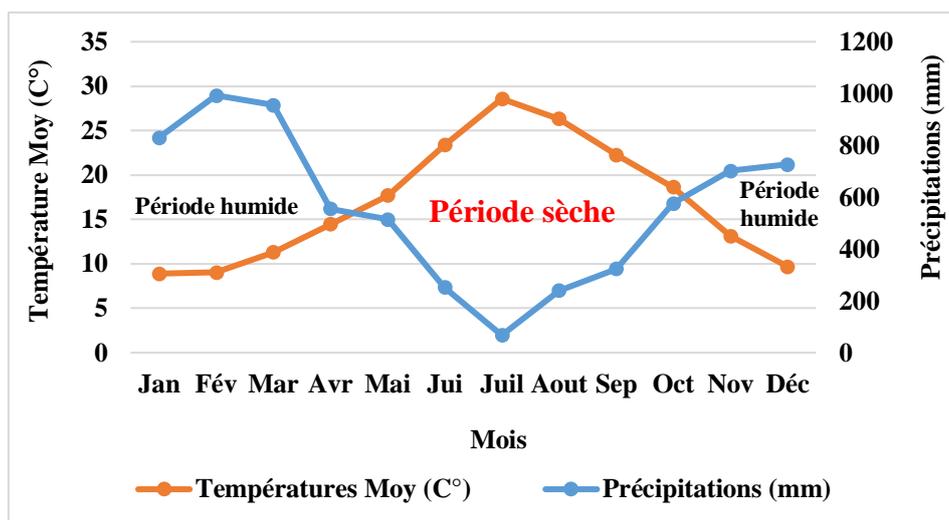


Figure 46. Diagramme ombrothermique de la wilaya de Mila sur 10 ans (2010-2019).

- Pour la wilaya de Jijel

L'indice xérothermique de Bagnouls et Gaussen, montre que la période sèche à Jijel s'étale de mois de juin à début d'octobre avec une forte sécheresse durant les mois de Juillet et Aout (Fig. 47). Les mois situés en dehors de cette période constituent la période humide ($P > 2T$).

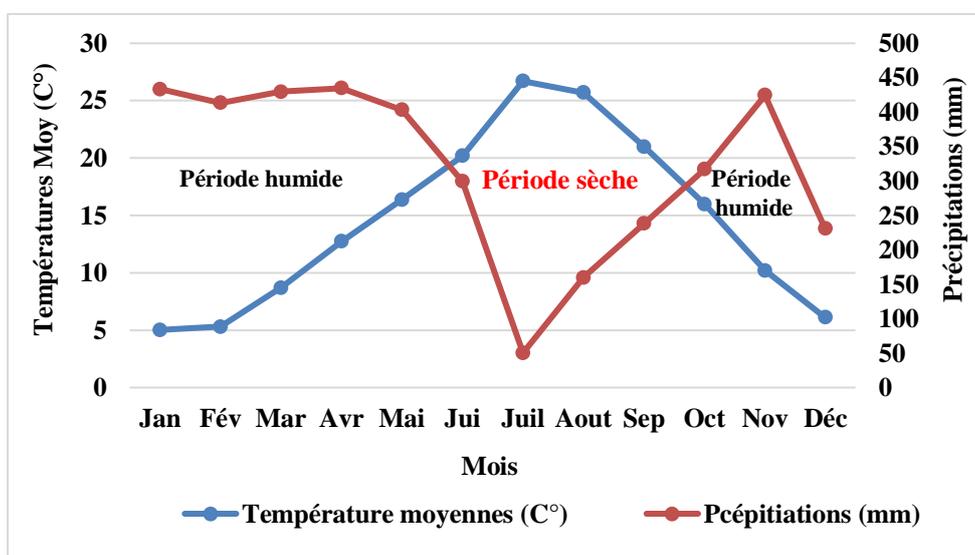


Figure 47. Diagramme ombrothermique de la wilaya de Jijel sur 10 ans (2010-2019).

- Pour la wilaya de Sétif

L'indice xérothermique de Bagnouls et Gaussen, montre que la période sèche à Sétif s'étale de fin de mars à début d'octobre avec une forte sécheresse durant les mois de Juillet et Aout (Fig.48). Les mois situés en dehors de cette période constituent la période humide ($P > 2T$).

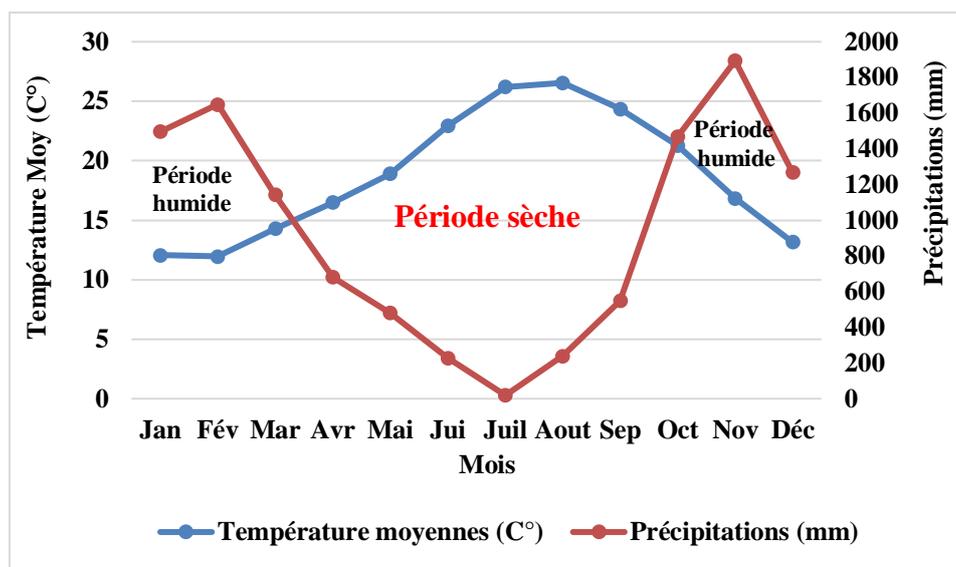


Figure 48. Diagrammes ombrothermiques de la wilaya de Sétif sur 10 ans (2010-2019).

➤ Quotient pluviothermique d'Emberger

Le calcul du quotient pluviothermique « Q_2 » d'Emberger est nécessaire pour déterminer l'étage bioclimatique d'une station. Notons d'abord que ce quotient, mis au point par Emberger en 1955 et amélioré par Daget en 1977, n'est applicable qu'aux climats de type méditerranéen. Le (Q_2) est déterminé par la combinaison des 3 principaux facteurs du climat. Il est donné par la formule suivante :

$$Q_2 = 3.43P/M-m$$

Où :

- ✓ **P** : représente la moyenne des précipitations annuelles en mm,
- ✓ **M** : la moyenne des températures maximales du mois le plus chaud,
- ✓ **m** : la moyenne des températures minimales du mois le plus froid.

Le tableau 31, résume l'ensemble des étages définis pour la région méditerranéenne.

Tableau 19. Etages bioclimatiques selon Emberger (Hakemi., 2019).

Etages bioclimatiques	Q_2	P (mm)
Per-humide	$Q_2 > 150$	$P > 1300$
Humide	$90 > Q_2 > 150$	$900 < P < 1300$
Sub-humide	$50 > Q_2 > 90$	$600 < P < 900$
Semi-aride	$30 > Q_2 > 50$	$300 < P < 600$
Aride	$20 > Q_2 > 30$	$100 < P < 300$
Saharien	$Q_2 < 20$	$P < 100$

- Pour la wilaya de Mila

En nous basant sur les valeurs des précipitations et des températures obtenues, nous avons estimé la valeur du quotient d'Emberger $Q_2 = 73.43$, qui permet de situer la wilaya de Mila dans un étage bioclimatique sub-humide à hiver tempéré selon les données actuelles de 2010 à 2019 (Fig. 49).

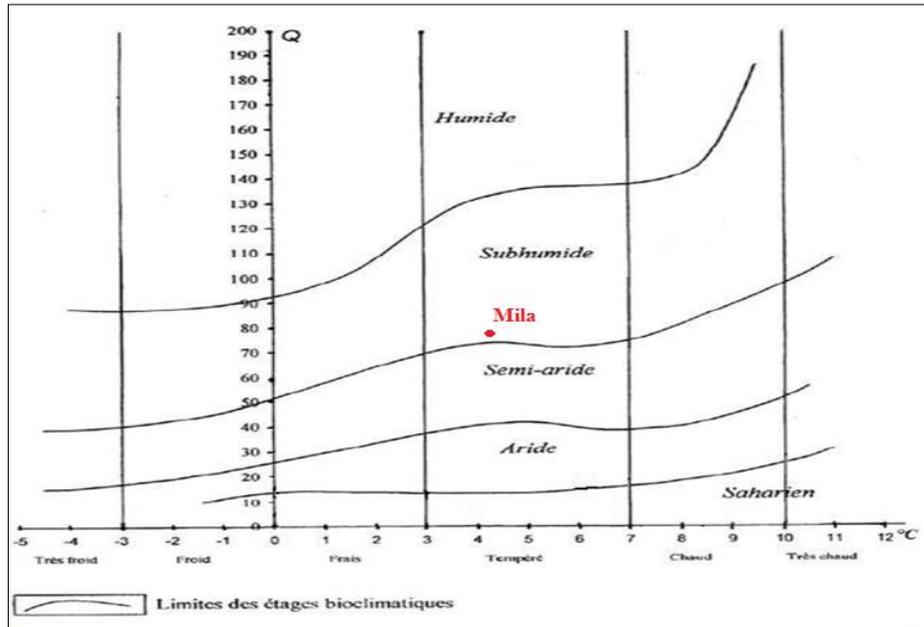


Figure 49. Climagramme pluviothermique d'Emberger pour la wilaya de Mila durant la période 2010-2019.

- Pour la wilaya de Sétif

En nous basant sur les valeurs des précipitations et des températures obtenues par les stations météorologiques, nous avons estimé la valeur du quotient d'Emberger $Q_2 = 38.71$, qui permet de situer la wilaya de Sétif dans un étage bioclimatique semi-aride à hiver frais (Fig.50) selon les données actuelles de 2010 à 2019.

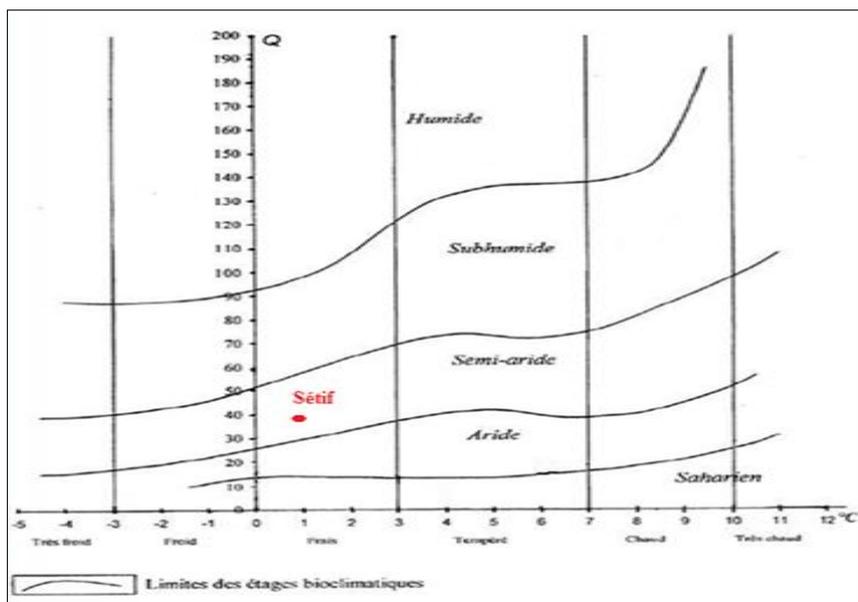


Figure 50. Climagramme pluviothermique d'Emberger pour la wilaya de Sétif durant la période 2010-2019.

- **Pour la wilaya de Jijel**

En nous basant sur les valeurs des précipitations et des températures obtenues par les stations météorologiques, nous avons estimé la valeur du quotient d'Emberger $Q_2 = 125.95$, qui permet de situer la wilaya de Jijel dans un étage bioclimatique humide à hiver tempéré selon les données actuelles de 2010 à 2019 (Fig.51).

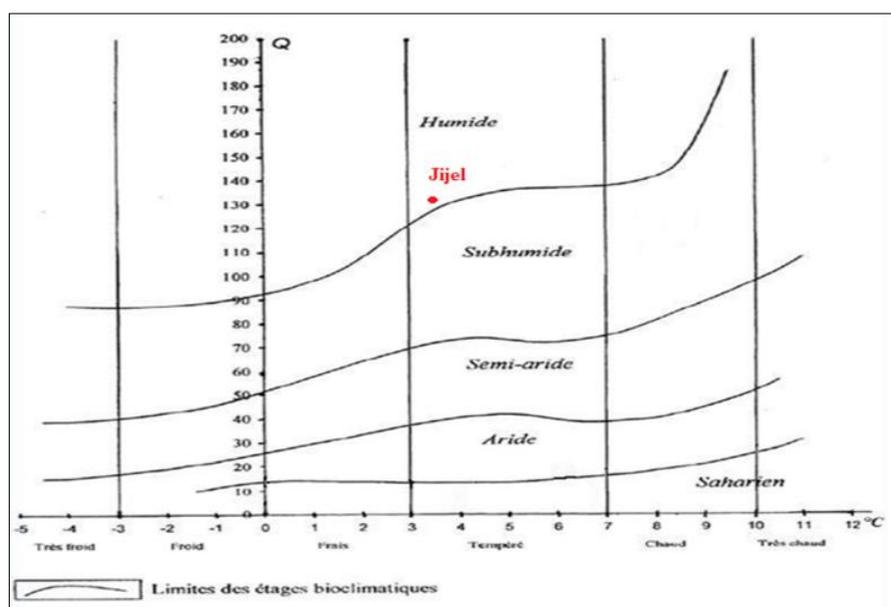


Figure 51. Climagramme pluviothermique d'Emberger pour la wilaya de Jijel durant la période 2010-2019.

Afin de déterminer la teneur en polyphénols totaux de deux plantes, des extraits bruts ont été préparés à partir des feuilles, des tiges et des racines en utilisant deux solvants, le méthanol et l'eau distillée.

V.4. Rendement de l'extraction

Aristolochia longa L.

Le rendement de chaque extrait par rapport au poids du broyat est représenté dans la figure 52 (Annexe 3.1).

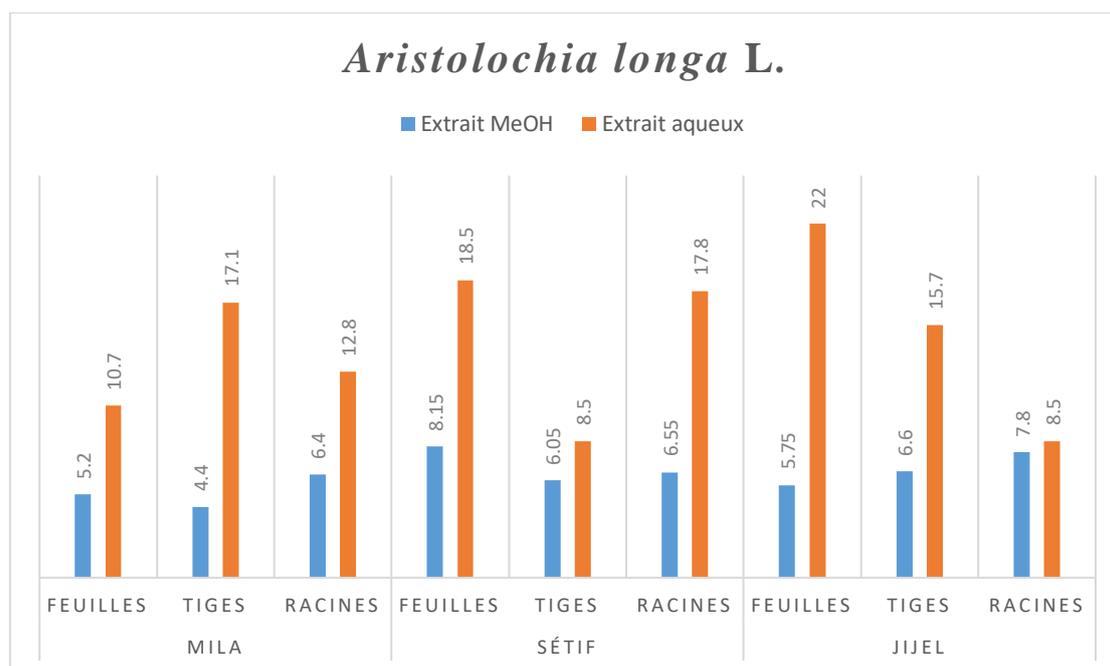


Figure 52. Rendements des extraits bruts (MeOH et aqueux) de trois parties d'*Aristolochia longa* L. de Sétif, Mila et Jijel.

Le rendement d'extraction a été déterminé par rapport au poids du matériel végétal sec sous forme de poudre et les résultats ont été exprimés en pourcentage. Les valeurs de rendements des extraits de différents organes d'*Aristolochia longa* varient de (22%) à (4.4%), comme indiqué dans la figure ci-dessus. Les rendements d'extraction observés dépendent à la fois du lieu de récolte, de la partie de la plante et aussi du solvant d'extraction (Duletic et al., 2019). On constate que quel que soit l'organe utilisé, le rendement d'extraction obtenu avec l'eau chaude est toujours plus élevé.

Le rendement le plus élevé a été observé avec l'extrait aqueux des feuilles de Jijel (EAFJ) (22%), et nous expliquons cela par la température et les précipitations élevées qui ont été enregistrée dans cette wilaya par rapport à Sétif et Mila, qui a eu un effet positif sur

l'efficacité de la photosynthèse et la respiration ce qui se reflète positivement sur la quantité de métabolites secondaires (Attou., 2021). La raison peut être due aussi, à la nature du sol de la wilaya de Jijel, qui est riche en matière organique (M.O = 4.03%). Tous ces conditions vont favoriser la plante à faire la photosynthèse est donc une bonne accumulation des MII. Alors que l'extrait MeOH des tiges de Mila (EMTM) possédant le plus faible rendement (4.4%). Cette différence enregistrée peut être expliquée du fait que le choix de la méthode, la température, le temps d'extraction, le rapport solide/liquide et la nature de solvant affectent le rendement des extraits ainsi que leur composition chimique et par conséquent affecte leurs activités biologiques (khaled –Khodja et al., 2014 ; Mohammedi., 2013).

Par ailleurs, la quantité des extraits est supérieure dans les feuilles (22%) par rapport aux autres organes. On constate aussi la tendance d'extraire plus de composés avec l'eau qu'avec les autres solvants. Cela peut s'expliquer par le simple fait que l'eau est un solvant fortement polaire connu pour extraire une large gamme de molécules (Bonnaillie et al., 2012).

Ce résultat est en accord avec celui de Su et ses collaborateurs (2006) ; qui ont rapporté que le rendement de l'extraction aqueuse augmente avec la température. Cela est expliqué par le fait que l'eau à haute température provoque la perturbation des cellules facilitant la pénétration du solvant et la solubilisation des molécules (Albano et Miguel., 2011). Dans une autre étude menée par Metrouh et al., (2015) ; les résultats ont montré que les solvants polaires affectent fortement le rendement ainsi que l'activité antioxydante des extraits de plantes.

Nos résultats sont en accordent avec ceux trouvés par Merouani et al., (2017), où le rendement de l'extrait aqueux des fruits d'*A. longa* est meilleur par rapport à l'extrait méthanolique et acétonique dont 10.05%, 2.15% et 2.75% respectivement. En revanche, nos résultats sont différents de ceux trouvés par d'autres recherches où l'extrait éthanolique des racines d'*A. longa* est meilleur par rapport aux extraits méthanolique et aqueux dont 50.66%; 46.66% et 35% respectivement (Bouteldja et al., 2021). Toutefois, il est difficile de comparer strictement nos résultats avec ceux de la bibliographie, car le rendement n'est que relatif et dépend de l'espèce végétale étudiée, la partie utilisée dans l'extraction, les conditions de séchage, le contenu de chaque espèce en métabolites secondaires, la nature du solvant utilisé dans l'extraction, sa polarité ainsi que la méthode d'extraction elle-même (Zargoosh et al., 2019).

Capparis spinosa L.

Pour optimiser une technique d'extraction, la réponse conventionnelle est le rendement

d'extraction, qui estime la masse de molécules extraites par rapport au matériel de départ. Les résultats des rendements en extraits bruts de *C. spinosa* L. de trois wilayas sont reportés dans la figure 53 (Annexe 3.2).

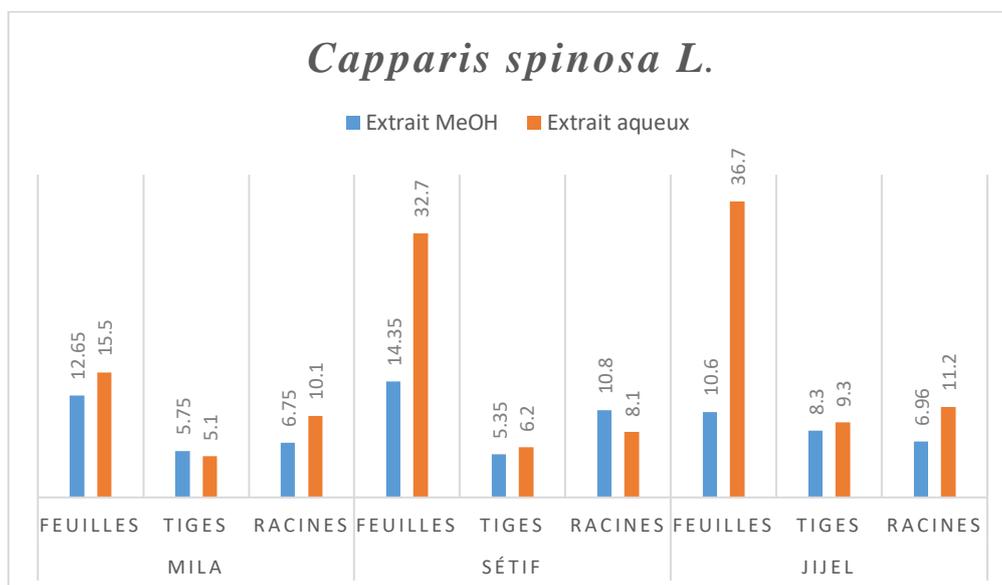


Figure 53. Rendement des extraits bruts (méthanologiques et aqueux) de trois parties de *Capparis spinosa* L. de trois wilayas : Sétif, Mila et Jijel.

On constate que, quel que soit l'organe utilisé, le rendement d'extraction obtenu avec l'eau chaude est toujours plus élevé sauf pour l'extrait MeOH des racines de Sétif les valeurs sont plus élevées (10.8%) et l'extrait MeOH des tiges de Mila (5.75%) où les valeurs se rapprochent.

Les valeurs de rendements des extraits des feuilles, tiges et racines de *Capparis spinosa* L. de trois wilayas varient de 36.7% à 5.35%. Le rendement le plus élevé a été observé avec l'extrait aqueux des feuilles de Jijel (EAFJ) (36.7%). Pour les extraits méthanologique, le rendement le plus élevé a été enregistré au niveau des feuilles et racines de Sétif avec 14.35% et 10.8% respectivement. On peut expliquer ce bon rendement par le fait que l'espèce type *C. spinosa* L. favorise le milieu semi-aride où les conditions climatiques (taux faible des précipitations et d'humidité) et édaphiques (pauvreté de sol en matière organique) sont défavorables, ce qui l'aide à produire une plus grande quantité en métabolites secondaires.

Nos résultats sont en accordent avec ceux trouvés par Fadili et al., (2017), où le rendement montre que la fraction aqueuse représente le rendement le plus élevé (7.65%) suivi de la fraction buthanologique (2.95%) puis la fraction d'acétate d'éthyle (1.05%) et le rendement le plus faible est obtenu avec la fraction chloroformique des racines de *Capparis spinosa*

(0.85%). En revanche, nos résultats sont différents de ceux trouvés par d'autres recherches où l'extrait méthanolique des racines de *Capparis spinosa* est meilleur (21.58%) par rapport aux extraits aqueux, Dichlorométhane (DCM) et l'extrait de l'Ether de Pétrole (EP) dont 21.48%; 00.87% et 00.73% respectivement (Meddour et al., 2013). L'effet des solvants sur le rendement d'extraction a été signalés dans de nombreuses études (Ben El Hadj Ali et al., 2014 ; Clara et al., 2010).

V.5. Analyse qualitative

Cet analyse permettent de générer une première estimation des données préliminaires sur les constituants des extraits en révélant l'absence ou la présence d'un type de métabolites par des essais rapides, se basant sur des réactions physicochimiques colorées, de précipitation ou de turbidité. Elles n'ont évidemment qu'une valeur indicative mais elles permettent d'orienter les recherches ultérieures. Les résultats des tests de l'investigation phytochimique, réalisés sur les différents extraits de trois organes de deux plantes d'études, sont représentés dans le tableau ci-dessous (Tab.20).

Tableau 20. Résultats du criblage phytochimique des extraits des feuilles, tiges et racines d'*A. longa* L. et *C. spinosa* L. de 03 wilayas.

Composants	<i>Aristolochia Longa</i> L.									<i>Capparis spinosa</i> L.								
	Feuilles			Tiges			Racines			Feuilles			Tiges			Racines		
	Sétif	Jijel	Mila	Sétif	Jijel	Mila	Sétif	Jijel	Mila	Sétif	Jijel	Mila	Sétif	Jijel	Mila	Sétif	Jijel	Mila
Polyphénols	+++	+++	+++	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
Flavonoïdes	+++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Tannins	+++	+++	+++	-	-	-	++	+++	++	+++	+++	+++	-	-	-	++	++	++
Terpènes	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-
Stéroïdes	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Alcaloïdes	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	+
Saponosides	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	++	+	-	-	-	-	-	-
Quinones	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Anthraquinones	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Anthocyanes	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glucides	+	+	+	+	+	+	+++	+++	+++	++	++	++	-	-	-	+	+	+
Protéines	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mucilage	-	-	-	-	++	+	-	-	-	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-

(-) : absence de substance ; (+) : faible présence de substance ; (++) : Moyenne présence de substance ; (+++) : Forte présence de substance.

Aristolochia longa L.

Le criblage phytochimique de trois parties d'*A. longa* de trois wilayas a montré la présence de divers métabolites. Les résultats obtenus montrent la richesse des feuilles, tiges et racines d'*A. Longa* L. de trois wilayas en flavonoïdes et glucides. Alors que les polyphénols et les tanins sont présents au niveau des feuilles et racines. Aussi, les alcaloïdes se trouvent uniquement au niveau des feuilles et tiges de cette espèce médicinale. On a remarqué une absence totale des saponosides, des quinones, des anthraquinones et des anthocyanes dans les trois organes.

Les familles chimiques détectées dans cette étude viennent de confirmer les travaux de plusieurs recherches phytochimique réalisées sur l'extrait aqueux des racines d'*Aristolochia longa*, en effet les polyphénols et les flavonoïdes ont été isolés précédemment de cette espèce (Benaraba et al., 2016 ; Derouiche et al., 2018 ; Bouteldja et al., 2021 ; Sana., 2020), aussi des alcaloïdes et des tanins ont été isolés des racines de cette espèce (El Omari et al., 2020 ; Merouani et al., 2020).

D'autre part, des chercheurs ont publié que le criblage phytochimique d'extrait méthanolique d'*A. bracteata* révèle la présence des alcaloïdes, des flavonoïdes, ainsi des tanins et autre composés tel que les hydrates de carbone, les protéines et les stéroïdes (Chawla et al., 2013 ; Thirumal et al., 2012). Selon Moharram et al., (2014), l'extrait méthanolique d'*A. indica* est riche en alcaloïdes, glycosides cardiaques, saponines, tanins et flavonoïdes. Les résultats obtenus par Murugan et Mohan., (2012), sur les feuilles et les tiges d'*Aristolochia indica* des Ghats occidentaux (India), et Derouiche et al., (2021), sur les racines d'*Aristolochia longa* L. d'El oued (Algérie) sont identique à nos résultats.

Capparis spinosa L.

Les essais phytochimiques effectués sur les extraits des feuilles, tiges et racines du *C. spinosa* de trois wilayas ont révélé la présence des polyphénols, des tanins et des glucides au niveau des feuilles et racines. Les flavonoïdes, les alcaloïdes, les mucilages et les saponosides se trouvent seulement au niveau des feuilles. Pour les stéroïdes, les quinones, les anthraquinones et les protéines sont absent au niveau de trois organes de *Capparis spinosa* de trois wilayas.

Un certain nombre de composants ont été identifiés dans *Capparis spinosa* L. par d'autres auteurs, y compris des flavonoïdes (Chedraoui et al., 2017 ; Fadili et al., 2017 ; Meddour et al., 2013), des alcaloïdes (Meddour., 2019 ; Manikandaselvi et al., 2014) des terpénoïdes (Fu et al., 2008) et des tanins (Akkari et al., 2016).

Les résultats des tests de caractérisations phytochimiques des tiges de la même espèce en Irak, ont montrer leur richesse en alcaloïdes, en flavonoïdes, en terpenoïdes, en tanins et en protéines (Muraih et al., 2020).

❖ **Enfin on conclut que :**

- ✓ Les résultats montrent que le rendement des extraits aqueux est supérieur à celui des extraits méthanoliques pour les deux plantes.
- ✓ les deux plantes sont riches en divers métabolites secondaires, ce qui explique l'intérêt et l'attention particulière portés par les chercheurs à travers les études scientifiques pour ces deux plantes.
- ✓ Cinq groupes de composés bioactifs sont présents dans les extraits de feuilles de deux plantes étudiées : les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins, les alcaloïdes et les glucides.
- ✓ L'abondance en principes actifs confère aux deux plantes des propriétés pharmacologiques remarquables, ce qui pourrait justifier les multiples indications thérapeutiques de deux plantes : *A. longa* L. et *C. spinosa* L.

V.6. Analyse quantitative

Afin de caractériser quantitativement les extraits préparés à partir de deux plantes étudiées, un dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes, des flavones et flavonols a été effectué.

V.6.1. Dosage des Composés Polyphénoliques Totaux (TPC)

Le choix de quantifier les polyphénols parmi les différentes 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 composés phénoliques. Selon Obeid et al., (2007), la quantification et l'identification des polyphénols des extraits végétaux sont considérées comme la première étape vers l'évaluation de la capacité antioxydante.

Ce dosage a été effectué par la méthode de Folin Ciocalteu (FC). Leur quantification a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage réalisée par l'acide gallique. La teneur en polyphénols est exprimée en microgramme d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait sec ($\mu\text{g EAG}/\text{mg d'E}$). La courbe d'étalonnage obtenue est une droite dont l'équation est $Y = 0.0086x - 0.0249$ avec un coefficient de corrélation R^2 de 0.9923 (Fig.54).

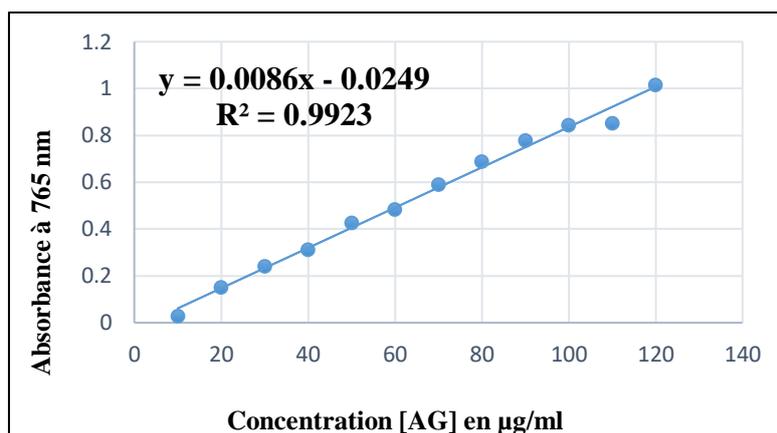


Figure 54. Droite d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

Aristolochia longa L.

Les résultats du dosage des polyphénols totaux, ont révélé la présence de ces composés dans les deux extraits bruts (méthanoliques et aqueux) de différents organes d'*Aristolochia longa* L. avec des quantités différentes selon le lieu de récolte, la nature du solvant d'extraction et la partie de la plante étudiée.

➤ Extraits méthanoliques

Les résultats ont montré que les extraits des feuilles et tiges de trois wilayas ont des teneurs élevées en polyphénols totaux par rapport aux extraits des racines (Fig.55). La teneur en composés phénoliques (TCP) la plus élevée a été trouvée dans les feuilles de Mila (sub-humide) ($176.56 \pm 1.64 \mu\text{g EAG /mg d'E}$), suivi par les feuilles de Jijel (humide) ($169.27 \pm 1.67 \mu\text{g EAG /mg d'E}$), puis les feuilles de Sétif (semi-aride) avec une teneur de $155.79 \pm 0.08 \mu\text{g EAG /mg d'extrait}$ (Annexe 3.3).

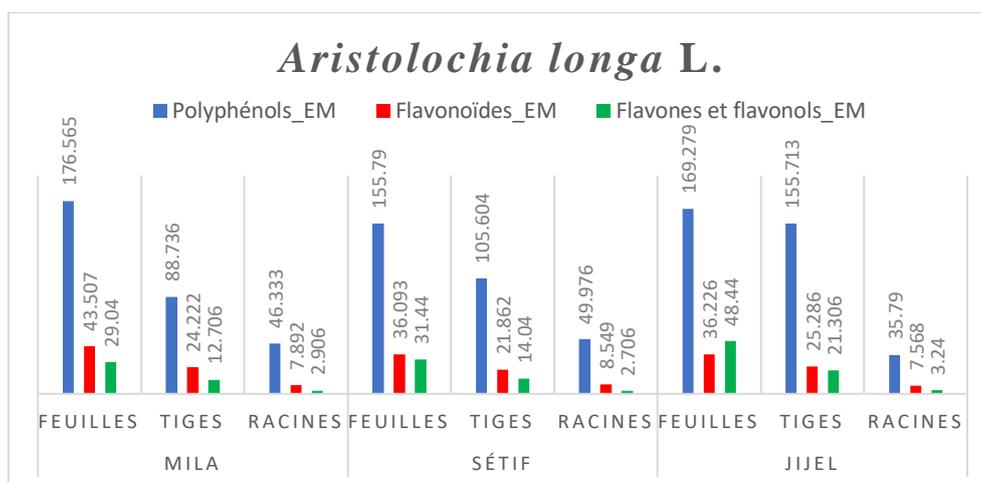


Figure 55. Teneur en Polyphénols, Flavonoïdes, Flavones et Flavonols des extraits méthanoliques d'*A. longa* L. de trois Wilayas (Mila, Jijel et Sétif).

D'après la figure 55, on constate que la partie aérienne d'*A. longa* L. est riche en composés phénolique. Ces variations de teneurs peuvent être dues à plusieurs facteurs cités dans la bibliographie notamment l'interaction avec l'environnement (type de climat, nature de sol), la température et les précipitations affectent également tout le contenu total en phénols et en flavonoïdes (Djebaili., 2013).

Ces résultats sont en forte corrélation avec plusieurs travaux qu'ont démontrés la richesse des extraits d'*A. longa* en composés phénoliques, c'est le cas des travaux publiés par Benaraba et al., (2014 ; 2016), dévoilent que l'extrait aqueux des racines d'*A. longa* contient des polyphénols. En au-delà, autre travaux présentent que la partie aérienne d'extrait aqueux riche en polyphénols en comparaison avec l'extrait méthanolique (Merouani et al., 2017). Autres études comparatives entre l'extrait aqueux, méthanolique et d'acétate éthyle des racines d'*A. longa* et les résultats ont confirmés la richesse des extraits méthanolique et d'acétate d'éthyle par rapport à l'extrait aqueux (El Omari et al., 2019). En effet, des recherches démontrent que l'extrait éthanolique d'*A. albida* est riche en composés phénoliques que l'aqueux (Guinnin et al., 2016).

Les résultats des analyses quantitatives des extraits bruts des feuilles et racines de la même espèce de Tissemsilet, indiquent que les feuilles possèdent des teneurs élevées en polyphénols et en flavonoïdes totaux (8.580 ± 0.04 mg EAG/g MS et 8.011 ± 0.06 mg EQ/g MS) respectivement. Alors que la composition des racines d'*A. longa* en polyphénols et flavonoïdes est faible (8.183 ± 0.51 mg EAG/g MS et 5.423 ± 0.47 mg EQ/g MS) (Attou., 2021). Une autre étude sur les racines d'*Aristolochia bracteata*, a montré que la teneur totale en composés phénoliques dans l'extrait méthanolique et acétonique s'est révélée 59.22 ± 0.65 et 39.67 ± 0.92 respectivement. Tandis que la teneur totale en flavonoïdes était de 36.0 ± 0.17 et 130.93 ± 2.58 µg EAG /mg d'E dans l'extrait méthanolique et l'extrait acétone, respectivement (Chawla et al., 2013).

➤ Extraits aqueux

Les résultats de dosages obtenus des extraits aqueux d'*Aristolochia longa* L. sont mentionnés dans la figure 56.

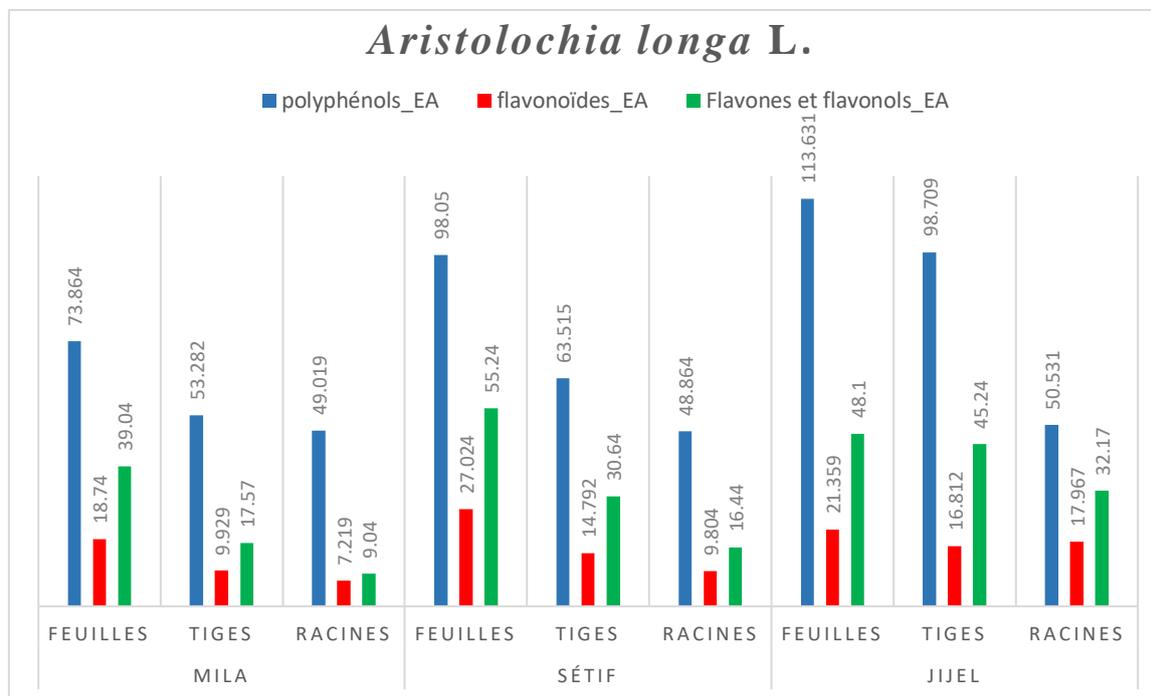


Figure 56. Teneur en Polyphénols, Flavonoides, Flavones et Flavonols des extraits aqueux d'*A. longa* L. de trois Wilayas (Mila, Jijel et Sétif).

Le contenu en composés phénoliques des extraits aqueux d'*A. longa* L. provenant de trois wilayas différentes variait largement entre $113.63 \pm 0.56 \mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait et $48.86 \pm 1.75 \mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait (Fig. 56). Les teneurs les plus élevées ont été observées dans l'extrait des feuilles de Jijel (humide) (EAFJ) avec une teneur de $113.63 \pm 0.56 \mu\text{g GAE/mg}$ d'E, suivi par l'EAF de Sétif avec une teneur de $98.05 \pm 1.43 \mu\text{g GAE/mg}$ d'E, puis l'EAF de Mila (sub-humide) avec une teneur de $73.86 \pm 0.12 \mu\text{g GAE/mg}$ d'E. On second lieu on trouve les extraits des tiges ($98.70 \pm 0.34 \mu\text{g GAE/mg}$ d'extrait; $63.51 \pm 2.04 \mu\text{g GAE/mg}$ d'extrait et $53.28 \pm 0.14 \mu\text{g GAE/mg}$ d'extrait de Jijel, Sétif et Mila respectivement. Tandis que l'extrait des racines a donné les teneurs les plus faibles ($50.53 \pm 1.03 \mu\text{g EAG/mg}$, $49.02 \pm 0.23 \mu\text{g EAG/mg}$ et $48.86 \pm 1.75 \mu\text{g EAG/mg}$ d'E) pour Jijel, Mila et Sétif respectivement (Annexe 3.4). Selon les résultats de dosage des composés phénoliques, on observe que le milieu humide est le plus favorable pour la production des MII chez *A. longa* L., où les facteurs climatiques (précipitations et humidité) sont favorables et le sol est riche en matière organique. Chez les plantes, les composés phénoliques présentent une variabilité interspécifique, intra spécifique et même entre les organes d'une même espèce (Coulibaly et al., 2014 ; Khiralla et al., 2015). Les

teneurs phénoliques totales dans les extraits de plantes dépendent de la haute solubilité des phénols dans les solvants polaires ce qui fournit une concentration élevée de ces composés dans les extraits obtenus en utilisant ces solvants (Sepahpour et al., 2018).

V.6.2. Dosage des flavonoïdes totaux

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par la méthode d' AlCl_3 . Elle a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage réalisée par un flavonoïde standard (quercétine). La teneur en flavonoïdes est exprimée en microgramme d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EQ}/\text{mg d'E}$). La courbe d'étalonnage obtenue est une droite dont l'équation est $Y = 0.0401x - 0.0325$ avec un coefficient de corrélation R^2 de 0.9945 (Fig.57).

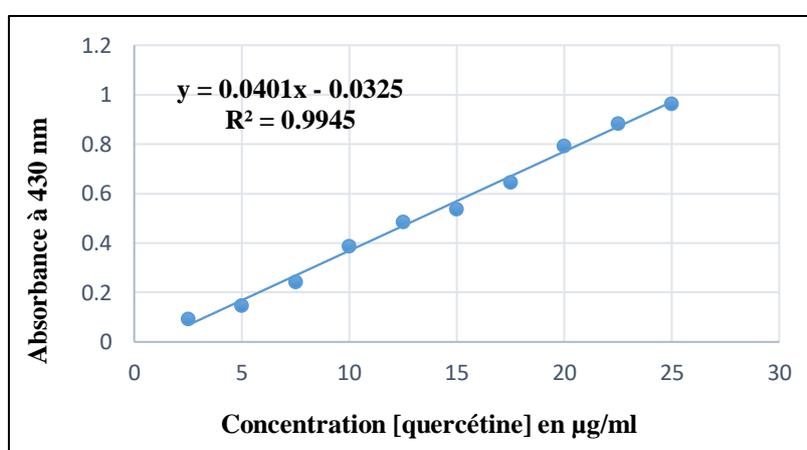


Figure 57. Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes.

➤ Extraits MeOH

La teneur élevée en flavonoïdes a été révélée dans les extraits des feuilles pour les trois wilayas Mila, Jijel et Sétif ; suivi par les extraits des tiges, puis les extraits des racines. En comparant les résultats entre les wilayas on trouve que la teneur la plus élevée en flavonoïdes a été enregistré au niveau des feuilles de Mila (sub-humide) avec $43.51 \pm 1.13 \mu\text{g EAG}/\text{mg d'extrait}$, suivi par les extraits des feuilles de Jijel (humide) avec $36.23 \pm 0.02 \mu\text{g EAG}/\text{mg d'E}$ puis de Sétif (semi-aride) avec une teneur de $36.09 \pm 0.038 \mu\text{g EAG}/\text{mg d'E}$.

Des études antérieures, qui se sont intéressées à d'autres espèces d'*Aristolochia* telles que *A. bracteolata* et *A. indica*, ont révélé que l'extrait méthanolique de chaque plante contient une quantité élevée de phénols et de flavonoïdes (Badami et al., 2005 ; Sivaraj et al., 2018). Les composés phénoliques sont un groupe important et complexe de constituants chimiques présents dans les plantes. Ce sont des composés de défense classiques qui protègent les plantes contre les herbivores, les pathogènes et des parasites (Walton et al., 2003).

➤ Extraits Aqueux

Nos résultats montrent que l'extrait des feuilles renferme la teneur la plus élevée en flavonoïdes par rapport aux tiges et racines (EAFS $27.02 \pm 0.34 \mu\text{g EQ/ mg}$ d'extrait, puis EAFJ $21.35 \pm 1.09 \mu\text{g EQ/ mg}$ d'extrait et enfin l'EAFM avec $18.74 \pm 2.43 \mu\text{g EQ/ mg}$ d'extrait). Les teneurs en flavonoïdes au niveau des autres organes (tiges et racines) étaient de $16.81 \pm 1.56 \mu\text{g EQ/ mg}$ d'extrait (EATJ), $14.79 \pm 0.46 \mu\text{g EQ/ mg}$ d'extrait (EATS); $9.80 \pm 0.67 \mu\text{g EQ/ mg}$ d'extrait (EATM); $17.96 \pm 1.67 \mu\text{g EQ/ mg}$ d'extrait (EATJ); $9.92 \pm 1.56 \mu\text{g EQ/ mg}$ d'extrait (EATS) et $7.21 \pm 1.59 \mu\text{g EQ/ mg}$ d'extrait (EATM). El Omari et al., (2019), ont trouvé que l'extrait aqueux des racines d'*A. longa* L. (Maroc) a été riche en flavonoïdes ($03.80 \pm 0.32 \mu\text{g ER/ mg}$ d'extrait), valeur faible par rapport à nos résultats.

V.6.3. Dosage des flavones et flavonols

La quantification des flavones et flavonols a été estimée par la quercétine selon la méthode de Kosalec et al., (2004). La courbe d'étalonnage a été tracée en utilisant comme standard l'acide gallique ($0-200 \mu\text{g/ mL}$). Tous les essais ont été réalisés en triplet et la concentration en flavones et flavonols a été déterminée à partir de la droite d'étalonnage ($Y=0.005x + 0.0158$, $R^2 = 0.9929$) et exprimée en $\mu\text{g EQ/ mg}$ d'E (Fig. 58).

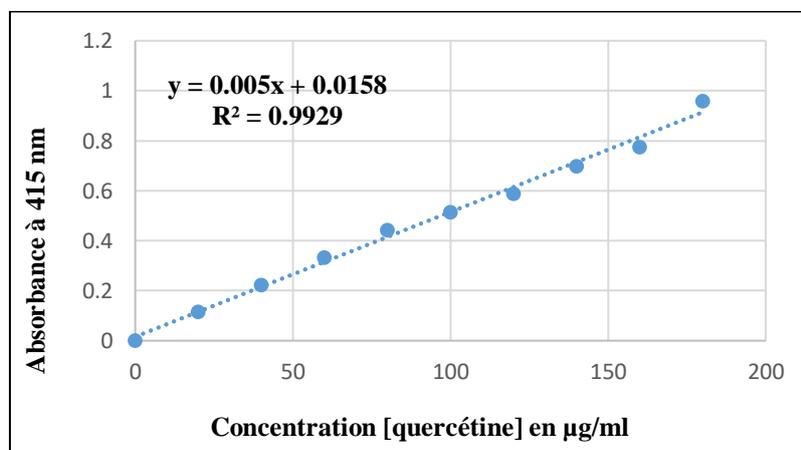


Figure 58. Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavones et flavonols.

➤ Extraits méthanoliques

Les résultats montrent que l'extrait des feuilles de Jijel renferme la teneur la plus élevée en flavones et flavonols (avec $48.44 \pm 0.03 \mu\text{g EQ/ mg}$ d'extrait végétal suivi par l'EAFS avec $31.44 \pm 2.54 \mu\text{g EQ/ mg}$ d'extrait et enfin L'EAFM avec $29.04 \pm 0.34 \mu\text{g EQ/ mg}$ d'extrait). Les teneurs en flavones et flavonols des autres organes de *C. spinosa* L. (tiges et racines) étaient de $21.30 \pm 0.64 \mu\text{g EQ/ mg}$ d'extrait (EATJ), $14.04 \pm 1.67 \mu\text{g EQ/ mg}$ d'extrait (EATS) et 12.71 ± 0.12

$\mu\text{g EQ/ mg}$; est de $9.77\pm 0.12\mu\text{g EQ/ mg}$ d'extrait pour les tiges de Mila. Au niveau des racines on a enregistré les valeurs les plus faibles avec $2.91\pm 1.85\mu\text{g EQ/mg}$ d'E pour l'EARM, $2.71\pm 1.85\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait pour l'EARS et $3.24\pm 0.65\mu\text{g EQ/mg}$ d'E pour l'EARJ. Peu de travaux concernant les teneurs en flavones et flavonols d'*A. longa* ont été réalisés.

➤ Extraits Aqueux

Les résultats ont montré que les trois extraits des feuilles et tiges d'*Aristolochia longa* de trois wilayas ont des teneurs élevées en flavones et flavonols par rapport aux extraits des racines. La valeur la plus importante a été enregistrée au niveau des feuilles de Sétif avec $55.24\pm 2.87\mu\text{g EQ/mg}$ d'E, en second lieu on trouve les feuilles de Jijel avec une teneur de $48.10\pm 3.43\mu\text{g EQ/mg}$ d'E) puis l'EMFM avec $39.04\pm 0.01\mu\text{g EQ/mg}$ d'E. On remarque que la teneur en flavones et flavonols pour l'extrait aqueux est plus élevée par rapport aux extraits MeOH.

✚ *Capparis spinosa* L.

Les résultats des teneurs totales en polyphénols, flavonoïdes, flavones et flavonols des extraits bruts (MeOH et aqueux) obtenus de l'espèce *C. spinosa* sont représentés dans la figure 59.

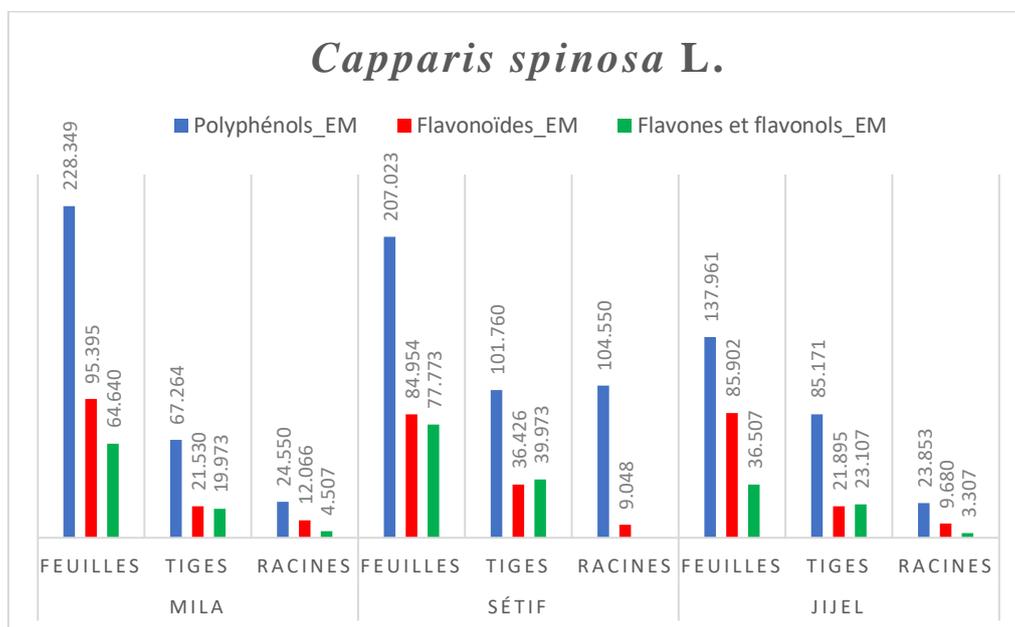


Figure 59. Teneur en Polyphénols, Flavonoïdes, Flavones et Flavonols des extraits méthanoliques de *C. spinosa* L. de trois Wilayas (Mila, Jijel et Sétif).

➤ Extraits MeOH

Il ressort à travers l'observation des rendements d'extraction (Fig.51) que le taux élevé en polyphénols a été révélé dans les extraits des feuilles pour les trois régions Mila, Jijel et Sétif suivi par les extraits des tiges et puis les extraits des racines. En comparant les résultats entre les wilayas on trouve que la teneur la plus élevée en polyphénols et en flavones et flavonols a été enregistré au niveau des feuilles de Sétif avec $228.34 \pm 3.44 \mu\text{g EAG/mg d'E}$ et $77.77 \pm 2.75 \mu\text{g EQ/mg d'E}$ respectivement, suivi par les extraits des feuilles de Mila avec $207.02 \pm 3.01 \mu\text{g EAG/mg d'E}$ et $64.64 \pm 0.62 \mu\text{g EQ/mg d'E}$; puis de Jijel avec une teneur de $137.96 \pm 1.54 \mu\text{g EAG/mg d'E}$ et $36.50 \pm 0.06 \mu\text{g EQ/mg d'E}$ respectivement (Annexe 3.5).

D'après les résultats de Meddour et al., (2013); le contenu en polyphénols des extraits méthanolique des fruits ($E_r\text{MeOH}$) et d'écorces des racines ($E_r\text{MeOH}$) du *C. spinosa* sont de 11.743 ± 0.002 et $16.985 \pm 0.078 \mu\text{g EAG/mg d'extrait}$ respectivement. Valeur faible 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.

Aussi, Bonina et al. (2002), ont trouvé que l'extrait méthanolique lyophilisé des bourgeons floraux du *C. spinosa* a été riche en polyphénols ($65.13 \pm 5.53 \text{ mg ER/g d'extrait}$), valeur faible par rapport à nos résultats, cette différence trouve son explication dans la différence des parties de la plante étudiée ainsi que la méthode d'extraction qui joue un rôle important dans la valorisation phytochimique (Tagnaout et al., 2016).

Arrar et al., (2013) et Rajhi et al., (2019), ont trouvé que les polyphénols et les flavonoïdes sont plus abondants dans les feuilles, les fleurs et les fruits et enfin les racines. Mais les deux études confirment la richesse de *C. spinosa* en ces molécules actives.

➤ Extraits aqueux

Les résultats des teneurs totales en polyphénols, flavonoïdes, flavones et flavonols des extraits bruts (MeOH et aqueux) obtenus de l'espèce *C. spinosa* L. sont représentés dans la figure 60.

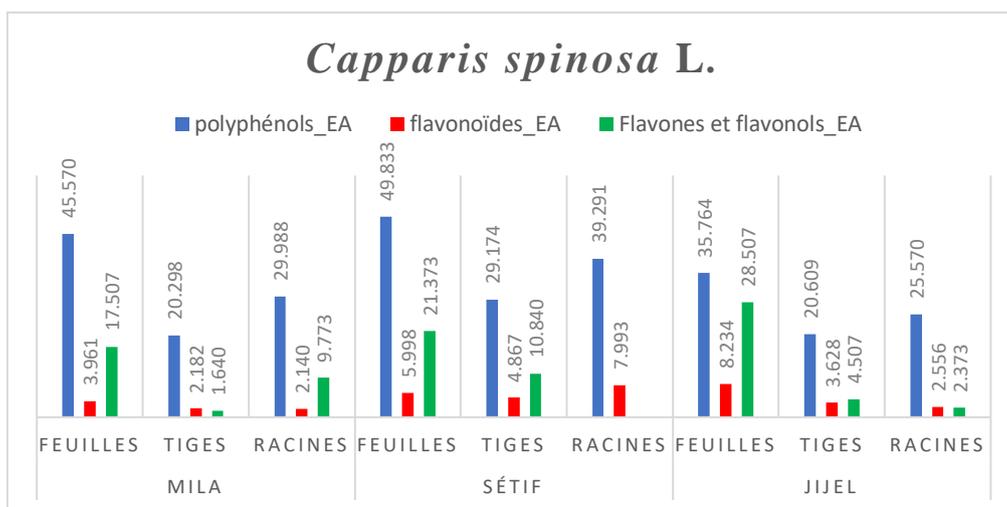


Figure 60. Teneur en Polyphénols, Flavonoïdes, Flavones et Flavonols des extraits aqueux de *C. spinosa* L. de trois Wilayas (Mila, Jijel et Sétif).

Les résultats montrent que l'extrait aqueux des feuilles est le plus riche en polyphénols suivi par les extraits des racines puis des tiges. En comparant les résultats entre les wilayas on trouve que la plus grande teneur a été enregistrée au niveau des feuilles de Sétif avec $49.83 \pm 0.44 \mu\text{g EAG/mg d'E}$, suivi par les extraits des feuilles de Mila avec $45.57 \pm 0.16 \mu\text{g EAG/mg d'E}$ puis de Jijel avec une teneur de $35.76 \pm 0.29 \mu\text{g EAG/mg d'E}$ (Annexe 3.6). Selon les résultats obtenus, on observe que le milieu semi-aride et le sol le plus pauvre en matière organique sont les plus favorables pour la production des MII, ceci est cohérent avec ce que de nombreuses études antérieures ont déclaré.

Akkari et al. (2016) ont prouvé que la teneur totale en polyphénols des extraits aqueux du *C. spinosa* a été plus élevée au stade de la floraison qu'au stade végétatif, allant de 67.29 en boutons floraux à 33.55 mg EAG/g de poudre sèche, dans les feuilles fraîches. Une tendance similaire a été observée pour les teneurs en flavonoïdes, des quantités plus élevées ont été trouvées dans les fleurs (27.54 mg EQ/g de poudre sèche) par rapport aux feuilles fraîches (13.97 mg EQ/g de poudre sèche).

Dosage des flavonoïdes totaux

➤ Extraits MeOH

Les résultats du dosage montrent que les extraits des feuilles sont les plus riches en flavonoïdes que les extraits des tiges et des racines. Sachant que la valeur la plus élevée a été enregistrée au niveau des feuilles de Sétif avec $95.39 \pm 2.50 \mu\text{g EQ/mg d'E}$ suivi par celle de la

wilaya de Jijel avec $85.90 \pm 1.69 \mu\text{g EQ/mg d'E}$ et puis de la wilaya de Mila avec $84.95 \pm 1.76 \mu\text{g EQ/mg d'E}$.

Baghiani et al., (2012) ont montré que La teneur en flavonoïdes dans les extraits chloroformique des racines et de la partie aérienne de *C. spinosa* ont été 32.16 ± 0.71 et $31.37 \pm 4.27 \mu\text{g EQ/100 mg d'extrait}$ respectivement. Aussi, Cao et al., (2010), ont montré que le contenu en flavonoïdes de l'extrait éthanolique des fruits du *C. spinosa* a été de $5.439 \pm 0.736 \text{ mg ER/g d'extrait}$ valeur proche à celle de l'extrait méthanolique des feuilles qui est de $8.320 \pm 0.001 \mu\text{g EQ/mg d'extrait}$.

Khojasteh Rad et al., (2020), ont trouvé que l'extrait hydro-méthanolique des feuilles du *C. spinosa* d'Iran a été riche en flavonoïdes ($128.88 \text{ mg ER/g d'extrait}$), valeur élevée par rapport à nos résultats.

➤ Extraits Aqueux

D'après les résultats montrés dans la figure 60, on trouve que les extraits aqueux de trois wilayas ont des valeurs faibles en flavonoïdes (teneurs en TFC entre 8.23 ± 6.23 pour l'EAFJ et 2.14 ± 1.98 pour l'EARM).

Dosage des flavones et flavonols

➤ Extraits MeOH

Les résultats ont montré que les trois extraits des feuilles de *C. spinosa* de trois wilayas ont des teneurs élevées en flavones et flavonols par rapport aux extraits des tiges et des racines, avec une teneur plus élevée pour l'extrait MeOH des feuilles de la wilaya de Sétif (EMFS avec $77.77 \pm 2.75 \mu\text{g EAG/mg d'extrait}$), puis l'EMFM avec une teneur de $64.64 \pm 0.62 \mu\text{g EAG/mg d'extrait}$ puis l'EMFJ ($36.50 \pm 0.06 \mu\text{g EAG/mg d'E}$). Alors que les concentrations les plus faibles en flavones et flavonols ont été déterminées dans les extraits des racines.

L'étude menée par Khojasteh Rad et ses collaborateurs (2020), sur les extraits hydro-méthanolique de la même espèce a montré des niveaux plus faibles en flavones et flavonols ($4.31 \text{ mg ER/g d'extrait}$) par rapport aux résultats obtenus dans la présente étude.

➤ Extraits Aqueux

Nos résultats montrent que l'extrait aqueux des feuilles de Jijel renferme la teneur la plus élevée en flavones et flavonols (EAFJ avec $28.50 \pm 1.35 \mu\text{g EQ/ mg d'E}$, puis EAFS avec $21.37 \pm 2.46 \mu\text{g EQ/ mg d'extrait végétal}$ et enfin EAFM avec $17.50 \pm 1.15 \mu\text{g EQ/ mg d'extrait}$). Les concentrations des autres organes de *C. spinosa* L. (tiges et racines) étaient de 10.84 ± 2.78

$\mu\text{g EQ/ mg d'E (EATS)}$, $4.50\pm 1.76\mu\text{g EQ/ mg d'extrait (EATJ)}$ pour les tiges ; est de $9.77\pm 0.28\mu\text{g EQ/ mg d'extrait}$ et $2.37\pm 0.99\mu\text{g EQ/mg d'extrait}$ pour les racines de Mila et Jijel respectivement. Toutefois, il est important de signaler que l'utilisation de différentes méthodes de dosage et de différents standards chimiques, les conditions environnementales et expérimentales réduisent la fiabilité d'une comparaison entre les études.

- ❖ Les résultats du dosage montrent que les extraits méthanoliques sont plus riches en polyphénols et en flavonoïdes que les extraits aqueux. Ceci pourrait être dû au fait que le méthanol solubilise la majorité des constituants de la plante alors que l'eau, extrait les substances très polaires. on peut dire que la sélectivité du solvant utilisé influence la teneur en polyphénols, en flavonoïdes et en flavones et flavonols. On peut considérer le MeOH comme efficace pour extraire les polyphénols et les flavonoïdes à partir des organes des plantes.
- ❖ Le dosage des polyphénols, flavonoïdes, flavones et flavonols de trois parties d'*A. longa* L. et *C. spinosa* L. a montré que : les feuilles sont plus riches tandis que pour les tiges et les racines sont les plus pauvres.
- ❖ Pour *A. longa* L. les résultats de dosage montrent que les teneurs les plus élevées ont été observé au niveau des espèces qui sont prisent de Mila et Jijel, est par conséquent on peut dire qu'*A. longa* L. préfère le milieu humide à sub-humide. Cependant, Pour *C. spinosa* L. c'est l'inverse, pour que les résultats de dosage, ils ont toujours été plus élevé dans *C. spinosa* L. de Sétif par rapport aux résultats obtenus dans Mila et Jijel. On peut donc dire que cette plante préfère le climat sec avec des conditions naturelles difficiles. Il a été prouvé que la teneurs en métabolites secondaires est élevée lorsque le milieu de vie de la plante n'est pas adéquat, dans ce cas la plante favorise la synthèse des métabolites secondaires afin de s'adapter et de survivre (Ali-Rachedi et al., 2018).
- ❖ Le contenu polyphénolique varie qualitativement et quantitativement d'une plante à une autre. Cela peut être attribué à plusieurs facteurs dont nous citons les facteurs climatiques et environnementaux : la zone géographique, sécheresse, sol...etc. La méthode d'extraction et la méthode de quantification peuvent également influencer l'estimation de la teneur des phénols totaux.

V.7. Résultats des activités biologiques

V.7.1. Activités antioxydantes

Cinq méthodes ont été utilisées pour évaluer l'activité antioxydante des extraits méthanoliques (EMeOH), et aqueux (EAq) des feuilles, tiges et racines de deux plantes médicinales *Aristolochia longa* L. et *Capparis spinosa* L. provient de trois wilayas : Mila, Sétif et Jijel. On note que les valeurs des Concentrations Inhibitrice (IC50) ou des Absorbances (A0.5) exprimées en $\mu\text{g/mL}$ ont été déterminées graphiquement à partir de la droite de régression de pourcentage d'inhibition ou d'absorbance en fonction de la concentration pour chaque extrait ou standard testé.

Aristolochia longa L.

➤ Effet scavenger du radical DPPH

Dans cette étude les résultats de l'activité antiradicalaire au DPPH sont représentés par les pourcentages d'inhibition pour chaque concentration ainsi que les valeurs de la concentration d'inhibition de 50% (CI50), en se basant sur la capacité d'une substance à réduire le radical DPPH, par rapport aux antioxydants standards (BHA et BHT) (Fig. 61) (Annexe 4.1).

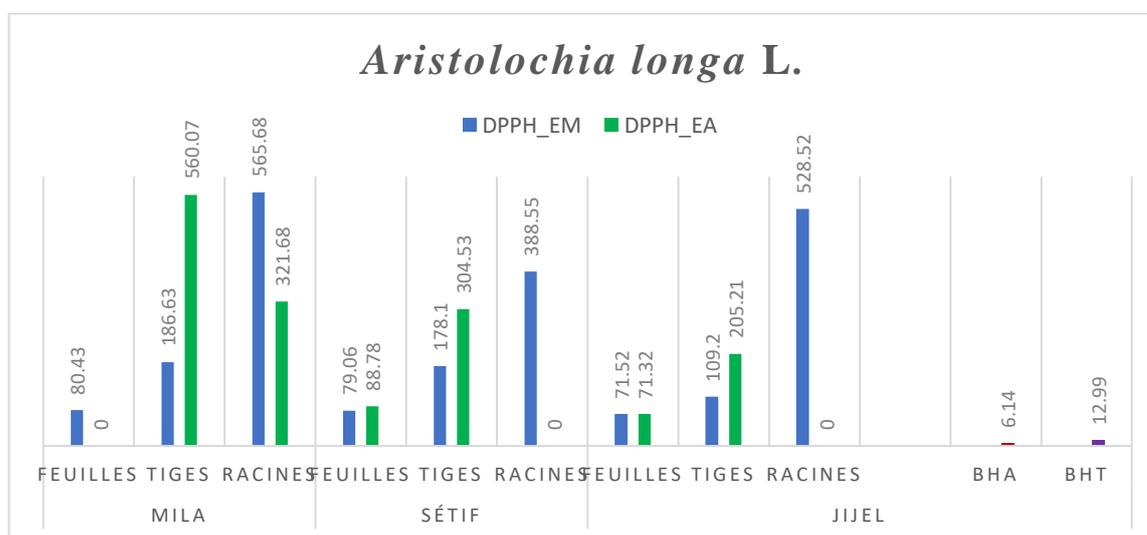


Figure 61. Test de DPPH des extraits méthanoliques et aqueux de trois parties d'*Aristolochia longa* L. récoltée de trois wilayas et de deux standards (BHA et BHT).

D'après la figure 61, on constate que tous les extraits d'*Aristolochia longa* L. ont montré une activité anti-radicalaire faible par rapport aux valeurs des standards BHA et BHT. Les extraits aqueux et MeOH des feuilles de la wilaya de Jijel ont présenté une meilleure activité antiradicalaire avec une $CI_{50}=71.32\pm 9.60$ et $CI_{50}=71.52\pm 0.61\mu\text{g/mL}$ respectivement, notant

qu'on a enregistré des teneurs élevées en polyphénols et en flavones et flavonols dans cet extrait, c'est ce qui a pu lui donner cet efficacité par rapport à d'autres extraits. Suivies par les extraits méthanoliques des feuilles de Sétif et de Mila avec une $IC_{50}=79.06\pm 0.61$ et $IC_{50}=80.43\pm 0.22\mu\text{g/mL}$ respectivement. Par contre, l'extrait aqueux de feuilles de Mila et de racines de Jijel n'ont montrés aucune activité antiradicalaire.

La différence dans le comportement des extraits dans les essais de piégeage des radicaux libres peut être expliquée par les différents mécanismes chimiques impliqués dans le test et les propriétés chimiques différentes des radicaux, dont le potentiel de réduction d'électrons par rapport aux composés dans les extraits sont différents (Amorati et Valgimigli, 2018).

D'après Wintola et Afolayan., (2015), l'activité anti-radicalaire des extraits de plantes peut être due à la présence des composés antioxydants donneurs d'électrons ou de proton.

Les résultats ont montré que tous les extraits ont présenté une activité de balayage efficace contre le radical DPPH avec une forte corrélation négative entre cette activité et la teneur en polyphénols de ces extraits ($R^2= -0.92$ (TPC) et $R^2= -0.91$ (TFC)) (Annexe 08), cette relation inverse fait que les valeurs des IC_{50} diminuent avec l'augmentation du contenu phénoliques. Pour cette raison, l'activité antioxydante des extraits peut être expliquée par la présence de composés phénoliques totaux et des composés flavonoïdiques dans nos extraits (Reddy et al., 2010 ; Silva et al., 2007).

L'étude de l'activité anti-radicalaire des extraits des parties aériennes d'*Aristolochia longa* L. montre que l'activité la plus forte a été obtenu dans l'extrait MeOH avec ($CI_{50}=55.04 \pm 1.29\mu\text{g/mL}$), Cette valeur est proche à celle que nous avons obtenue pour l'extrait méthanolique des feuilles de Jijel ($IC_{50}= 71.52\pm 0.61\mu\text{g/mL}$) (Merouani et al., (2017)).

D'autre part, la fraction méthanolique des racines d'*Aristolochia longa* L. donne une IC_{50} de 0.199 mg/mL, la fraction et l'extrait aqueux (0.125 et 0.354 mg/mL) respectivement (El Omari et al., 2019). Même l'extrait éthanolique à 80% d'*A. pierrei* est capable de piéger les radicaux libres à une concentration de 0.453 mg/mL (Tuekaew et al., 2014). Les travaux effectués par Bouteldja et al., (2020), sur les extraits méthanoliques, aqueux et éthanolique des racines de cette espèce prouvent aussi leur capacité inhibitrice avec une $IC_{50}=0.44 \pm 0.005\text{mg/mL}$ contre 0.86 ± 0.005 et $0.99\pm 0.05\text{mg/mL}$ pour l'extrait éthanolique et aqueux respectivement. Des articles publiés précédemment, ont démontré que l'extrait méthanolique de racine d'*Aristolochia longa* L. avait une plus faible capacité à agir comme antioxydant

IC₅₀=514.58 µg/mL (Merouani et al., 2017), ceci est en accord avec notre étude vu que la valeur d'IC₅₀ enregistrer chez l'EMeOH de racines est de 565.68±0.87µg/mL.

➤ **Activité de piégeage du cation radical ABTS⁺**

Dans cette étude les résultats de l'activité ont été suivis par la mesure de l'absorbance et la détermination de la concentration inhibitrice des différents extraits en comparaison avec les standards BHA et BHT. Les résultats obtenus sont illustrés dans la figure 62 (Annexe 4.2).

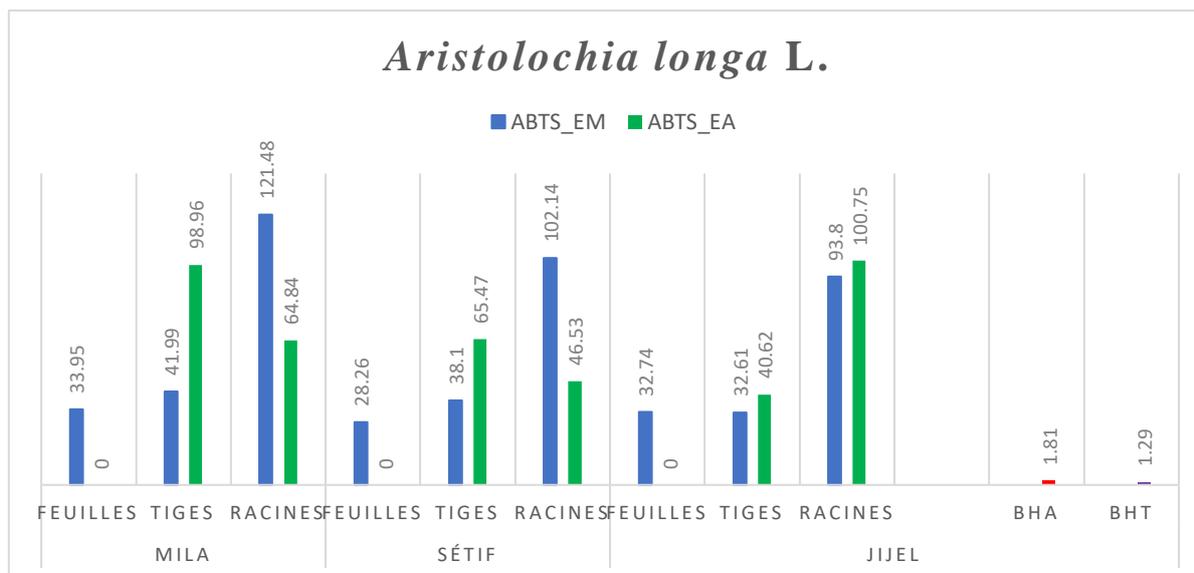


Figure 62. Test d'ABTS des extraits méthanoliques et aqueux de trois organes d'*A. longa* L. récoltée de trois wilayas et de deux standards (BHA et BHT).

Les résultats de ce test montrent que les extraits testés ont une activité antioxydante, mais aucun d'entre eux n'a montré une meilleure activité que les standards BHA (CI₅₀=1.81±0.10 µg/mL) et BHT (CI₅₀=1.29±0.30 µg/mL) (Fig. 62).

Les extraits méthanoliques des feuilles ont présentés la meilleure capacité du piégeage de l'ABTS par rapport aux autres organes avec IC₅₀=28.26±0.72µg/mL pour l'extrait MeOH de feuilles de Sétif, IC₅₀=32.74±1.57µg/mL pour l'extrait MeOH de feuilles de Jijel, puis on trouve l'extrait MeOH de feuilles de Mila avec une IC₅₀=33.95±0.38µg/mL. Cette forte activité de piégeage des radicaux libres est probablement liée à la présence de la rutin, de l'apigénin et de neohesperidine qui sont identifiés par LC-MS/MS dans ces extraits. Choi et al., (2007) ont confirmé la forte capacité antioxydante de neohesperidine contre l'ABTS. Tandis que les extraits MeOH de racines ont montrés la plus faible activité inhibitrice avec IC₅₀=121.48±1.05µg/mL pour l'EMRM, IC₅₀= 102.14±4.66µg/mL pour l'EMRS. Les résultats montrent une différence dans l'ordre d'activité anti-radicalaire (d'efficacité) des

extraits et confirment l'efficacité d'EMF de trois wilayas. Alors que la plus faible capacité d'inhibition d'ABTS a été enregistrée chez l'EMRM avec une $IC_{50}=121.48\pm 1.05\mu\text{g/mL}$ par rapport aux standards utilisés (BHT et BHA avec $IC_{50}=1.29\pm 0.30\mu\text{g/ml}$ et $IC_{50}=1.81\pm 0.10\mu\text{g/mL}$ respectivement).

Le piégeage des radicaux libres par des antioxydants est tributaire de deux mécanismes :
-la libération d'un électron (cinétique lente des dérivées glycolyses et des anthocyanes).

-Dans le cas des composés phénoliques, le mécanisme principal d'action est le piégeage des radicaux libres par le transfert de l'atome H sur le radical alors il se transforme en une molécule stable (González et al., 2018).

Les résultats de l'analyse de corrélation, montrent qu'il y a une forte corrélation négative entre l'activité antiradicalaire vis-à-vis les radicaux d'ABTS et la teneur des extraits en polyphénols et en flavonoïdes ($R^2= -0.87$) (Annexe 08).

Dans cette activité, les extraits ont manifesté un pouvoir de piégeage des radicaux libres meilleur que celui de l'activité anti-radicalaire au (DPPH), et ceci peut être justifié par la capacité du radical du cation (ABTS) d'être plus polyvalent que le (DPPH) parce qu'il est soluble dans l'eau et dans les solvants organiques, ce qui permet une évaluation d'activité antiradicalaire pour les composés hydrophiles et lipophiles (Gülçin, 2010).

Après comparaison des résultats de l'activité du piégeage du radical ABTS avec celle d'El Omari et al., (2018), ils ont trouvé des $IC_{50}= 144.40\pm 2.07\mu\text{g/mL}$, on constate que nos extraits sont les plus actifs. Cette variation au niveau des résultats obtenus peut être expliquée par la différence du protocole suivi et les standards utilisés en équivalence et les conditions d'extraction. Ainsi, Falleh et al., (2008), ont déclaré que l'activité antioxydante ne dépend seulement de la concentration, mais également de la structure et la nature des antioxydants.

➤ **Test de blanchiment du β -carotène (IC_{50})**

Cette activité consiste à mesurer la décoloration du β -carotène (orange) résultant de son oxydation par les produits de décomposition de l'acide linoléique (Fig. 63), en comparaison avec les concentrations inhibitrices (CI_{50}) de deux antioxydants standards (BHA et BHT).

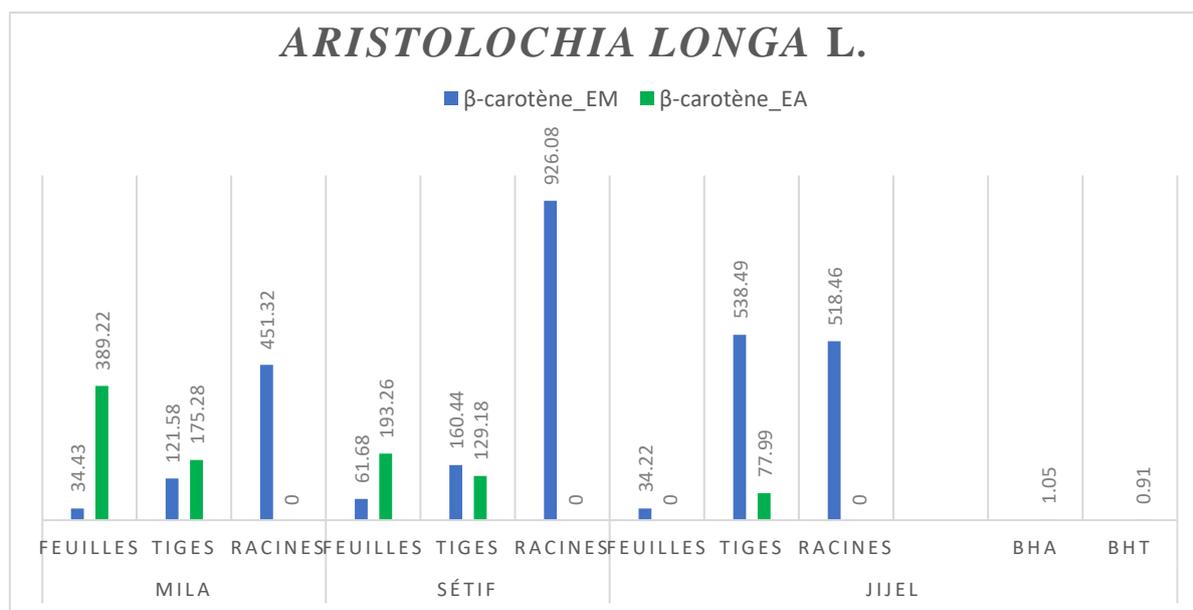


Figure 63. Test β-carotène des extraits méthanoliques et aqueux de trois organes d'*Aristolochia longa* L. récoltée de trois wilayas et de deux standards.

Le test β-carotène/acide linoléique a été utilisé pour évaluer l'effet antioxydant des extraits de différentes parties d'*Aristolochia longa* L. de trois wilayas de climat différents. Comme la montre la figure 63, tous les extraits ont montré une faible activité par rapport aux standards (BHA avec $IC_{50}=1.05\pm 0.03\mu\text{g/mL}$ et BHT avec $IC_{50}=0.91\pm 0.01\mu\text{g/mL}$) (Annexe 4.3).

On note que les extraits méthanoliques des feuilles de Jijel et Mila possèdent l'activité la plus forte avec des $CI_{50}=34.22\pm 5.44\mu\text{g/mL}$ et $34.43\pm 8.64\mu\text{g/mL}$ respectivement, tandis que l'extrait aqueux des racines de trois wilayas et l'extrait aqueux de feuilles de Jijel n'ont donné aucune activité. Les résultats obtenus pour le test de blanchiment du β-carotène peuvent être dus à la présence des flavonoïdes qui ont la plus grande contribution au potentiel antioxydant des extraits de feuilles. Ces valeurs sont confirmées par les travaux de Merouani et al., (2017). Les résultats de cette dernière révèlent le pouvoir antioxydant des extraits aqueux, méthanolique et acétonique de la partie aérienne d'*A. Longa* de la wilaya de sétif avec un taux d'inhibition de β-carotène de 1.02 ± 33 et $1.79\pm 57\mu\text{g/mL}$ respectivement.

D'après les résultats obtenus, il y a une corrélation négative modérée entre l'inhibition de l'auto-oxydation couplée de l'acide linoléique et les teneurs des extraits en polyphénols ($R^2=-0.65$) (Annexe 08). Cela a montré que non seulement la quantité des composés phénoliques qui influent sur l'inhibition du blanchiment du β-carotène, mais aussi leur nature structurale

(Altemimi et al., 2017). En fait, certains auteurs ont signalé qu'une synergie possible entre les composés polyphénoliques et les autres composants présents dans les extraits pourrait contribuer à son activité antioxydante globale (Nur Arina et Azrina, 2016). Nos résultats concordent avec les études menées par Othman et ses collaborateurs (2014), qui ont montré qu'il existe une faible corrélation entre l'activité antioxydante basée sur le dosage de blanchissement du β -carotène et la teneur totale en composés phénoliques de quatre plantes locales malaisiennes.

Plusieurs études ont été démontrées que les polyphénols jouent un rôle important dans la stabilisation de la peroxydation lipidique. En fait, la littérature a démontré une bonne corrélation entre l'activité antioxydante et la teneur élevée en polyphénols et en flavonoïdes (Aouachria et al., 2017 ; Bouaziz et al., 2020).

L'activité antioxydante des extraits méthanoliques de feuilles (Mila et Jijel) sont statistiquement supérieure à celle des autres extraits, il existe probablement des différences qualitatives dans la nature des composés phénoliques qui entrent dans la composition des extraits, influençant leur pouvoir antioxydant. Les flavonoïdes glycosylés (le reste des extraits) ont une activité antioxydante inférieure à celle des flavonoïdes non glycosylés (EMF de Mila et Jijel). Comme exemple la rutine est presque dix fois moins active que la quercétine qui est déjà identifiée dans les extraits méthanoliques de feuilles de Mila et Jijel (Sokol-Letowska et al., 2007).

➤ **Test de la capacité antioxydante par réduction du Fer (FRAP)**

Le suivi de cette activité est basé sur l'aptitude des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}), de couleur jaune en fer ferreux (Fe^{2+}) de couleur bleu verte par la mesure des valeurs A0.50 et par comparaison avec les standards acides ascorbique et α -Tocophérol, le test nous a permis d'obtenir les résultats suivants (Fig. 64) (Annexe 4.4).

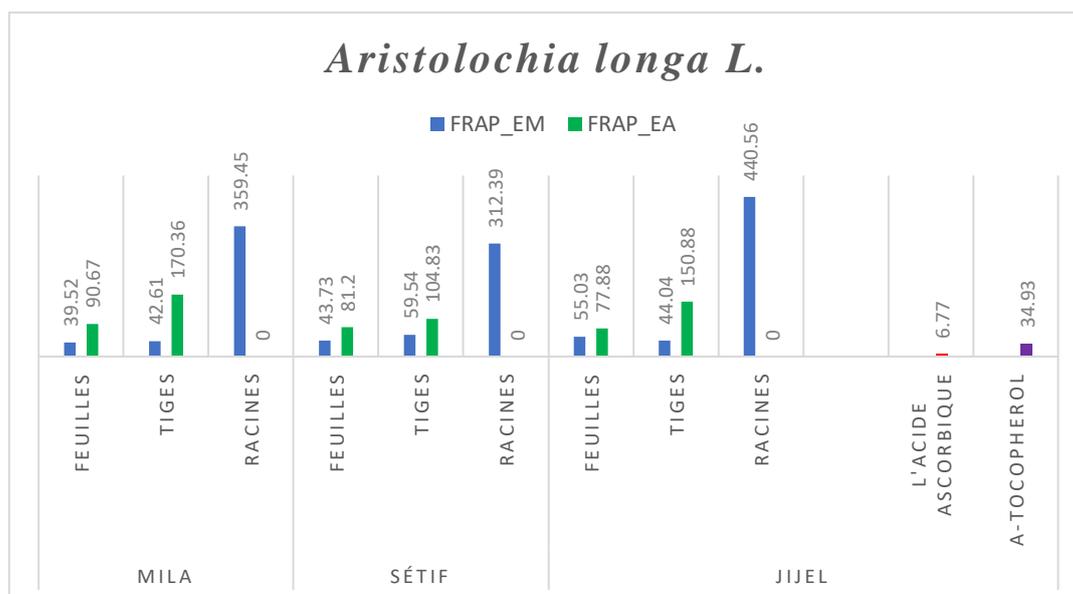


Figure 64. Valeurs des A0.50 du test pouvoir réducteur par les extraits d'*A. longa* L. récoltée de trois wilayas et de deux standards : Acide ascorbique et α -tocophérol.

D'après la figure 64, on observe que l'extrait MeOH des feuilles de Mila présente la meilleure activité du pouvoir réducteur ($39.52 \pm 0.54 \mu\text{g/mL}$), suivie par les extraits méthanolique des feuilles de Sétif et Jijel avec $\text{IC}_{50} = 43.73 \pm 3.38 \mu\text{g/mL}$ et $55.03 \pm 9.59 \mu\text{g/mL}$ respectivement. L'extrait aqueux des feuilles de trois wilayas a manifesté une faible activité par rapport à l'autres extraits et aux standards : l'acide ascorbique et α -Tocophérol. Alors que l'extrait aqueux de racines de trois wilayas n'a donné aucune activité.

Une étude faite par Merouani et al., (2017), sur l'activité anti radicalaire (FRAP) de l'extrait aqueux des racines d'*Aristolochia longa* L. a montré une activité avec $\text{EC}_{50} = 5.999 \pm 0.075 \mu\text{g/mL}$ par rapport au BHA avec $\text{IC}_{50} = 0.053 \pm 0.0009 \mu\text{g/mL}$. La variation de l'activité antioxydante pourrait être due à la quantité de polyphénols présents dans chaque solvant, mais elle varie également selon la qualité des polyphénols, des flavonoïdes et des tanins (Zhou et al., 2004).

Les résultats obtenus sont en accords avec les études réalisées sur *A. longa* (partie aérienne) (Merouani et al., 2017) et *A. indica* (partie aérienne) (Subramaniyan et al., 2015) et (racines) (Nile et al., 2017), qui indiquent qu'elles ont un pouvoir réducteur (FRAP) très important. La différence entre les résultats du pouvoir antioxydant de différents extraits peut être due à la différence de quantité en polyphénols. Certaines études (Othman *et al.*, 2007) ont montré que le pouvoir antioxydant (valeur FRAP) des extraits de plantes est fortement corrélé à leur teneur en polyphénols.

D'après les résultats, le pouvoir réducteur/antioxydant de différents extraits d'*A. longa* L. semble avoir une forte corrélation négative entre la capacité réductrice des extraits et leur contenu à la fois des polyphénols ($R^2 = -0.86$) (Annexe 08). Ces résultats sont comparables avec ceux trouvés par Li et ses collaborateurs, (2008) où ils ont étudié l'activité antioxydante de 45 plantes par la technique FRAP et ils ont montrés l'implication des polyphénols dans l'activité antioxydante de ces plantes où il existe une corrélation négative entre la teneur de ces plantes en polyphénols et leur activité antioxydante.

Les composés phénoliques et les flavonoïdes en particulier sont connus pour leurs propriété réducteur/antioxydante (Weidner et al., 2018). La configuration spatiale et le nombre de groupement OH des flavonoïdes peuvent avoir une influence sur les différents mécanismes antioxydants. Trois critères principales peuvent conférer aux flavonoïdes un grand effet antioxydant : la structure 3'-4'-catéchol du cycle B (structure ortho-diphénolique), la présence du groupement 3-OH en combinaison avec la double liaison C₂-C₃ adjacente à la fonction 4-oxo et la présence de la double liaison C₂-C₃ en conjugaison avec la fonction 4-oxo (carbonyle). Ces trois critères sont présents dans la quercétine (qui existe déjà dans les feuilles de cette espèce) lui permet d'être un puissant réducteur (Sarian et al., 2017).

Test de la capacité antioxydante par réduction du cuivre (CUPRAC)

C'est une réaction de réduction du complexe cuivre- néocuproïne, le dosage de cette réaction est mesuré à titre de valeurs A0.50 des extraits d'*A. longa* L. et des standards BHA et BHT mentionnées ci-dessous (Fig. 65) (Annexe 4.5).

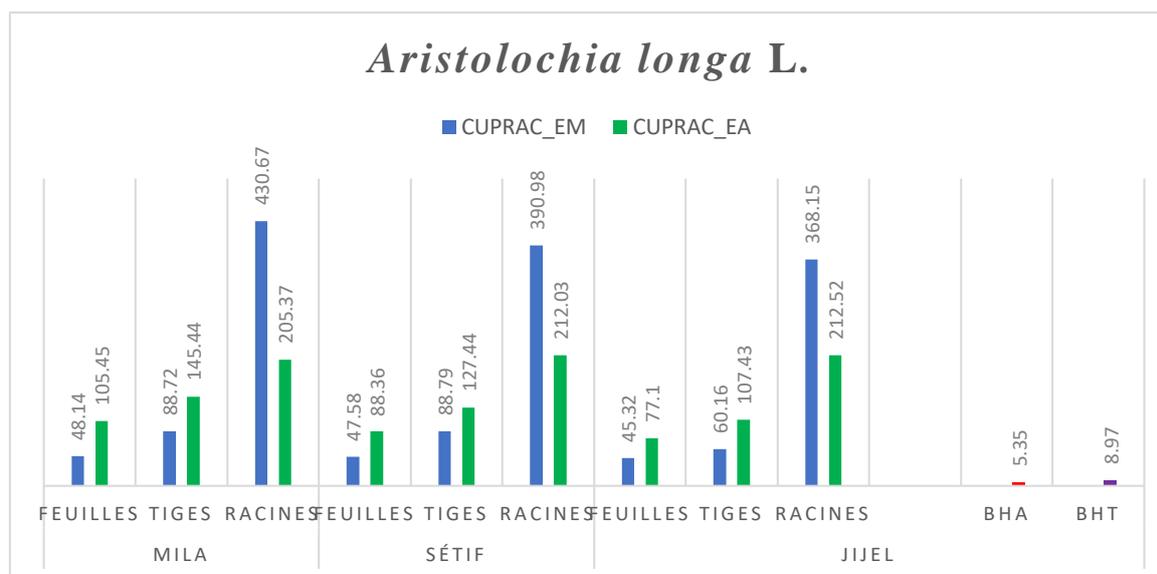


Figure 65. Valeurs des A0.50 du test CUPRAC pour les extraits méthanoliques et aqueux de trois organes d'*A. longa* L. récoltée de trois wilayas et de deux standards (BHA et BHT).

Dans la méthode de CUPRAC, les extraits étudiés ont présenté le même comportement que celui enregistré dans la méthode FRAP, tous les extraits présentent une activité faible par rapport aux standards (BHT, BHA), et c'est l'extrait MeOH de feuilles de Jijel qui a présenté le meilleur effet de la réduction cuprique avec une $A_{0.5} = 45.32 \pm 1.20 \mu\text{g/mL}$, comparable à celui de l'extrait MeOH de feuilles de Sétif avec une absorbance $A_{05} = 47.58 \pm 2.39 \mu\text{g/mL}$, suivi par l'extrait MeOH de feuilles de Mila avec une absorbance $A_{05} = 48.14 \pm 1.06 \mu\text{g/mL}$. Les standards ont gardé le meilleur effet (BHA : $A_{05} = 5.35 \pm 0.71 \mu\text{g/mL}$ et BHT : $A_{05} = 8.97 \pm 3.94 \mu\text{g/mL}$). Notre étude est la première dans l'évaluation de l'activité de réduction du complexe cuivre-néocuproïne (CUPRAC) de la plante *A. longa* L.

La détermination de coefficient de corrélation entre l'activité antioxydante totale mesurée par la méthode CUPRAC et la teneur en polyphénols totale des extraits a montré l'existence d'une forte corrélation négative ($R^2 = -0,89$) (Annexe 08), ce qui suggère que cette activité pourrait être attribuée à la présence des composés phénoliques dans les différents extraits.

- ❖ A l'issue de ces résultats, il apparaît que les extraits méthanolique des feuilles ont montré une meilleure activité pour les cinq méthodes utilisées : anti-radicalaire DPPH, ABTS, blanchissement du bêta-carotène, et pouvoir réducteur du fer (FRAP) et du cuivre (CUPRAC) par rapport aux autres organes, ce qui indique qu'ils peuvent être des agents thérapeutiques utiles pour le traitement des lésions pathologiques liées aux radicaux.

- ❖ Les résultats d'étude des différentes activités d'*Aristolochia longa* L. sont comme suit :
- ✓ L'extrait aqueux des feuilles de Jijel, et les extraits MeOH de feuilles de trois wilayas, ont montré la meilleure activité avec le test DPPH.
- ✓ L'extrait méthanolique des feuilles de Sétif a manifesté la meilleure activité avec le test ABTS.
- ✓ L'extrait MeOH des feuilles de Jijel a montré la meilleure activité avec les deux tests CUPRAC et le test du blanchissement du bêta-carotène.
- ✓ L'extrait MeOH des feuilles de Mila a présenté la meilleure activité avec le test de FRAP.
- ✓ Il est à noter que l'ordre d'efficacité des extraits étudiés est pratiquement le même dans les cinq méthodes, ce qui confirme la corrélation entre les méthodes étudiées, et la bonne pratique expérimentale.
- ✓ L'activité anti-oxydante de la plante *Aristolochia longa* L. est due à sa richesse en flavonoïdes et en composés phénoliques (rutin, apigénine et neohesperidine).
- ✓ A travers la recherche bibliographique il est bien établi qu'il y a une corrélation positive entre les polyphénols, les flavonoïdes totaux, la capacité de stabiliser le radical de DPPH, de neutraliser le radical ABTS, la capacité de réduire le fer et la capacité de réduire le cuivre d'extrait méthanolique d'*A. longa* L. Ce qui signifie que chaque activité antioxydante ne dépend pas seulement de la teneur en polyphénols mais aussi de la structure et de l'interaction entre certains composés (Oueslati., 2013).

***Capparis spinosa* L.**

➤ **Effet scavenger du radical DPPH**

L'activité antiradicalaire des extraits a été évaluée par spectrophotométrie à 517 nm, en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par changement de la couleur violette à la couleur jaune. Dans ce test les résultats ont été comparés par rapport aux standards BHA et BHT.

Les résultats de l'activité antiradicalaire au DPPH sont représentés par les pourcentages d'inhibition pour chaque concentration ainsi que les valeurs de la concentration d'inhibition de 50% (Fig. 66) (Annexe 5.1).

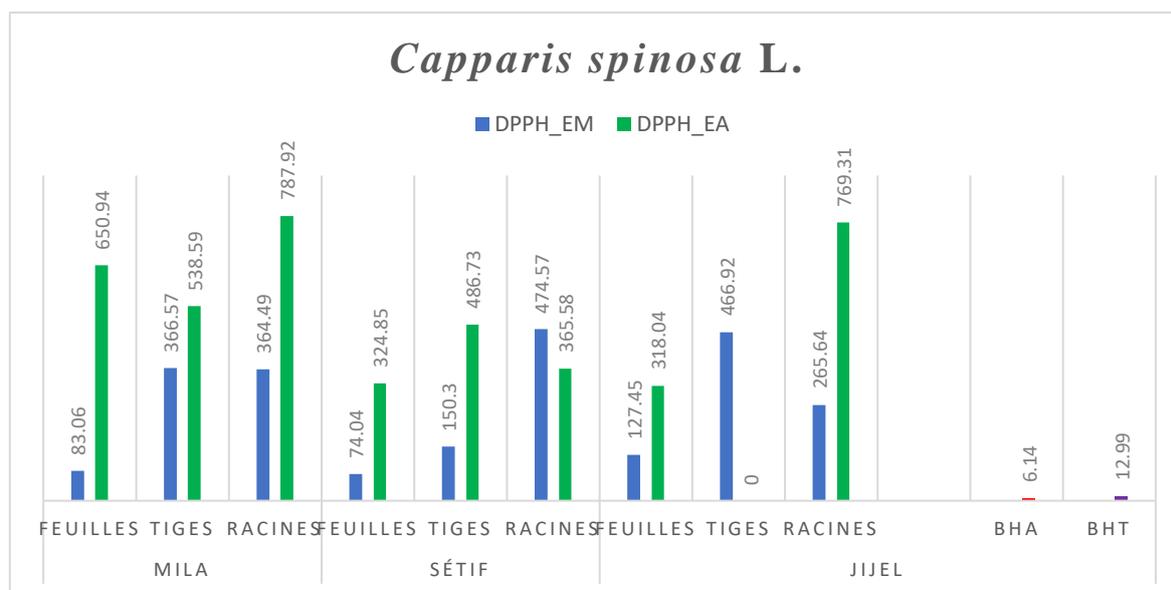


Figure 66. Valeurs des CI₅₀ du test DPPH pour les extraits méthanoliques et aqueux de trois organes de *C. spinosa* L. récoltée de trois wilayas et de deux standards (BHA et BHT).

D'après les résultats obtenus (Fig. 66), on constate que les extraits bruts de *Capparis spinosa* L. ont montré une activité anti-radicalaire faible par rapport aux valeurs des standards BHA et BHT. Les extraits MeOH des feuilles de trois wilayas montrent les activités de piégeage les plus élevées avec des valeurs CI₅₀=74.04±3.17 « EMFS », CI₅₀= 83.06±4.12 « EMFM » et CI₅₀=127.45±1.60 µg/mL « EMFJ » respectivement, suivies par les extraits méthanolique des racines. L'activité antioxydante des extraits MeOH des feuilles est toujours la plus forte grâce à la synergie des flavonoïdes et des phénols (Rauwald et al., 1994). Par contre les extraits aqueux de racines de Mila et Jijel ont montrés l'activité de piégeage la plus faible.

De nombreuses recherches ont été faites pour étudiées le pouvoir antioxydant des extraits du *Capparis spinosa*, en Italie Bonina et al., (2002) ont montré que l'extrait méthanolique lyophilisé de baies fraîche de *C. spinosa* présente une activité antioxydante très importante avec un IC₅₀ de 34 µg/ml. Bouriche et al., (2011) ont également fait le même constat que ce dernier sur le Câprier d'Algérie où ils ont trouvés des IC₅₀= 53.53µg/mL. Les extraits méthanoliques de graines de *C. spinosa* récolté en Tunisie testé par deux méthodes DPPH et ABTS, montrent une activité antioxydante importante avec des valeurs de IC₅₀ 3.5 et 2.6µg/mL respectivement inférieures à celles de contrôles positifs BHT (Tlili et al., 2015)

Nos résultats sont en accord avec les résultats de Meddour et al., (2013) qui ont évalué l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique des bourgeons à fleurs, des fleurs et des fruits immatures du *C. spinosa* par le test de DPPH où ils ont révélé une activité anti-radicalaire élevée

(78.34%). L'étude de l'effet antioxydant des extraits de la partie aérienne et des racines par Baghiani et al. (2012), a détecté une activité antioxydante puissante qui a été estimée par la méthode du système bêta-carotène linoléate et par la méthode de capacité de réduction de fer ferrique (FRAP), peut être due aux groupes d'hydroxyle existant dans les composés phénoliques, et que les extraits de la partie aérienne ont eu une activité supérieure à celle de la partie racinaire.

Nos résultats confirment également ceux d'Arrar et al., (2013), qui ont démontré que toutes les parties de *C. spinosa* ont un bon potentiel antioxydant et que celui des fruits est plus puissant que celui des racines, par la méthode de β -carotène et par la méthode à DPPH. Aussi, Alsabri et al. (2012) ont constaté que l'activité antioxydante (IC50 $\mu\text{g/ml}$) d'extraits au méthanol et à l'acétate d'éthyle du *C. spinosa* ont été respectivement de $94.4 \pm 4.5 \mu\text{g/mL}$ et de $57.75 \pm 2.3 \mu\text{g/mL}$ par la méthode à DPPH.

➤ Effet scavenger du radical-cation ABTS

Dans ce test, l'antioxydant réagit avec l'ABTS^{•+} de couleur bleu/vert par transfert d'électrons pour redonner l'ABTSH⁺ incolore. Cette transformation a été suivie par la mesure de l'absorbance et la détermination de la concentration inhibitrice des différents extraits bruts de *C. spinosa* L. en comparaison avec les standards : BHA et BHT. Les résultats obtenus sont illustrés dans la figure 67 et l'Annexe 5.2.

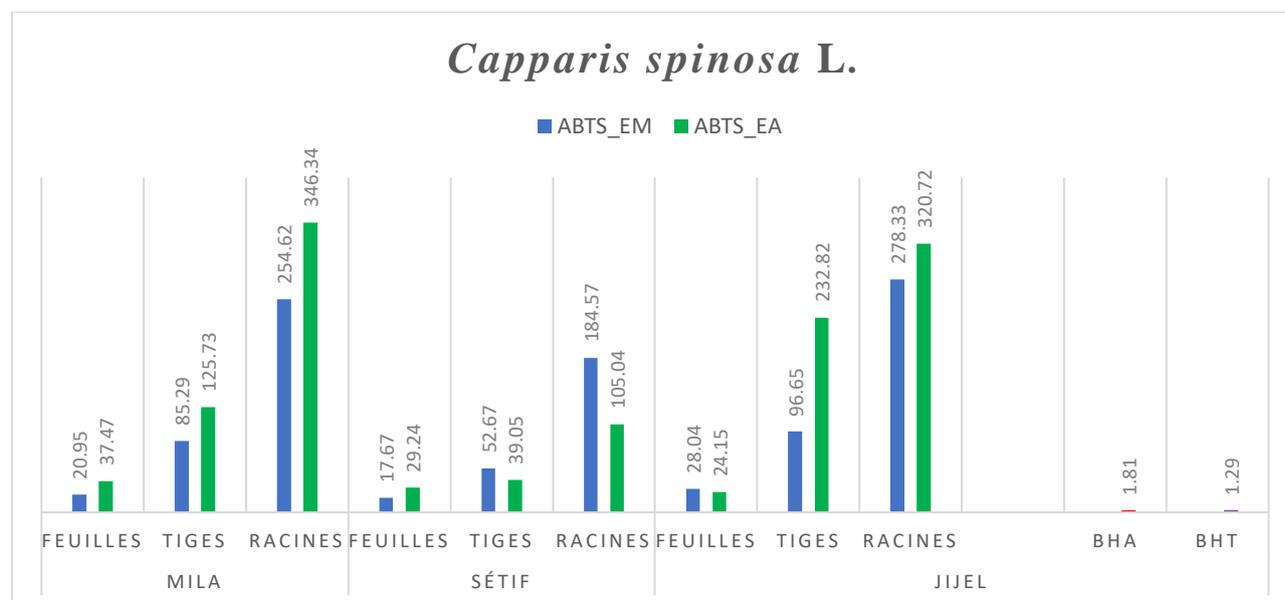


Figure 67. Valeurs des CI50 du test ABTS pour les extraits méthanoliques et aqueux de trois organes de *C. spinosa* L. récoltée de trois wilayas et de deux standards (BHA et BHT).

Dans ce test, on remarque que les extraits de *Capparis spinosa* L. sont faibles par rapport aux standards utilisés (BHT, BHA). La meilleure capacité du piégeage du radical ABTS^{•+} est manifesté par les extraits MeOH des feuilles (CI50=17.67±074 « EMFS », CI50= 20.95±047 « EMFM » et CI50=28.04±121µg/mL « EMFJ ») par rapports aux autres extraits. Suivies par les extraits aqueux des feuilles puis les extraits MeOH des tiges. Alors que l'extrait aqueux des racines de Mila (CI50=346.34±8.75µg/mL) a manifesté la plus faible activité par rapport aux standards et aux autres extraits (Fig.67).

D'après ces résultats du piégeage du radical ABTS^{•+}, On peut dire que c'est l'extrait MeOH des feuilles de la région de Sétif qui a manifesté la meilleure capacité antioxydante par rapport aux autres extraits, et il pourrait être considéré comme une source alimentaire d'antioxydant. Notre étude est la première réalisée par l'utilisation de la méthode du piégeage du radical (ABTS) pour l'espèce *Capparis spinosa* L.

La détermination de coefficient de corrélation entre l'activité antioxydante totale mesurée par la méthode ABTS et la teneur en polyphénols totale des extraits a montré l'existence d'une forte corrélation négative ($R^2=-0,80$) (Annexe 08), ce qui suggère que cette activité pourrait être attribuée à la présence des composés phénoliques dans les différents extraits.

➤ Test de la capacité antioxydante par réduction du Fer (FRAP)

Le principe de la méthode de FRAP est d'évaluer la capacité de réduction du fer ferrique (F^{3+}) au fer ferreux (F^{2+}) par les antioxydants présentés dans les échantillons testés. Par conséquent, en mesurant la formation du complexe bleu à 700 nm. Une absorbance plus élevée indique également un pouvoir réducteur plus élevé (Liu et al., 2007). La figure 68 montre les résultats de cette activité de différents extraits en fonction de l'absorbance.

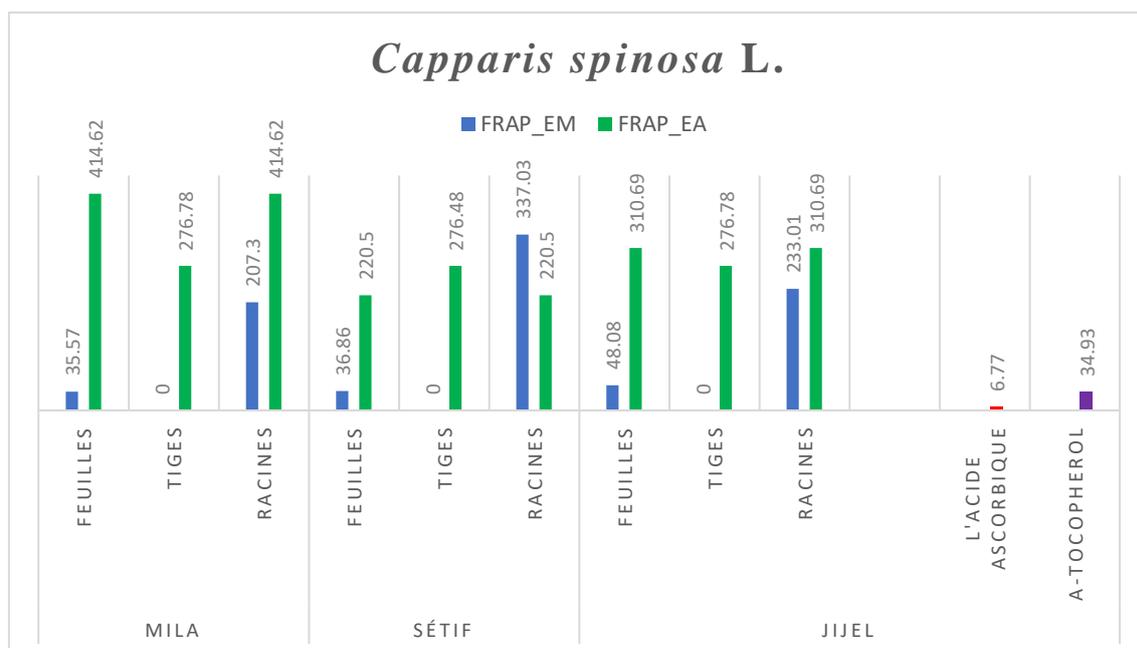


Figure 68. Valeurs des A0.50 du test pouvoir réducteur par les extraits méthanoliques et aqueux de trois organes de *C. spinosa* L. récoltée de trois wilayas et de standards : Acide ascorbique et α -tocophérol.

Nos résultats ont révélé que l'extrait MeOH des feuilles de la région de Mila a présenté la meilleure activité du pouvoir réducteur ($A_{05}=35.57\pm 6.05\mu\text{g/mL}$), suivie par les extraits méthanoliques des feuilles de la wilaya de Sétif et Jijel avec $A_{05}=36.86\pm 2.45\mu\text{g/mL}$ et $48.08\pm 5.05\mu\text{g/mL}$ respectivement. Cette capacité de réduction de fer des extraits MeOH des feuilles est très proche à celle du standard α -Tocopherol avec $A_{05}=35.57\pm 6.05\mu\text{g/mL}$ de feuilles de Mila et $A_{05}=36.86\pm 2.45\mu\text{g/mL}$ de feuilles de Sétif et $A_{05}=34.93\pm 2.38\mu\text{g/mL}$ de l' α -Tocopherol, est modérée par rapport à l'acide ascorbique qui présente une $A_{05}=6.77\pm 1.15\mu\text{g/mL}$ (Annexe 5.3).

L'extrait aqueux des feuilles et des racines de Mila a manifesté une faible activité par rapport aux extraits et aux standards. Par contre l'extrait MeOH des tiges de trois wilayas n'a montré aucune activité. Les résultats de cette recherche sont encourageant par rapport à l'étude de (Mollica et al., 2019) sur les feuilles de la même espèce de l'Italie avec $A_{05}=56.33\pm 0.72\text{mgTE/g}$ d'extrait, cette différence est probablement due à l'effet de la région et des conditions climatiques, la saison de récolte affectant la biosynthèse des composés phénoliques.

Une corrélation négative a été également observée entre le pouvoir réducteur du fer et la teneur en polyphénol ($R^2=-0.40$ (TPC) et $R^2=-0.52$ (TFC)) (Annexe 08), par conséquence

l'activité antioxydante des extraits peut être expliquée par la présence de composés phénoliques.

Test de la capacité antioxydante par réduction du cuivre (CUPRAC)

Le dosage de cette réaction est mesuré à titre de valeurs A0.50 des extraits de *C. spinosa* L. et des standards BHA et BHT mentionnées dans la figure 69 et l'Annexe 5.4.

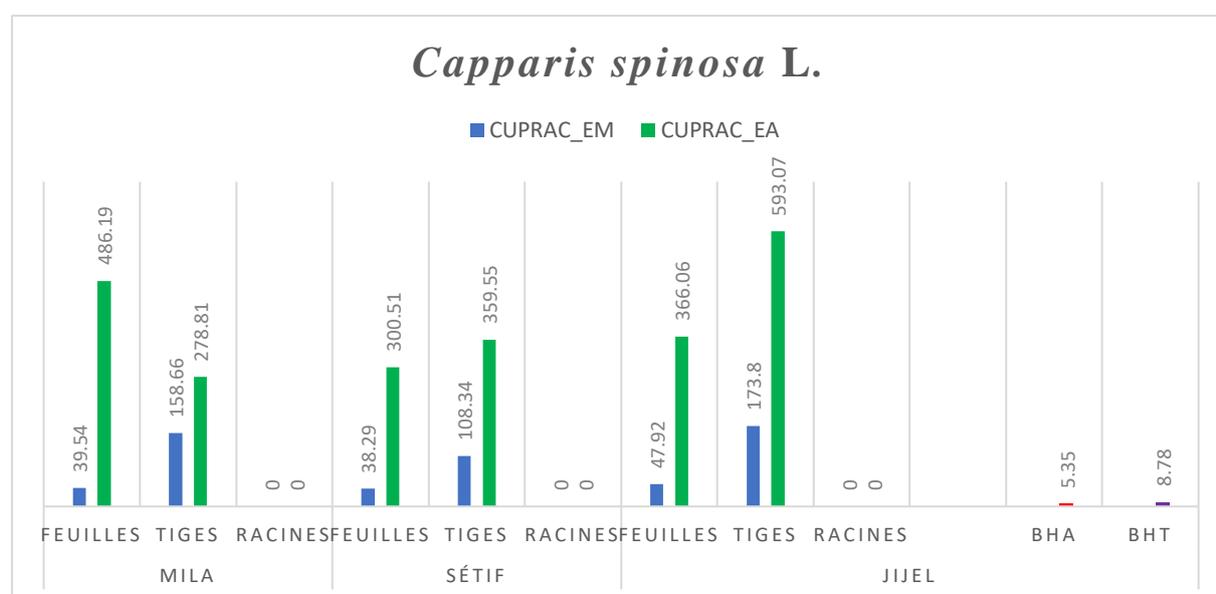


Figure 69. Valeurs des A0.50 du test CUPRAC pour les extraits méthanoliques et aqueux de trois organes de *C. spinosa* L. récoltée de trois wilayas et de deux standards (BHA et BHT).

La présente étude a montré que les extraits MeOH des feuilles ($A_{0.5} = 38.29 \pm 3.84$ « EMFS », $A_{0.5} = 39.54 \pm 1.42$ « EMFM » et $A_{0.5} = 47.92 \pm 0.88 \mu\text{g/mL}$ « EMFJ ») ont montré la meilleure capacité antioxydante par réduction du cuivre par rapport aux autres organes de cette espèce. Mais cette activité reste modérée par rapport à celles des standards BHA et BHT ($A_{0.5} = 5.35 \pm 0.71 \mu\text{g/mL}$ et $A_{0.5} = 8.97 \pm 3.94 \mu\text{g/mL}$ respectivement). Par contre l'extrait MeOH et aqueux des racines de trois wilayas n'a manifesté aucune activité antioxydante.

➤ Test de blanchiment du β -carotène

Dans ce test, la capacité antioxydante des extraits de *C. spinosa* L. a été déterminée en mesurant l'inhibition de la dégradation oxydative du β -carotène (disparition de sa couleur) par les produits d'oxydation de l'acide linoléique selon la méthode décrite par Marco., (1968). Les résultats obtenus sont mentionnés dans la figure 70.

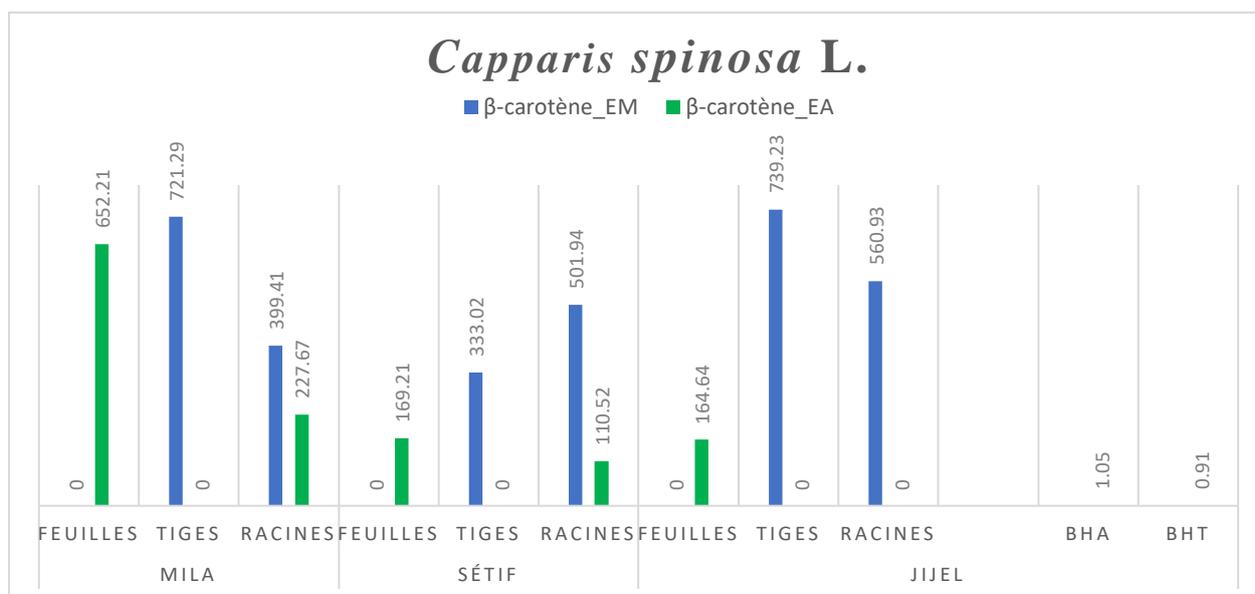


Figure 70. Test β -carotène des différents extraits méthanolique et aqueux de trois organes de *C. spinosa* L. récoltée de trois wilayas et de deux standards (BHA et BHT).

Le test β -carotène/acide linoléique a été utilisé pour évaluer l'effet antioxydant des extraits bruts de *Capparis spinosa* L. comme le montre la figure 70, tous les extraits de *C. spinosa* L. ont montré une faible activité par rapport aux standards utilisés (BHT et BHA). On note que les extraits EARS, EAFJ, EAFS possèdent l'activité la plus forte tandis que les extraits EMTM et EMTJ sont les plus faible. Par contre les extraits MeOH des feuilles et les extraits aqueux des tiges de trois wilayas n'ont donné aucune activité (Annexe 5.5). Les résultats obtenus pour le test de blanchiment du β -carotène peuvent être dus à la présence de polyphénols et des flavonoïdes qui ont la plus grande contribution au potentiel antioxydant. En fait, la littérature a démontré une bonne corrélation entre l'activité antioxydante et la teneur élevée en polyphénols et en flavonoïdes (Aouachria et al., 2017, Bouaziz et al., 2020).

L'analyse de corrélation a indiqué que le test du blanchiment de β carotène est corrélée négativement avec la teneur en composés phénoliques et flavonoïdiques ($R^2 = -0.77$ (TPC) et $R^2 = -0.89$ (TFC)) (Annexe 08), ce qui suggère que cette activité inhibitrice pourrait être due à la présence des composés de type phénol et flavonoïdes.

- ❖ A l'issue de ces résultats, il apparait que les extraits MeOH de feuilles de *C. spinosa* L. ont montré une meilleure activité pour les cinq méthodes utilisées : anti-radicalaire DPPH, ABTS, CUPRAC, blanchissement du bêta-carotène et pouvoir réducteur (FRAP).
- ❖ Les résultats d'étude des différentes activités de *C. spinosa* L. sont comme suit :

- ✓ Les extraits MeOH de feuilles de Sétif ont montré la meilleure activité avec les tests : DPPH, ABTS et CUPRAC et l'EARS est le plus actif vis-à-vis le test de blanchiment de β -carotène.
- ✓ L'extrait MeOH de feuilles de Mila, a présenté la meilleure activité avec le test de FRAP.
- ❖ En plus, plusieurs acides phénoliques et flavonoïdes isolés des extraits de la plante *Capparis spinosa* L. présentent des activités antioxydantes ; l'acide gallique, la rutine, la quercétine, l'acide férillique, la catéchine et l'acide vanillique (Tlili et al., 2017 ; Shamam et al., 2014 ; Calis et al., 2002 ; Mollica et al., 2019). En effet l'activité antioxydante des extraits obtenus de l'espèce *C. spinosa* L. peut être associée à la présence de ces composés.

V.7.2. Activités enzymatiques

▪ Evaluation de l'activité anti-cholinestérase

L'activité anti-cholinestérase des divers extraits de deux plantes est testée par la méthode d'inhibition d'acétylcholinestérase et de la butyrylcholinestérase selon la méthode d'Ellman et al., (1961).

V.7.2.1. Inhibition de l'acétylcholinestérase (AChE)

Cette inhibition est suivie par la mesure de l'absorbance et la détermination de la concentration inhibitrice (CI50) des différents extraits en comparaison avec le standard, la galantamine. Les résultats obtenus sont présentés ci-dessous.

Les extraits bruts d'*Aristolochia longa* L. et *Capparis spinosa* L. sont testés pour la première fois contre l'AChE et BChE pour les trois parties de ces deux espèces.

Aristolochia longa L.

D'après les résultats obtenus (Fig. 71), on remarque que l'activité inhibitrice de l'AChE a été enregistrée uniquement au niveau de l'extrait MeOH des feuilles de Jijel et Sétif avec une (CI50 : 12.66 ± 1.49 et $14.29 \pm 1.57 \mu\text{g/mL}$ respectivement). Ces valeurs sont proches de celui du standard : la galantamine avec une $IC_{50} = 6.27 \pm 1.2 \mu\text{g/mL}$. Par contre les autres extraits étaient inactifs pour les différentes concentrations (Annexe 4.6).

L'analyse de corrélation a indiqué que l'activité anti-acétylcholinestérase exécrée par les extraits d'*A. longa* est proportionnellement corrélée avec la teneur en composés phénoliques et flavonoïdes ($R^2=0.52$ (TPC) et $R^2=0.53$ (TFC)) (Annexe 08). Ces résultats suggèrent que cette activité pourrait être due à la présence des composés phénoliques et des flavonoïdes.

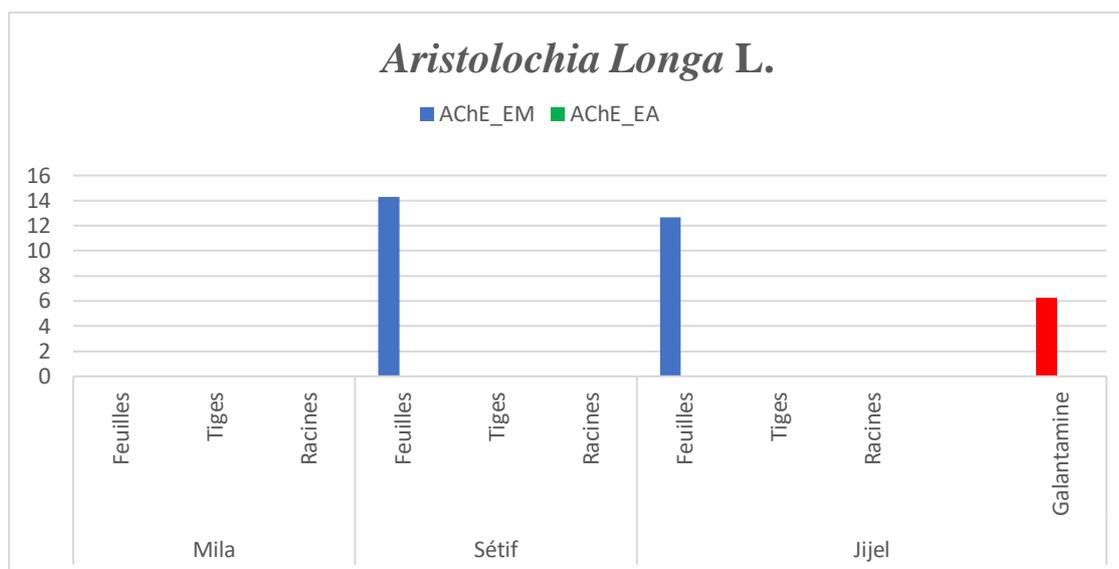


Figure 71. Valeurs des pourcentages d'inhibition du test d'inhibition de l'acétylcholinestérase pour les extraits méthanoliques et aqueux de trois organes d'*A. longa* L. récoltée de trois wilayas et du standard (galantamine).

Capparis spinosa L.

Les résultats de la figure 72, montrent que tous les extraits de *C. spinosa* L. ont été inactifs contre l'AChE (Annexe 5.6).

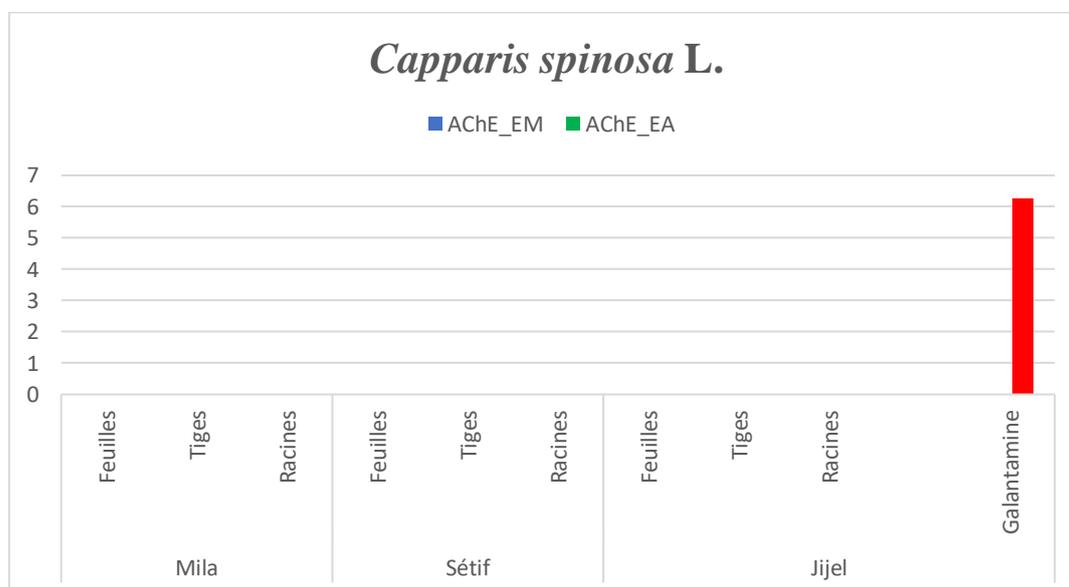


Figure 72. Valeurs des pourcentages d'inhibition du test d'inhibition de l'acétylcholinestérase pour les extraits méthanoliques et aqueux de trois organes de *C. spinosa* L. récoltée de trois wilayas et du standard (galantamine).

V.7.2.2. Inhibition de la Butyrylcholinestérase (BChE)

✚ *Aristolochia longa* L.

D'après les résultats obtenus dans la figure 73, on remarque que l'activité inhibitrice de l'BChE a été enregistrée au niveau des extraits MeOH de trois organes et l'extrait aqueux des racines de trois wilayas. Tandis que les extraits MeOH de racines d'*A. longa* de trois wilayas ont présenté une excellente activité anti-BChE ($IC_{50}= 2.42\pm 2.87\mu\text{g/ml}$ (EMRM); $CI_{50}=6.53\pm 8.51\mu\text{g/mL}$ (EMRS) et $IC_{50}= 21.81\pm 1.26\mu\text{g/mL}$ (EMRJ) ; même supérieure à celle du standard la galantamine ($IC_{50}=34.75\pm 1.99\mu\text{g/mL}$). Les extraits méthanoliques des feuilles de Mila et de Jijel et les extraits aqueux des racines de trois wilayas ont manifesté une activité modérée contre la BChE. Cependant, les extraits aqueux des tiges ont été inactifs (Annexe 4.7).

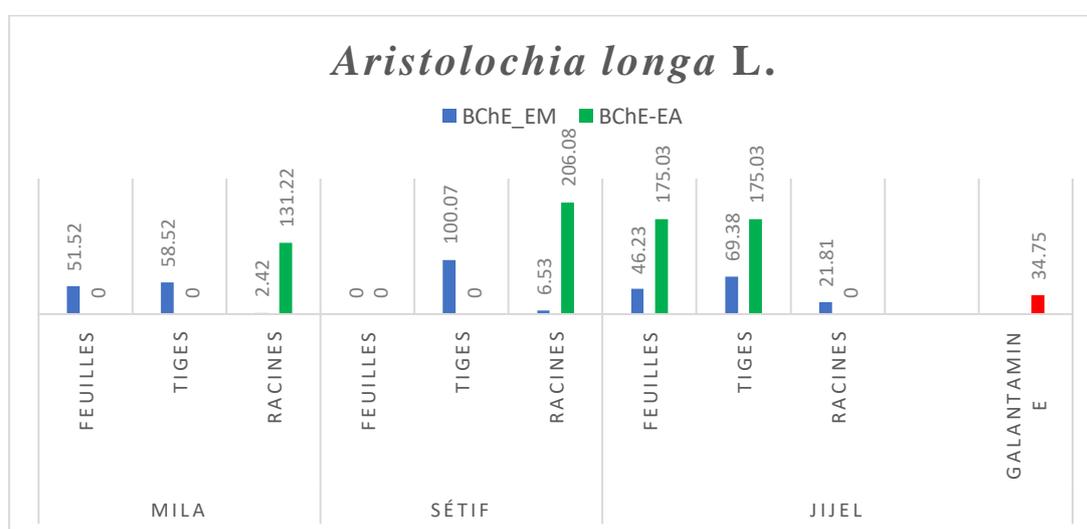


Figure 73. Valeurs des pourcentages d'inhibition du test d'inhibition de la butyrylcholinestérase pour les extraits méthanoliques et aqueux de trois organes d'*A. longa* L. récoltée de trois wilayas et du standard (galantamine).

✚ *Capparis spinosa* L.

La figure 74, présente les activités inhibitrices de l'activité anti-BChE des extraits de *C. spinosa* L. de trois wilayas, comparées à celle de la galantamine.

Les extraits méthanolique des racines de trois régions d'étude présentent une activité anti-BChE modérée (avec des $IC_{50}=143.37\pm 65.56\mu\text{g/mL}$ pour l'extrait MeOH de racines de Mila suivie par $IC_{50}=147.07\pm 145.38\mu\text{g/mL}$ pour l'extrait MeOH de racines de Jijel et puis l'extrait MeOH de racines de Sétif avec $IC_{50}=150.77\pm 80.56\mu\text{g/mL}$. Tandis que la galantamine qui est utilisé comme substance de référence à donner ($IC_{50}=34.75\pm 1.99\mu\text{g/mL}$). L'autres extraits ont été inactifs quelques soit la concentration utilisée (Annexe 5.7).

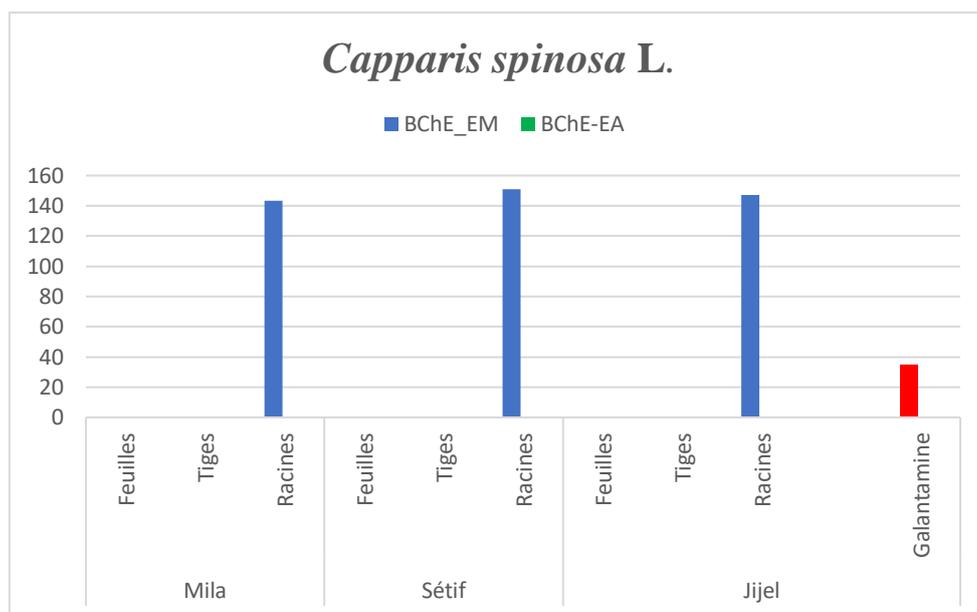


Figure 74. Valeurs des pourcentages d'inhibition du test d'inhibition de la butyrylcholinestérase pour les extraits méthanoliques et aqueux de trois organes de *C. spinosa* L. récoltée de trois wilayas et du standard (galantamine).

- ❖ Par comparaison de l'activité des deux enzymes AChE et BChE avec les extraits d'*A. longa*, on constate que la plupart des extraits (sauf les extraits aqueux des tiges de trois wilayas) ont montré une activité d'inhibition importante contre la BChE par rapport à l'AChE, surtout les extraits MeOH de racines qui ont montré une meilleure capacité anti-BChE, mieux même que celle de la substance de référence utilisé (galantamine).
- ❖ Pour *Capparis spinosa* L. on constate que la plupart des extraits n'ont montré aucune activité d'inhibition ni contre la BChE ni à l'AChE, sauf les extraits méthanoliques des racines de trois wilayas qui ont donné une activité modérée contre la BChE.

V.7.3. Pouvoir antibactérien des extraits bruts

V.7.3.1. Méthode de diffusion sur disque (aromatogramme)

L'activité antibactérienne des différents extraits de nos plantes est évaluée en utilisant la méthode de diffusion des disques. La sensibilité des souches testées est estimée par la mesure des diamètres des zones d'inhibition de chaque extrait. Les valeurs de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricides (CMB) sont également estimées pour confirmer l'effet antibactérien, et déterminer les niveaux d'efficacité des extraits de deux plantes étudiées.

Test de sensibilité aux antibiotiques

Un test de sensibilité des souches bactériennes utilisées vis-à-vis des antibiotiques a été réalisé. Ce test a pour but d'étudier l'antibiogramme standard des germes et le comparer avec l'effet de nos extraits. Les disques d'antibiotiques sont déposés à la surface d'une gélose Muller Hinton, préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à tester. La sensibilité des bactéries aux antibiotiques est appréciée selon le même protocole appliqué pour les extraits.

Les résultats des antibiogrammes sont présentés dans le tableau 21.

Tableau 21. Sensibilité (zone d'inhibition en mm) des souches bactériennes testées vis-à-vis des antibiotiques.

Souches bactériennes	Antibiotiques standards (contrôle positif)		
	CTX	CS	GEN
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	18	18	0
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 51299	18.5	15	22.5
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 70603	19	13	17
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	33.5	15	25

CTX : Cefotaxime ; CS : Colistine sulfate ; GEN : Gentamicine

Aristolochia longa L.

Les résultats de l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits bruts (MeOH et Aqueux) d'*Aristolochia longa* L. sont repris au niveau de la figure 75 et l'Annexe 07.

➤ Extraits MeOH

L'étude de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique d'*A. longa* L. de trois wilayas d'étude, sur différents germes (Gram⁺ et Gram⁻) par la méthode de l'antibiogramme donne des diamètres qui varient en fonction de la souche testée. Cependant, il est constaté que seule la concentration 100µg/ml a présenté une activité.

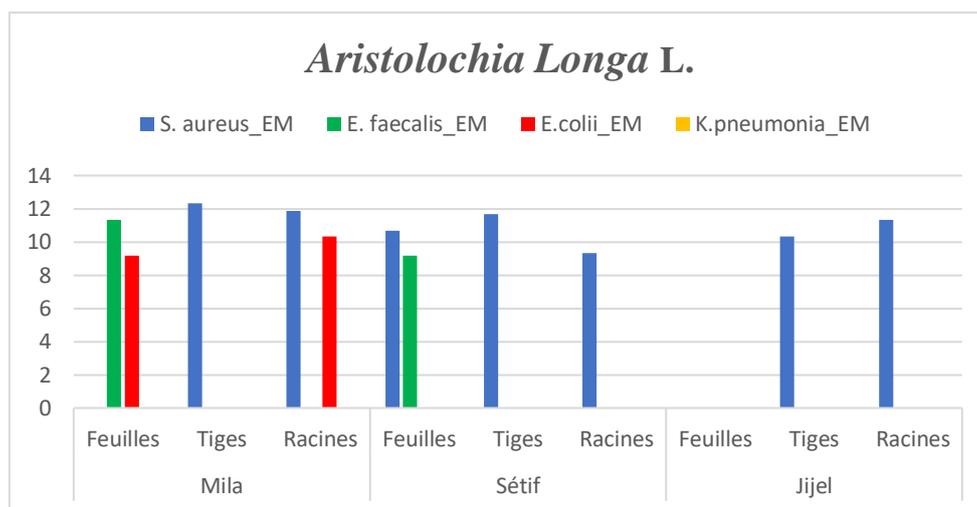


Figure 75. Effet antibactérien des extraits méthanoliques d'*A. longa L.* contre les germes pathogènes testés.

Selon la figure 75, on remarque que tous les extraits sont inactifs vis-à-vis *K. pneumoniae* sans aucune zone d'inhibition produite autour des disques. Cependant, *S. aureus* représente la bactérie la plus sensible à tous les extraits d'*Aristolochia longa L.*, suivie par *E. faecalis* et *E. coli*.

L'extrait MeOH des tiges de Mila semble avoir l'effet inhibiteur le plus puissant contre *S. aureus*, parmi l'autres extraits, avec une zones d'inhibition de 12.83mm à la concentration 100µg/ml. De même pour l'extrait MeOH de racines de Mila qui montre une activité anti- *S. aureus* et anti- *E. coli* importante avec des diamètres d'inhibition de 11.88mm et 10.33mm à la concentration 100µg/ml respectivement (Annexe 7.1). La quercétine est présente dans cet extrait, cette substance pourrait contribuer à son activité antibactérienne (Shan et al., 2007). Aussi les extraits MeOH de tiges de Sétif et Jijel ont été révélés actifs sur *S. aureus* et les zone d'inhibition ont été mesurées de 11.66 et 10.33mm, respectivement à la concentration 100µg/mL. Aussi, l'extrait de feuilles de Sétif montre un effet anti-*S. aureus* et anti- *E. faecalis* remarquable avec un halo d'inhibition de 10.66mm et 9.16mm à la concentration 100µg/mL, respectivement. La variation de la composition chimique des extraits (essentiellement la concentration (de point de vue quantitative) en composés actifs) explique les variations observées dans l'activité antibactérienne entre eux. Essawi et Srour., (2000), ont déclaré que la puissance optimale d'un extrait peut ne pas être due à un constituant actif principal, mais à l'action combinée (synergie) de différents composés à l'origine de cet extrait.

L'absence de l'activité antibactérienne des extraits envers certaines souches (dans notre cas envers *K. pneumoniae*) pourrait être expliquée par beaucoup de facteurs qui sont liés soit à

la nature de la plante ou au mauvais choix de techniques, conditions et outils de manipulations. Le DMSO a été testé comme solvant (contrôle négatif), les résultats montrent que le solvant est approprié et ne présente aucun effet sur la croissance normale des toutes les souches microbiennes. Très peu de travaux sont réalisés sur l'activité antimicrobienne de l'espèce *Aristolochia longa* L. pour cette raison, les résultats de notre étude sont comparés à ceux obtenus pour les différents espèces de même genre.

Nos résultats sont en accords avec celles trouvés par Merouani et al., (2017) ; ou ils ont enregistré que les extraits MeOH de la partie aérienne (tiges et feuilles) d'*A. longa* à donner seulement une activité anti *S. aureus* et anti *Bacillus cereus* avec des zones d'inhibition de 8mm à 100mg/ml tous les deux, alors qu'ils sont inactifs contre *E. coli* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Aussi, Murugan et Mohan., (2012), ils ont trouvés que les extraits methanolique des feuilles et des tiges d'*A. indica* de l'inde était actif sur *K. pneumonia*, *S. aureus* et *E. coli* avec des zones d'inhibitions 6mm, 2mm, 1mm, 2mm, 2mm et 1mm respectivement.

Les résultats obtenus dans notre étude sont très proches de celui trouvé sur les extraits MeOH des racines de la même espèce de Maroc, et sur les mêmes souches bactériennes, ou ils ont trouvé que ces extraits sont inactifs vis-à-vis : *P. aeruginosa* et *K. pneumoniae* quelque soit la dose utilisée, et sont actifs contre *S. aureus* avec une zone d'inhibition de 20.5mm à 200mg/mL (El Omari et al., 2020). En outre, il a été démontré que les différents extraits (Ether de pétrole, Acétone, Benzène) des feuilles et des tiges d'*A. Indica* ont une activité antibactérienne contre *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli* et *P. aeruginosa* (Murugan et Mohan, 2012).

Aussi, Bouteldja et al., (2021) ; à déclarer dans une étude faite sur différents extraits de racines d'*A. longa* que l'extrait éthanolique présente un grand pouvoir d'inhibition contre la majorité des germes testés (*S. aureus*, *E. coli*, *M. luteus*, *B. subtilis*, *B. cereus*, *E. faecalis* et *P. aeruginosa*) par rapport aux extraits MeOH et aqueux. La sensibilité de *S. aureus* (Gram positif) et la résistance de *K. pneumoniae* (Gram négatif) peuvent avoir une relation avec la structure de paroi qui est un critère majoritaire de classification bactérienne.

V.7.3.2. Détermination des CMI_s et CMB_s

La concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricides (CMB) ont été déterminées pour les extraits qui ont montré la meilleure activité antibactérienne pour les souches testées (méthode d'antibiogramme), à l'exception de la bactérie *K. pneumonia* qui étaient résistantes à tous les extraits.

D'après les résultats du tableau 22, on trouve que la souche *S. aureus* représente la bactérie la plus sensible à tous les extraits (sauf l'extrait de feuilles de Mila), suivie par *E. faecalis* et *E. coli*. Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) sont observées surtout avec les extraits des feuilles de Mila, qui présentent une activité contre *S. aureus*, contre *E. faecalis* et anti-*E. coli* avec des CMI aux dilutions C/32, C/16 et C/64 µg/mL, et CMB aux dilutions C/16, C/8 et C/32 respectivement. Cependant, les extraits de feuilles de Sétif montrent une efficacité antibactérienne vis-a-vis *S. aureus* avec une CMI à la dilution de C/16 µg/mL, et CMB à la dilution de C/8 µg/mL et un effet anti-*E. faecalis* à la dilution de C/16 µg/mL et CMB à la dilution de C/8 µg/mL.

Tableau 22. CMI et CMB de l'activité antimicrobienne des extraits MeOH de la plante *Aristolochia longa* L. de trois wilayas vis-à-vis les souches bactériennes testé.

Wilayas	Parties de la plante	CMI _s , CMB _s (µg/mL)								
		souches à Gram-positif						souches à Gram-négatif		
		<i>S. aureus</i>			<i>E. faecalis</i>			<i>E. coli</i>		
		Concentrations des extraits (µg/mL)								
		CMI	CMB	CMB/CMI	CMI	CMB	CMB/CMI	CMI	CMB	CMB/CMI
Mila	Feuilles	C/32	C/16	2	C/16	C/8	2	C/64	C/32	2
	Tiges	C/16	C/8		-	-	-	-	-	
	Racines	C/16	C/8		-	-	-	C/32	1/16	2
Jijel	Feuilles	C/32	C/16	2	-	-	-	-	-	-
	Tiges	C/16	C/8		-	-	-	-	-	-
	Racines	C/8	C/4	2	-	-	-	-	-	-
Sétif	Feuilles	C/16	C/8	2	C/16	C/8	2	-	-	-
	Tiges	C/8	C/4	2	-	-	-	-	-	-
	Racines	C/32	C/16		-	-	-	-	-	-

(-) : pas de CMI ou pas de CMB.

Les valeurs les plus importantes de CMI et CMB sont notées par les extraits méthanoliques de tiges de Sétif et les racines de Jijel contre *S. aureus* (C/8 µg/mL et C/4 µg/mL respectivement). La quercétine est présente dans l'extrait méthanolique de feuilles de Mila, cette substance pourrait contribuer à son activité antibactérienne. De nombreuses études ont indiqué que l'activité antibactérienne de la quercétine contre *E. coli* pourrait être au moins partiellement attribuée à l'inhibition de l'ADN gyrase et inhibe son activité ATPase (Plaper et al., 2003).

➤ Extraits aqueux

L'étude de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux d'*A. longa* L. de trois wilayas d'étude, sur différents germes (Gram⁺ et Gram⁻) par la méthode de l'antibiogramme donne des diamètres qui varient en fonction de la souche testée. Cependant, il est constaté que seule la concentration 200mg/ml a présenté une activité. Les valeurs de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricides (CMB) sont également estimées pour confirmer l'effet antimicrobien et déterminer les niveaux d'efficacité des extraits des plantes étudiées (Fig. 76 ; Tab. 23).

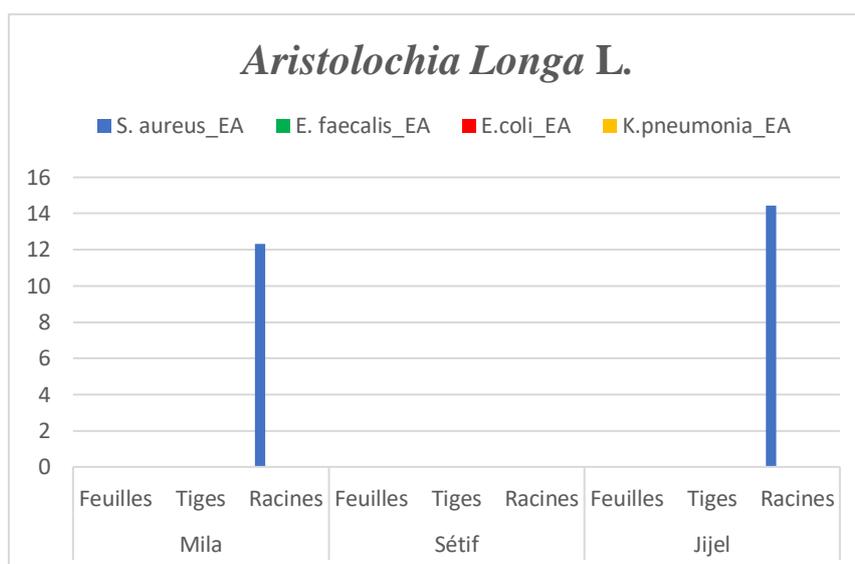


Figure 76. Effet antibactérien des extraits aqueux d'*A. longa* L. contre les germes pathogènes testés.

Tableau 23. CMI et CMB de l'activité antimicrobienne des extraits aqueux de la plante *Aristolochia longa* L. de trois wilayas sur les quatre souches bactériennes testées.

Wilayas	Parties de la plante	CMI _s , CMB _s (µg/mL)		
		souches à Gram-positif		
		<i>S. aureus</i>		
		CMI	CMB	CMB/CMI
Mila	Racines	C/32	C/16	2
Jijel	Racines	C/16	C/8	2

Selon les résultats de tableaux 15, on remarque que la majorité des extraits d'*A. longa* sont dépourvus d'effet inhibiteur sur les quatre souches testées quel que soit la dose utilisée. Les extraits de racines de Mila et Jijel semble avoir les plus actifs par rapport aux restes des extraits. Cet effet est représenté par une activité contre *Staphylococcus aureus* avec des diamètres d'inhibition de 12.33mm et 14.44mm respectivement. Cependant, les souches : *E. faecalis*, *E. coli* et *K. pneumoniae* sont les plus résistantes vis-à-vis de tous les extraits (Annexe 7.2).

Cette efficacité antimicrobienne vis-à-vis la souche *S. aureus* est inversement proportionnelle aux concentrations minimales inhibitrices (CMI) et aux concentrations minimales bactéricides (CMB). Cette observation apparaît clairement avec l'extrait de racines de Jijel, il a enregistré une zone d'inhibition de 14.44mm et une CMI à une dilution de C/16 $\mu\text{g/mL}$, cependant, l'extrait de racines de Mila a montré une zone d'inhibition de 12.33mm de diamètre et une CMI à une dilution de C/32 $\mu\text{g/mL}$.

Au niveau de l'extrait aqueux de cette plante, le plus grand diamètre d'inhibition (14.4 mm) est obtenu sur *S. aureus* à la concentration de 200 $\mu\text{g/mL}$. Cette bactérie est responsable des infections cutanées et les infections nosocomiales, cela pourrait donc justifier l'utilisation traditionnelle d'*A. longa* dans le traitement de ces affections.

Murugan et Mohan., (2012) ; ils ont trouvés que l'extrait aqueux des feuilles d'*A. indica* de l'inde était inactif vis-à-vis les souches *S. aureus* et *E. coli* mais il a une activité anti- *K. pneumoniae* avec un diamètre d'inhibition de 3mm. Alors que l'extrait aqueux des tiges de la même espèce n'a donné aucune activité vis-à-vis toutes les souches testées.

La faible concentration ou l'absence des molécules possédant l'activité antibactérienne dans les extraits testés pourrait être due à la perte des composés thermolabiles au cours du broyage ou au cours de la conservation de la plante (Barba et al., 2016). Aussi, il est toujours possible que l'ajout de DMSO à un extrait végétal diminue sa capacité antibactérienne. Par conséquent, nous avons comparé les CMI et CMB des extraits bruts d'*A. longa* L. sur les souches testées. Le rapport CMB/CMI a permis de préciser la modalité d'action de la substance (Fauchere., 2002). Selon Kamanzi., (2002), l'extrait est bactéricide quand sa CMB est égale à sa CMI ou si le rapport CMB/CMI est inférieur ou égal à 4. Il est dit bactériostatique quand sa CMB est supérieure à sa CMI ou si le rapport CMB/CMI est plus élevé que 4.

- ❖ Il en ressort que les extraits MeOH de feuilles et racines d'*A. longa* L. exercent un effet bactéricide sur *S. aureus*, *E. faecalis* et *E. coli*. et l'extrait aqueux des racines exerce un

effet bactéricide sur *S. aureus*.

- ❖ L'activité antibactérienne observée dans les extraits d'*A. longa* L. pourrait être due à la présence de différentes classes de métabolites secondaires connus par leurs activités antibactériennes à savoir les flavonoïdes notamment la quercétine (Dhayakaran *et al.*, 2015), les tanins, les acides phénoliques et les terpènes (Hatano *et al.*, 2005).
- ❖ Les résultats obtenus nous ont permis de mettre en évidence les propriétés antibactériennes des extraits d'*A. longa*. Ces derniers révèlent la présence de principes actifs antibactériens dans les feuilles et les racines de cette espèce ce qui justifie certains usages ethno-pharmacologiques. Ainsi, ils démontrent que cette plante peut être utilisée pour soigner quelques maladies infectieuses.

✚ *Capparis spinosa* L.

Les résultats des tests de l'activité antibactérienne des extraits bruts (eau, méthanol) de *Capparis spinosa* L. vis-à-vis les quatre souches de références, sont exprimées par la mesure du diamètre des halos d'inhibition.

➤ Extraits MeOH

Les résultats des tests d'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits bruts sont présentés dans la figure 77 et le tableau 24.

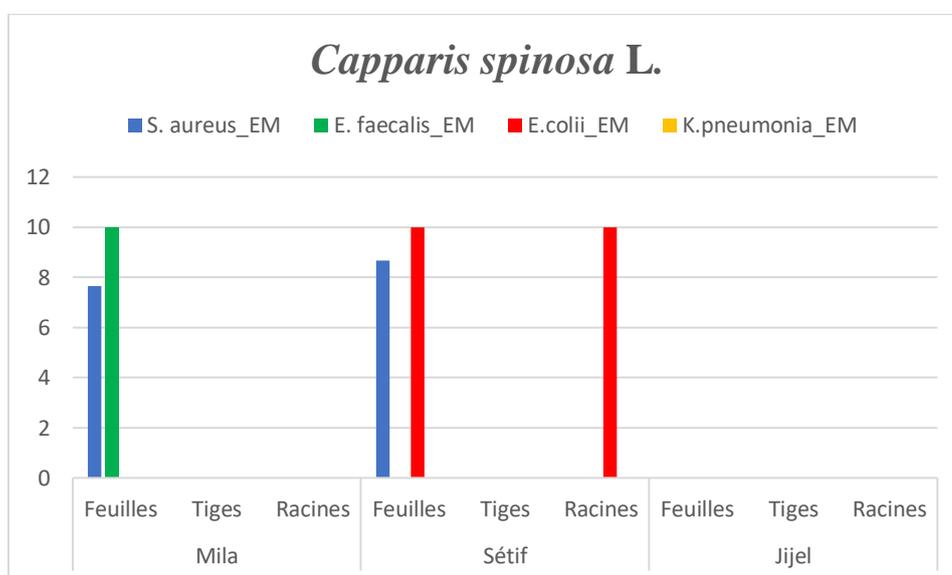


Figure 77. Effet antibactérien des extraits méthanoliques de *C. spinosa* L. contre les germes pathogènes testés (mm).

Tableau 24. Valeurs des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et des concentrations minimales bactéricides (CMB) d'extrait MeOH de *C. spinosa* L de trois wilayas d'étude.

Wilayas	Partie de la plante	CMI _s , CMB _s (µg/mL)								
		souches à Gram-positif						souches à Gram-négatif		
		<i>S. aureus</i>			<i>E. faecalis</i>			<i>E. coli</i>		
		Concentrations des extraits (µg/mL)								
		CMI	CMB	CMB/CMI	CMI	CMB	CMB/CMI	CMI	CMB	CMB/CMI
Mila	Feuilles	C/32	C/16	2	C/64	C/32	2	-	-	-
	Tiges	-	-	-	C/64	C/32	2	-	-	-
Sétif	Feuilles	C/16	C/8	2	-	-	-	C/64	C/32	2
	Racines	C/32	C/16	2	-	-	-	C/64	C/32	2

(-) : pas de CMI ou de CMB.

L'étude de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique de *C. spinosa* L. de trois wilayas d'étude, sur différents germes Gram⁺ et Gram⁻ par la méthode de l'antibiogramme donne des diamètres qui varient en fonction de la souche testée. Cependant, il est constaté que seule la concentration 100µg/mL a présenté une activité.

Selon la figure 77, on peut dire que l'extrait MeOH des feuilles de Mila semble avoir le plus actifs, parmi l'autres extraits, en présentant des zones d'inhibition de la croissance bactérienne avec la souche *S. aureus* 7.66mm, et contre- *E. faecalis* avec 10mm. Cependant, les extraits MeOH des feuilles et de racines de Sétif montrent une activité anti- *S. aureus* et anti- *E. coli* à la concentration 100µg/mL avec des zones d'inhibition de 8.66mm, 9.01mm, 10.32mm et 10.21mm respectivement (Annexe 7.3). Ces bactéries sont connues par leur présence dans le système digestif, ce qui explique l'utilisation de cette plante comme médicament pour de nombreuses maladies digestives et respiratoires. Par contre les extraits de feuilles, tiges et racines de Jijel semblent avoir inactifs sur les quatre souches, sans aucune zone d'inhibition produite autour des disques. L'extrait méthanolique de racines de Sétif a été trouvé le plus riche en polyphénols (TPC=104.55µg Equivalent AG/mg d'extrait). Cette activité peut être due grâce à ces composés bioactifs.

Les résultats du tableau 24, montrent les CMI et les CMB des extraits MeOH bruts de *C. spinosa* L. en présence de quatre souches de références. Il est à noter qu' *E. coli*, *E. faecalis* et *S. aureus* présentent les souches les plus sensibles. Les extraits de feuilles de Mila et Sétif, montrent une activité antibactérienne vis-à-vis *S. aureus* avec une CMI à une dilution de C/32µg/mL et C/16µg/mL, et CMB à une dilution C/16µg/mL et C/8µg/mL respectivement. Aussi, les extraits MeOH des feuilles et des racines de Sétif, montrent une activité

antibactérienne vis-à-vis *E. coli* avec des CMI à une dilution de C/64µg/mL, et CMB à une dilution C/32µg/mL. La souche *K. pneumoniae* est la plus résistante vis-à-vis de tous les extraits.

Les solvants utilisés pour la procédure d'extraction et pour la solubilisation des dilutions peuvent influencer la composition chimique des extraits induisant ainsi la diminution de leurs activités antibactériennes (Balouiri et al., 2016). Selon Ciobanu et ses collaborateurs (2012), l'ajout de DMSO à un extrait végétal diminue son activité antibactérienne.

Le mauvais choix de la méthode adoptée pour la réalisation de l'activité antibactérienne peut ainsi expliquer la résistance bactérienne observée. En effet, Jorgensen et Turnidge., (2015), ont constaté que la méthode de diffusion à partir des puits est plus adaptée et reproductible pour l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits organiques que la méthode de diffusion en milieu gélosé.

Nos résultats sont très bien corrélés avec celui de Meddour et al., (2013), où elle a trouvé que l'extrait d'éther de pétrole présente une inhibition contre *S. aureus* avec un diamètre de 12.38mm à la dose de 1g/mL. Mahasneh., (2002), dans une étude faite sur les extraits aqueux et éthanolique de *C. spinosa* de Qatar, ou ils ont trouvé qu'ils sont inefficaces contre *E. coli*, par contre, l'extrait butanolique présente une activité moyenne contre *S. aureus* et *P. aeruginosa* respectivement.

Des résultats semblables ont été trouvés dans une étude récente sur les tiges de la même espèce en Irak (Samawah-Basra-), est sur les mêmes souches bactériennes, Où a-t-il été enregistré une activité contre *S. aureus*, contre *E. coli* à la concentration 100mg/mL d'extrait MeOH (Muraih et al., 2020).

Les extraits à l'acétone, l'éthanol, l'acétate d'éthyle, l'éther de pétrole, méthanol et l'eau bouillante des feuilles de *C. spinosa* d'Egypte montrent des activités significatives contre les souches bactériennes testées, *K. pneumoniae* et *E. faecalis* étaient les souches les plus sensibles (Sherif et al., 2013).

D'après AL-Azawi et al., (2018) l'extrait méthanolique des feuilles de *C. spinosa* avait une activité élevée contre les bactéries testées, en particulier *S. aureus*, *K. pneumoniae* et *E. coli*, par contre la souche *P. aeruginosa* montre une résistance à cet extrait. Al-Bayati et Al-Jarjry., (2007) ; ont montré que les extraits éthanolique et chloroformique des parties aériennes du Câprier d'Irak n'ont aucune activité antibactérienne, alors que les extraits des racines présentent

des propriétés antibactériennes élevées, en précisant que les bactéries Gram⁺ étaient plus sensibles aux extraits que les bactéries Gram⁻.

Une interprétation globale des résultats montre que les valeurs des CMI concordent d'une manière générale avec celles des diamètres d'inhibition ; les extraits ayant induit une importante zone d'inhibition présentent les plus petites CMI sur les souches correspondantes.

- ❖ les extraits MeOH de feuilles et racines de *C. spinosa* L. ont une activité bactéricide sur l'ensemble des souches bactériennes soumises à cette étude car les rapports CMB/CMI sont tous inférieurs ou égal à 4 (Kamanzi., 2002).

✚ Extraits aqueux

D'après les résultats mentionnés dans le tableau 25, on remarque que tous les extraits n'ont montré aucune activité inhibitrice contre l'ensemble des souches bactériennes testées.

L'absence de l'activité de ces extraits envers ces souches *in vitro* ne peut pas conditionner leurs activités antibactériennes *in vivo*. Certains métabolites de la plante peuvent être actifs sans être métabolisés et dans ce cas leur activité *in vitro* et *in vivo* sera détectable, cependant certains métabolites ne sont actifs qu'après leur métabolisation et dans ce cas ils seront inactifs *in vitro* alors qu'ils sont actifs *in vivo* (Tan et Lim., 2015).

Tableau 25. Diamètre des zones d'inhibition des extraits aqueux de la plante *Capparis spinosa* L. de Sétif, Mila et Jijel (mm).

Wilayas	Partie de la plante	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)											
		souches à Gram-positif						souches à Gram-négatif					
		<i>S. aureus</i>			<i>E. faecalis</i>			<i>E. coli</i>			<i>K. pneumonia</i>		
		Concentrations des extraits (mg/mL)											
		25	50	100	25	50	100	25	50	100	25	50	100
Mila	Feuilles	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Tiges	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Racines	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Jijel	Feuilles	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Tiges	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Racines	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sétif	Feuilles	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Tiges	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Racines	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(-) : pas d'inhibition.

➤ *Aristolochia longa* L.

Dans le but d'identifier les composés phénoliques des extraits de feuilles de trois wilayas, une LC-MS/MS est effectuée. Sur la base de la comparaison de leurs profils chromatographiques et les temps de rétention avec ceux des standards utilisés, un nombre limité de composés phénoliques d'intérêt thérapeutique sont identifiés dans chaque plante.

Concernant la plante *A. longa* L. de Mila la quercétine 3-glucoside était le composé majoritaire, il a d'ailleurs fait l'objet de plusieurs études scientifiques ce qui a permis de déterminer ses effets thérapeutiques : antioxydant (Nile et al., 2021), anticancéreux (Lee et al., 2019) et anti-inflammatoire (Lee et al., 2016), alors qu'*A. longa* L. de Jijel est riche en rutine qui a de nombreuses activités pharmacologiques notamment des activités antioxydantes, cytoprotectives, vasoprotectrice, anticarcinogène, neuroprotectrice et cardioprotectrice (Ganeshpurkar et Saluja., 2017 ; Javed et al., 2012 ; Richetti et al., 2011 ; Nassiri et al., 2010).

Tableau 26. Composés phénoliques identifiés par LC-MS/ MS dans l'extrait méthanolique des feuilles d'*A. longa* L. de la wilaya de Mila.

Molécule proposée	RT (min)	Found RT	Concentration (ppm)	Pics des composés identifiés par la LC-MS/MS
Rutine	6.512	6.71	0.3683	
Apigénine-7-O-glucoside	6.796	6.979	0.113	
Quercétine	8.628	8.747	0.86	
Taxifoline	5.993	5.929	0.2514	
Quercétine-3-glucoside	6.573	6.769	1.0802	
Apigénine	8.023	8.184	0.3881	

Tableau 27. Composés phénoliques identifiés par LC-MS/ MS dans l'extrait méthanolique des feuilles d'*A. longa* L. de la wilaya de Jijel.

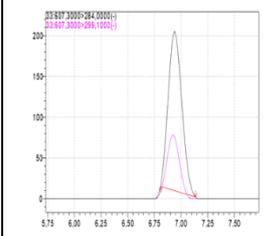
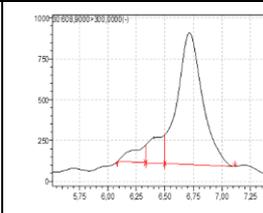
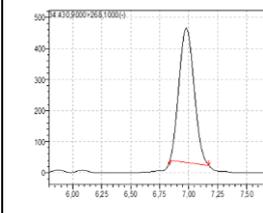
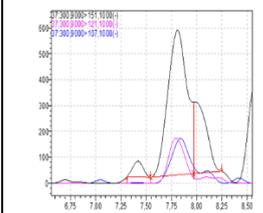
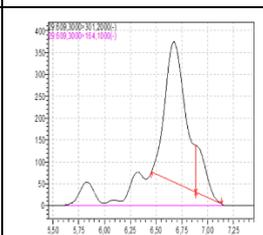
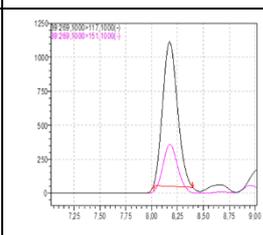
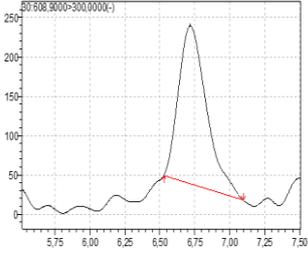
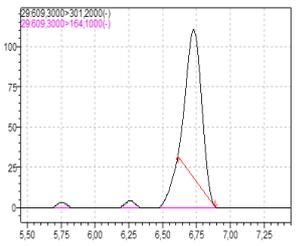
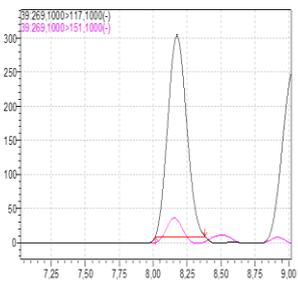
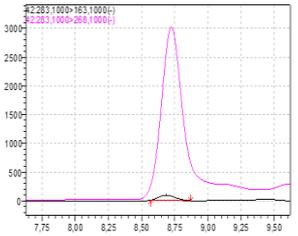
Molécule proposée	RT (min)	Found RT	Concentration (ppm)	Pics des composés identifiés par la LC-MS/MS
Diosmine	6.734	6.933	0.216	
Rutine	6.512	6.404	1.102	
Apigénine-7-O-glucoside	6.796	6.979	0.1905	
Quercétine	8.628	8.747	0.491	
Néohespéridine	6.453	6.672	0.0873	
Apigénine	8.023	8.173	0.5568	

Tableau 28. Composés phénoliques identifiés par LC-MS/ MS dans l'extrait méthanolique des feuilles d'*A. longa* L. de la wilaya de Sétif.

Molécule proposée	RT (min)	Found RT	Concentration (ppm)	Pics des composés identifiés par la LC-MS/MS
Rutine	6.512	6.717	0.145	
Néohespéridine	6.453	6.731	0.0143	
Apigénine	8.023	8.176	0.1492	
Wogonine	8.627	6.764	0.159	

Il est intéressant de noter que l'analyse des extraits de feuilles d'*A. longa* L. de trois wilayas a révélé qu'ils ont montré une certaine variation de composés identifiés, leur contenu et surtout leur concentration. Cette différence de composition (essentiellement de concentration) est due probablement à diverses conditions notamment l'environnement, l'origine géographique, la période de récolte, la température et l'humidité (Coulibaly et al., 2014 ; Khiralla et al., 2015).

El Omari et al., (2020) ont pu identifier dans les extraits méthanoliques des racines d'*A. longa* récolté au Maroc par l' HPLC-DAD/TOF-MS, 32 composés essentiellement : Luteolin, 4-Hydroxycinnamic, l'acide ferulique, l'acide citrique, rutine, quercétine, l'acide vanillique et le Kaempferol. De même, une autre étude menée par Dhouioui (2016), sur l'huile essentielle des racines d'*A. longa* originaire du Maroc a permis d'identifier 103 composés dont les sesquiterpènes oxygénés constituent les composés majoritaire (50.2%).

Il existe très peu de données dans la littérature concernant la composition chimique d'*A. longa*, De Pascual Teresa et al. (1983) ont identifié uniquement trois composés (calarene, maaliol et aristolen) de l'huile essentielle des racines d'origine Espagnole. Selon la bibliographie, aucune étude n'a été réalisée sur la composition chimique des tiges de cette espèce.

***Capparis spinosa* L.**

Le composé majoritaire de la plante *C. spinosa* est la rutine pour les deux wilayas Sétif (Tab. 23) et Mila (Tab. 24), qui est connu pour ses effets anticancéreux (Al-Dhabi et al., 2015), antidiabétique (Niture et al., 2014), anti-inflammatoire (Choi et al., 2014), antioxydant et anti-hypertensif (Park et al., 2014 ; Sharma et al., 2013). Concernant *C. spinosa* L. de Jijel, le composant majoritaire était néohespéridine (Tab. 25), ce dernier à un large éventail de propriétés pharmacologiques notamment anti-inflammation, protection cardiovasculaire, l'activité de piégeage des ROS et un effet neuroprotecteur (Gong et al., 2019 ; Wang et al., 2018).

Tableau 29. Paramètres des Composés phénoliques identifiés par LC-MS/ MS dans l'extrait méthanolique des feuilles de *Capparis spinosa* L. de la wilaya de Sétif.

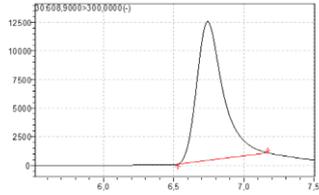
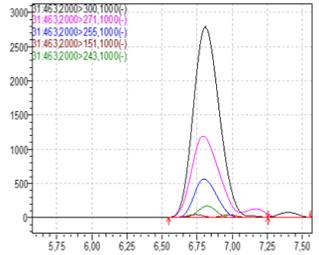
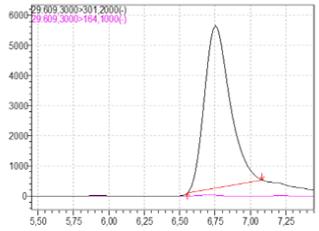
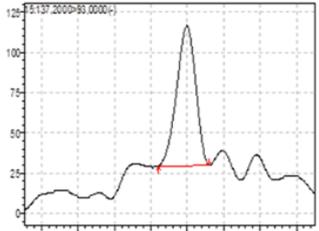
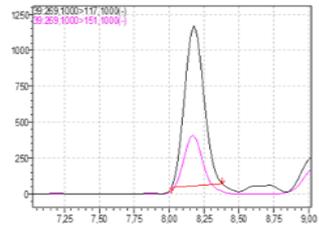
Molécule proposé	RT	Found RT	Concentration (ppm)	Pics des composés identifiés par la LC-MS/MS
Rutine	6.512	6.743	8.297	
Quercétine-3-glucoside	6.573	6.808	1.900	
Néohespéridine	6.453	6.753	1.342	
Acide salicylique	4.384	4.495	0.118	
Apigénine	4.384	4.495	0.561	

Tableau 30. Paramètres des composés phénoliques identifiés par LC-MS/ MS dans l'extrait méthanolique des feuilles de *Capparis spinosa* L. de la wilaya de Mila.

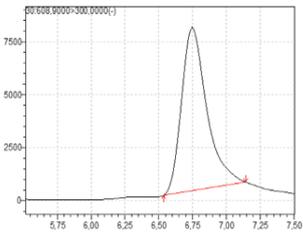
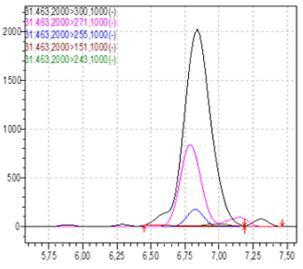
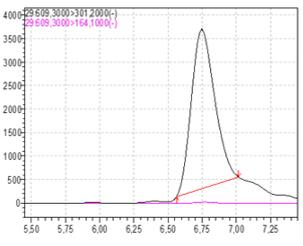
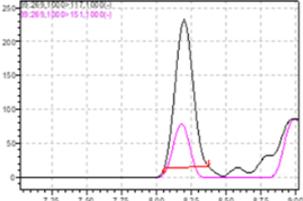
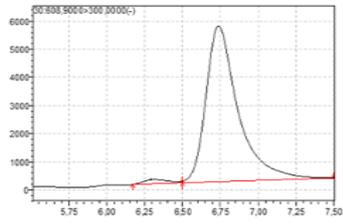
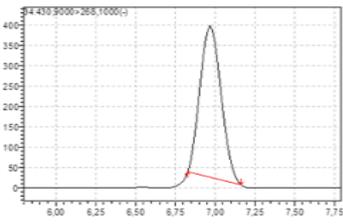
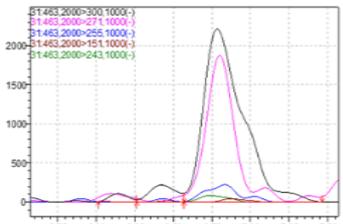
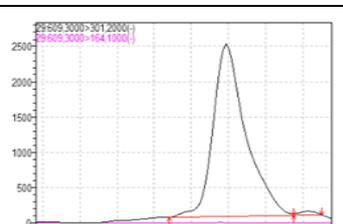
Molécule proposé	RT	Found RT	Concentration (ppm)	Pics des composés identifiés par la LC-MS/MS
Rutine	6.512	6.748	5.1902	
Quercétine-3-glucoside	6.573	6.839	1.4622	
Néohespéridine	6.453	6.747	0.7992	
Apigénine	8.023	8.246	0.1001	

Tableau 31. Paramètres des Composés phénoliques identifiés par LC-MS/ MS dans l'extrait méthanolique des feuilles de *Capparis spinosa* L. de la wilaya de Jijel.

Molécule proposé	TR	Found RT	Concentration (ppm)	Pics des composés identifiés par la LC-MS/MS
Rutine	6.512	6.295	0.089	
Apigénine-7-O-glucoside	6.796	6.968	0.166	
Quercétine-3-glucoside	6.573	6.423	0.134	
Néohespéridine	6.453	6.736	0.742	

D'après les résultats précédents on peut dire que les extraits méthanolique de feuilles de *C. spinosa* L. de trois wilayas ont la même composition chimique, mais on remarque une certaine différence entre ses constituants.

Les études sur la composition chimique de *C. spinosa* ont identifié plusieurs composants, notamment des flavonoïdes tels que le kaempférol, la rutine, la quercétine et leurs dérivés (Panico et al., 2004), des alcaloïdes (Fu et al., 2008), et des terpénoïdes (Calis et al., 2002). Récemment, Benzidane et al., (2020), ont isolé par HPLC-DAD six molécules bioactives des extrait méthanoliques et aqueux des feuilles, racines et fleurs de *C. spinosa* de la région de Sétif: rutine, catéchine, l'acide férulique et l'acide gallique.

Aksay et al., (2021) ont identifié dans l'extrait de *C. spinosa* de la turqui par HPLC-DAD-ESI-MS/MS un nombre plus important de molécules ; les acides phénoliques (l'acide *p*-coumarique et l'acide Férulique) et les flavonoïdes (rutine, quercetin-3-O-glucoside, kaempferol-3-O- glucosyl-rhamnoside et la quercétine).

Une étude tunisienne réalisée par Tlili et al., (2017) a permis d'isoler de nouveaux composés des parties aériennes de la même espèce par HPLC-DAD à savoir : la rutine, coumarine, epicatéchine, lutéolin, catéchine, l'acide vanillique et l'acide gallique. Dans leur investigation phytochimique sur les feuilles de *Capparis spinosa* de Nasiriyah (Irak) ; Oudah et al., (2014) ; ont isolé sept molécules à savoir : l'acide gallique, l'acide vanillique, l'acide ferulique, la rutine et la quercétine. Aussi, Akkari et al. (2016), ont pu identifier dans les extraits aqueux des feuilles de *C. spinosa* : la quercétine, quercetin 3-O-glucoside, quercetin3-O-glucoside-7-O-rhamnoside, l'acid férulique et l'acide *p*-coumarique.

L'analyse de l'huile essentielle des feuilles de *Capparis spinosa* en Iran a montré que les principaux composants de cette huile sont le thymol (26.4%), l'isothiocyanate d'isopropyle (11%), le 2-hexénal (10.2%) et l'isothiocyanate de butyle (6.3%) (Afsharypuor et al., 1998). Une étude effectuée en 2010 en Croatie a montré que le composé majoritaire de l'huile essentielle de feuilles et des bourgeons floraux de *Capparis spinosa* est l'isothiocyanate de méthyle (92.06%) (Kulisic-Bilusic et al., 2010).

Des recherches récentes, ont été déclarées que les flavonoïdes trouvés dans l'espèce *Capparis spinosa* étaient leurs principaux composés pharmacologiquement actifs et ont été associés à des effets antioxydants et anticarcinogènes (Grimalt et al., 2018 ; Anwar et al., 2016). Il a été signalé aussi que les quantités de flavonoïdes kaempferol et quercétine sont remarquables dans les fruits et les bourgeons du câprier. Plusieurs glycosides flavonoïdes tels que la quercétine 3-O-glucoside, la quercétine 3-O-glucoside-7-O-rhamnoside et la rutine ont été isolés de *C. spinosa* L. (Moufid et al., 2015). Notamment, la rutine, connue pour sa forte activité antioxydante, est signalée comme étant abondante dans la plante (Nabavi et al., 2016). Sur En outre, plusieurs fractions de l'extrait aqueux des fruits ont montré d'autres types de flavonoïdes, comme le chrysoeriol et l'apigénine (Zhou et al., 2010).

- ❖ D'autres composés en teneurs considérables sont aussi identifiés dans les deux plantes comme l'apigénine-7-O-glucoside, la quercétine-3-glucoside, l'acide salicylique ...etc. Notant que les quantités de ces composés diffèrent d'une wilaya à une autre pour la même plante.
- ❖ Ce qui est remarquable, c'est que les résultats des trois régions testées, ont donné presque les mêmes résultats avec quelques différences mineures, c'est-à-dire que les deux

plantes de trois wilayas étudiées contiennent les mêmes substances actives de point de vue qualitatif.

VII. Analyses statistiques

VII. 1. Analyse en Composantes Principales (ACP)

L'objectif de l'ACP est de revenir à un espace de dimension réduite en déformant le moins possible la réalité. Il s'agit donc d'obtenir le résumé le plus pertinent possible des données initiales.

- Mieux identifier parmi les méthodes utilisées, celles qui sont complémentaires et celles redondantes.
- Faciliter l'interprétation des facteurs fondamentaux contribuant le plus à expliquer la variation des valeurs d'IC50 et A05 selon les échantillons et les méthodes utilisées (Tlili., 2021).

L'Analyse en Composantes Principales (ACP) est une méthode factorielle de réduction de dimension de données quantitatives complexes. Elle permet de résumer de vastes populations décrites par plusieurs variables quantitatives, et de mettre en évidence les tendances entre les données, les regroupements d'individus ainsi que la force de liens entre eux. Il s'agit donc d'obtenir le résumé le plus pertinent possible des variables. Son but est de regrouper les échantillons (variables quantitatives) dans un nouvel espace de variables formé à partir des combinaisons linéaires des variables initiales (Tolba., 2016).

Nous avons effectué une analyse en composantes principales (ACP) à partir de la matrice de données des 36 extraits x 10 tests (Fig.79). L'examen du plan factoriel de l'ACP obtenu permet de visualiser la répartition des valeurs des activités biologiques des différents échantillons qui se présentent sous forme de points.

Les extraits d'*A. longa* L. ont été décrits sur le premier cluster. Ils ont été caractérisés par une teneur élevée en phénols, flavonoïdes, en flavones et flavonols et une meilleure activité enzymatique vis-à-vis le test anti-acétylcholinestérase (AChE). Le deuxième cluster contenait les extraits MeOH de *C. spinosa* L. et ils ont été caractérisés par leurs efficacités vis-à-vis les tests : CUPRAC, β -carotène et leurs richesses en polyphénols, flavonoïdes, flavones et flavonols. Le cluster III montre que l'espèce *C. spinosa* L. est active via : ABTS, DPPH et la butyryl-cholinestérase (BChE). Le quatrième cluster montre que les extraits MeOH d'*A. longa* L. sont puissants vis-à-vis les tests : FRAP, CUPRAC, DPPH et β -carotène.

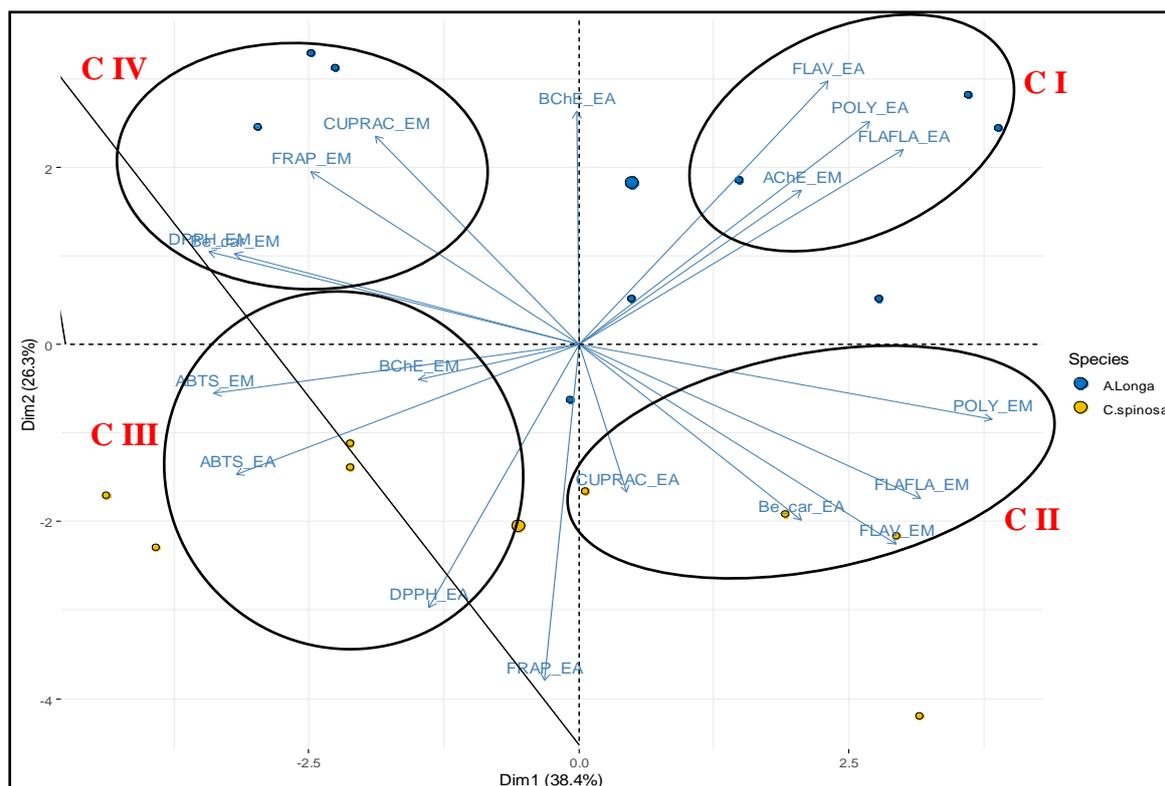


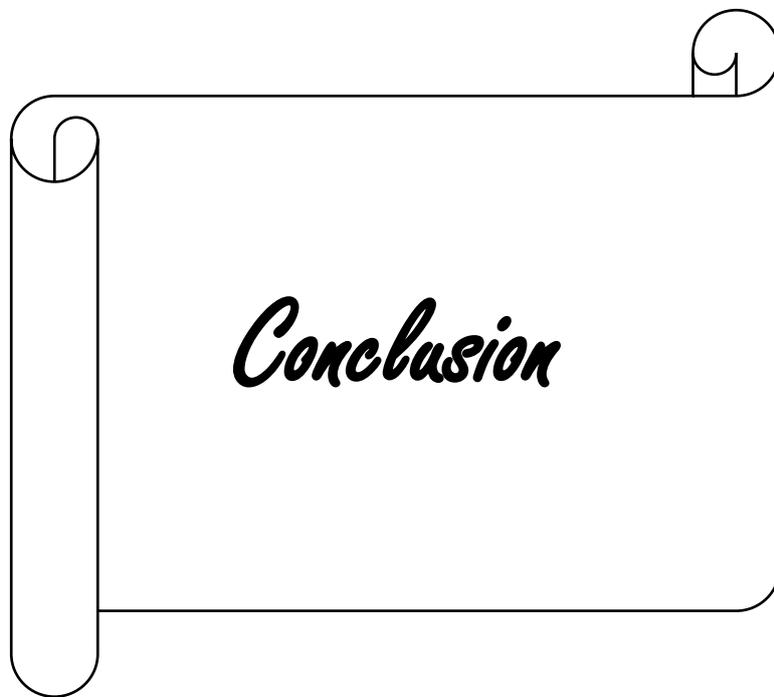
Figure 79. Plan factoriel de l'ACP effectuée sur les teneurs en polyphénols (TPC), en flavonoïdes (TFC), en flavones et flavonols (TF) et les valeurs d'IC50 et d'A0.5 des activités biologiques testées sur les 36 extraits de deux plantes : *A. longa* L. et *C. spinosa* L.

VII.2. Corrélation entre la teneur en métabolites secondaires (TPC, TFC, TFF), données climatiques (Précipitations (P), Températures (T) et Humidité (H)) et les caractéristiques granulométriques et physicochimiques du sol de 03 wilayas étudiées (test de Pearson (n)).

Les résultats de l'étude statistique sur la corrélation entre les composés phénoliques et les facteurs écologiques (climatiques et pédologiques) se résument dans l'Annexe 09. Le test statistique n Pearson montre que les teneurs moyennes des phénols totaux sont faiblement corrélées avec les facteurs écologiques. Les coefficients de corrélation obtenus entre les teneurs en polyphénols, flavonoïdes et la matière organique (M.O) du sol est fortement positif ($R^2 = 0.710$ et $R^2 = 0.736$ respectivement), aussi on a enregistré une corrélation moyenne positive entre la teneur en TFC, TPC et le pH du sol avec $R^2 = 0.586$ et $R^2 = 0.471$. Alors que celui obtenu entre les polyphénols totaux et les autres caractéristiques granulométriques et physicochimiques du sol est moins fort. Aussi, une corrélation positive a été enregistrée entre TPC, TFC et l'argile avec des valeurs de $R^2 = 0.567$ et $R^2 = 0.471$.

Nous avons cherché à établir une relation entre les teneurs en composés phénoliques et les données climatiques (précipitations (P), Températures (T) et Humidité (H)); le coefficient de corrélation (r).

En établissant la relation entre les teneurs en phénols totaux, flavonoïdes, flavones et flavonols et les caractéristiques climatiques on trouve une faible corrélation a été établit avec la température ($R^2 = 0.001$), et une corrélation moyenne avec l'humidité ($R^2 = 0.180$), mais cette corrélation est très faible et négative avec les précipitations ($R^2 = -0.031$) (Annexe 09).



Conclusion

Conclusion générale

Dans le présent travail, deux plantes médicinales : *Aristolochia longa* L. et *Capparis spinosa* L., ont été choisies afin de déterminer l'effet de certains facteurs écologiques (climatiques et édaphiques) sur la teneur, la composition chimique et sur l'efficacité biologique des extraits bruts de ces deux espèces qui ont été récoltées de trois wilayas de climat différents ; Sétif, Mila et Jijel.

Une exploitation complète des données climatiques était réalisée pour définir le climat de trois wilayas d'étude, cela impose l'utilisation des indices climatiques : le diagramme pluviothermique de Bagnouls et Gaussen et l'indice pluviométrique d'Emberger. La wilaya de Sétif appartient à l'étage bioclimatique de végétation semi-aride, la wilaya de Mila appartient à l'étage bioclimatique de végétation subhumide et la wilaya de Jijel appartient à l'étage bioclimatique de végétation humide.

L'étude quantitative a révélé que les extraits bruts obtenus par macération et décoction d'*A. longa* L. et *C. spinosa* L. montrent un rendement différent avec le lieu de récolte sous l'influence des variations climatiques et édaphiques, dont l'*Aristolochia longa* L. qui pousse dans les régions humide et sub-humide présentent un rendement plus élevé au niveau des extraits aqueux (22 et 18.5 %) et d'extrait méthanolique (8.15 et 5.75%) en comparaison avec ceux de région semi-aride ce qui semble être que le climat humide et le sol riche en matière organique sont les plus favorables à la production des métabolites secondaires chez *A. longa* L. Alors que pour l'espèce *C. spinosa* L. on trouve l'inverse, dont les grandes valeurs de rendement ont été enregistrées dans les feuilles de Sétif (36.7%) cette dernière qui se caractérise par un climat semi-aride et un sol pauvre en matière organique.

Les inductions thérapeutiques pourraient se justifier par la richesse des espèces étudiées en métabolites secondaires, qui constituent la base scientifique de l'utilisation traditionnelle de ces deux plantes. Dans ce sens, le criblage phytochimique des poudres issues des feuilles, tiges et racines d'*A. Longa* L. de trois wilayas a révélé la richesse de ces trois organes en flavonoïdes et glucides et l'absence des saponosides, des quinones, des anthraquinones et des anthocyanes. Pour *Capparis spinosa* L. les essais phytochimiques, ont révélé la présence des polyphénols, des tanins et des glucides au niveau des feuilles et racines, et une absence totale des stéroïdes, des quinones, des anthraquinones et des protéines au niveau de trois organes de cet espèce.

Nous avons également, noter qu'*Aristolochia longa* L. provenant des zones sub-humide et humide est le plus riche en polyphénols avec un taux de (176.56 et 169.27µg Equivalent

d'AG/mg d'E respectivement) et en flavonoïdes (43.50 et 36.22µg EQ/mg d'E respectivement) dans les feuilles par rapport aux rendements d'*Aristolochia longa* L. qui poussent dans la zone semi-aride, ce qui signifie que la formation et l'accumulation des métabolites secondaires au niveau des feuilles de cette espèce favorisent le climat humide, dont le taux d'humidité est élevé. Concernant la deuxième plante *C. spinosa* L. on a trouvé que la teneur la plus élevée en polyphénols et flavonoïdes a été enregistré au niveau des feuilles de Sétif qui se caractérise par un climat semi-aride (TPC=228.34µg EAG/mg d'E et TFC=35.39µg EQ/mg d'E respectivement). Ce qui suggère que cette espèce favorise le climat semi-aride, dont le climat est sec et le sol est pauvre en matière organique. Cette variation des teneurs peut être attribuée à l'origine de la plante sous l'influence de variations climatiques notamment la température, le taux d'humidité et les conditions pédologiques.

S'agissant de l'étude comparative entre les différentes parties de deux plantes, nous avons montré que le teneur en métabolites secondaires (TPC et TFC) des feuilles est supérieur à celui des tiges et racines. Les teneurs en métabolites secondaires sont variables selon l'espèce, la nature de solvant et l'organe de la plante étudié.

La composition chimique des extraits méthanolique des feuilles de deux plantes de trois wilayas d'étude est déterminée par LC-MS/MS, en montrant leur richesse en différents composés phénoliques. Pour l'*Aristolochia longa* L. on a pu identifier 6 composés pour les extraits méthanolique de Mila et Jijel et quatre pour l'extrait méthanolique de feuilles de Sétif. Concernant *Capparis spinosa* L. l'analyse a révélé la présence de six composés dans l'extrait méthanolique de feuilles de Sétif et 4 composés pour les extraits de feuilles de Mila et Jijel.

Ensuite, l'activité antioxydante *in vitro* a été étudiée. Les résultats montrent que les extraits bruts de deux plantes ont des activités remarquables à réduire le fer (FRAP) et à piéger les radicaux libres DPPH et ABTS. La meilleure activité est obtenue en piégeant le radical ABTS. Ces activités sont négativement corrélées avec les contenus phénoliques de ces extraits qui semblent être les principaux contributeurs à cette capacité antioxydante. Le pouvoir antioxydant des extraits méthanoliques évaluée par les tests DPPH, ABTS, FRAP, CUPRAC et β carotène a révélé que l'extrait brut d'*A. longa* L. est plus actif que celui de *C. spinosa* L. L'activité anti-Alzheimer a été évaluée par les deux tests anti- Acétylcholinestérase et anti- Butyrylcholinestérase, les résultats montrent que les extraits méthanolique des feuilles et racines de la plante *Aristolochia longa* L. possèdent une activité anti-Alzheimer importante.

Finalement, l'activité antibactérienne a été évaluée par la méthode de diffusion des disques en milieu gélosé sur des souches de références de types ATCC. Les résultats montrent que *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) est la souche la plus sensible vis-à-vis tous les

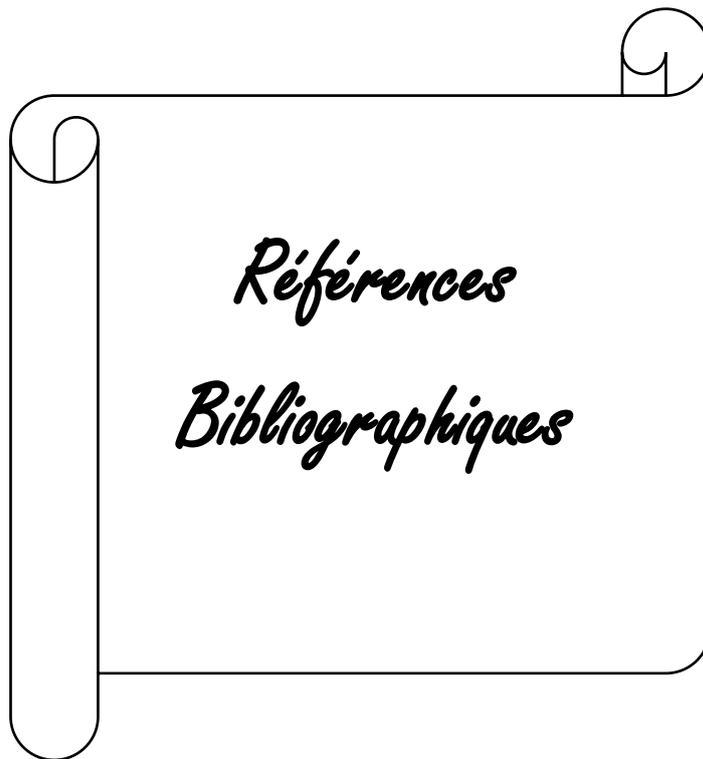
organes d'*A. longa* L. de trois wilayas (avec des diamètres d'inhibitions qui varient entre 12.83mm et 9.33mm à la concentration 100µg/mL). Concernant *C. spinosa* L. la souche *Staphylococcus aureus* présente une sensibilité via les extraits MeOH des feuilles de Mila (7.66mm à 100µg/mL), des feuilles et des racines de Sétif (8.66 et 9.01mm à 100µg/mL), alors qu'*E. coli* présente une sensibilité via les extraits MeOH des feuilles et des racines de Sétif (10.32 et 10.21mm à 100µg/mL).

Dans l'ensemble, le climat humide a obtenu le rendement, l'activité antioxydante et le contenu phénolique total les plus élevés pour *Aristolochia longa* L. Pour *Capparis spinosa* L. les résultats ont montrés que cette espèce préfère le climat semi-aride.

La détermination des coefficients de corrélation entre les IC50 et le contenu en composés phénoliques a montré l'existence d'une corrélation négative, cette relation inverse fait que les valeurs des IC50 diminuent avec l'augmentation du contenu de phénoliques.

Les résultats obtenus constituent une justification scientifique de l'usage traditionnel de deux plantes étudiées et confirment la pertinence des remèdes traditionnels dans le traitement de nombreuses maladies. Ils sont encourageants mais ne constituent qu'une première étape dans la recherche de substances biologiquement actives. Il serait par conséquent intéressant de continuer cette étude dans le but :

- d'isoler les molécules responsables des différentes activités biologiques de ces plantes, afin de détecter leurs modes d'action et les interactions éventuelles entre elles et de confirmer ou d'infirmer les activités attribuées à ces plantes ;
- d'étudier la toxicité des molécules purifiées sur différents modèles biologiques, afin de prévenir tout effet secondaire indésirable ;
- d'élargir le panel des tests biologiques afin de mettre en évidence d'autres activités anticancéreuse, antidiabétique, anti-inflammatoire ou autres.



Références
Bibliographiques

Références bibliographiques

Abotaleb M., Samuel S., Varghese E., Varghese S., Kubatka P., Liskova A. & Büsselberg D. Flavonoids in cancer and apoptosis. *Cancers*. 2019 ; 11(1): 13-28.

Aboya-Moroh J.L. Résistance bactérienne et phytomolécules antimicrobiennes issues de *Morinda morindoides*. Thèse de doctorat en Sciences agricoles. Université de Bretagne occidentale - Brest, 2013 ; 214p.

Achakzai A.K.K. effect of water stress on imbibition, germination and seedling growth of maize cultivars. *Sarhad J. Agric.* 2009 ; 25(2) : 166-172.

Adnan, M., Bibi, R., Mussarat, S., Tariq, A., & Shinwari, Z. K. (2014). Ethnomedicinal and phytochemical review of Pakistani medicinal plants used as antibacterial agents against *Escherichia coli*. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, 13(1), 1-18.

AFNOR (2004). Evaluation de la qualité des sols - Volume 1 : méthodes d'analyse chimique ; volume 2 : méthodes d'analyses physique et biologique ; 946p.

Afsharypuor S, Jeiran K, Jazy AA. First investigation of the flavour profiles of the leaf, ripe fruit and root of *Capparis spinosa* var. *mucronifolia* from Iran. *Pharmaceutica Acta Helvetiae*. 1998 ; 72:307– 309.

Afsharypuor, S., Jeiran, K., and Jazy, A. A. First investigation of the flavor profiles of leaf, ripe fruit and root of *Capparis spinosa* var. *mucronifolia* from Iran. *Pharm. Acta. Helv.* 1998 ; 5, 307–309. doi: 10.1016/S0031-6865(97)00023-X.

Aghela N, Rashidib I and Mombeini A. Hepatoprotective Activity of *Capparis spinosa* Root Bark Against CCl₄ Induced Hepatic Damage in Mice. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* (2007) ; 6 (4): 285-290.

Aissaoui A. Evaluation du niveau de contamination des eaux de barrage hammam Grouz de la région de Oued Athmania (wilaya de Mila) par les activités agricoles. Mémoire de Magister, Université Mouloud Mammeri De Tizi-Ouzou. 133p.

Aissaoui H. Recherche et détermination structurale des métabolites secondaires de type flavonique d'une espèce de la famille des verbenacées. Mémoire présenté pour obtenir le diplôme de magister En chimie. 2010 ; Université Mentouri Constantine, (Algérie), 97p.

Akkari H, B'chir F, Hajaji S, Rekik M, Sebai E, Hamza H, Darghouth MA, Gharbi M. Potential anthelmintic effect of *Capparis spinosa* (Capparidaceae) as related to its polyphenolic content and antioxidant activity. *Veterinari Medicina*.2016 ; 61 (6) : 308– 316.

Aksay O., Selli S., & Kelebek, HPLC-DAD-ESI-MS/MS-based assessment of the bioactive compounds in fresh and fermented caper (*Capparis spinosa*) buds and berries. *Food Chemistry*, 2021 ; 337, 127959.

Al Naser O. Effet des conditions environnementales sur les caractéristiques morpho-physiologiques et la teneur en métabolites secondaires chez *Inula montana* : une plante de la médecine traditionnelle Provençale. 2018, thèse pour obtenir le grade de docteur en sciences. Université d'Avignon, 179p.

Alam MN, Bristi N.J, Rafiquzzaman M. Review on *in vivo* and *in vitro* methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharm J*. 2013 ; 21(2):143-52. doi: 10.1016/j.jsps.2012.05.002.

AL-Azawi A.H., Ghaima K.K., Salih H.H. Phytochemical, antibacterial and antioxidant activities of *Capparis spinosa* L. Cultivated in Iraq. *Bioscience research*, 2018 ; 15(3): 2611-2618.

Albano S. M et Miguel M.G. Biological activities of extracts of plants grown in Portugal. *Industrial Crops and Products*. 2011 ; 33 :1-6.

Al-Bayati F.A et Al-Jarjry M.T. Antibacterial Activity from Different Parts of *Capparis spinosa* L. *Journal of Education Sciences*, 2007 ; 19(2). 35-44.

Al-Dhabi N. A, Arasu M. V, Park, C. H, & Park, S. U. An up-to-date review of rutin and its biological and pharmacological activities. *EXCLI journal*, 2015 ; 14, 59.

Ali Esmail Al-Snafi. Therapeutic properties of medicinal plants : a review of their detoxification capacity and protective effects. *Asian Journal of Pharmaceutical Science & Technology*. 2015 ; 5(4) : 257-270.

Ali-Rachedi F, Meraghni S, Touaibia N & Mesbah S. Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne *Scabiosa Atropurpurea* sub. *Maritima* L. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*. 2018, 87(13): 1–21. URL : <https://popups.uliege.be/0037-9565/index.php?id=7398>.

Ali-Shtayeh MS et Abu-Ghdeib SI. Antifungal activity of plant extracts against dermatophytes. *Mycoses*.1999 ; 42: 665- 672.

Alsabri S.G, Zetrini A.E, Ermeli N.B, Mohamed S.B, Bensaber S.M, Hermann A, Gbaj A. Study of eight medicinal plants for antioxidant activities. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 2012 ; 4 (8): 4028- 4031.

Al-Tamimi A, Khatib M, Pieraccini G, Mulinacci N. Quaternary ammonium compounds in roots and leaves of *Capparis spinosa* L. from Saudi Arabia and Italy: investigation by HPLC-MS and ¹H NMR. *Natural Product Research*. 2019 ; 33(9) :1322-1328, <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1475376>.

Al-Tamimi M, Khatib M, M Pieraccini G, Mulinacci N. Quaternary ammonium compounds in roots and leaves of *Capparis spinosa* L. from Saudi Arabia and Italy : investigation by HPLC-MS and ¹H NMR, *Natural Product Research*. 2019 ; 33(9):1322-1328. <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1475376>.

Altemimi A., Lakhssassi N., Baharlouei A., Watson D. & Lightfoot D. (2017). Phytochemicals: Extraction, isolation, and identification of bioactive compounds from plant extracts. *Plants*. 6(4): 42-53.

Altin F, Yildirim H, Tanidir I, Yildiz O, Kahraman M, Ozturk E, Bakir İ. Alterations in antioxidant and oxidant status of children after on-pump surgery for cyanotic and acyanotic congenital heart diseases. *Cardiology in the Young*, 2017 ; 27(2), 325-332. doi:10.1017/S1047951116000573.

Amadou D. Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense* Willd. (Myrtaceae). Thèse de pharmacie, Université de Bamako ; Mali. 2005 ; 99p.

Amorati R, Valgimigli L. Methods To Measure the Antioxidant Activity of Phytochemicals and Plant Extracts. *J Agric Food Chem*. 2018 ; 4(13):3324-3329. doi: 10.1021/acs.jafc.8b01079.

Anulika N.P, Enodiana Osamiabe Ignatius, Ezenweani Sunday Raymond, Osaro-Itota Osasere, Akatah Hilda Abiola. The Chemistry Of Natural Product: Plant Secondary Metabolites. *International journal of technology enhancements and emerging engineering research*, 4(8) : 1-8.

Akatah Hilda Abiola. The Chemistry Of Natural Product: Plant Secondary Metabolites. *International journal of technology enhancements and emerging engineering research*, 2016 ; 4(8) : 1-8.

- Anwar, F., K.M. Alkharfy, Najeeb-ur-Rehman, E.H.K. Adam and A.U.H. Gilani. Chemo-geographical variations in the composition of volatiles and the biological attributes of *Mentha longifolia* (L.) essential oils from Saudi Arabia. *Int. J. Pharmacol.*, 2016 ; 13: 408-424.
- Aouachria S, Boumerfeg S, Benslama A, Benbacha F, Guemmez T, Khennouf S, Arrar L, & Baghiani, A. Acute, sub-acute toxicity and antioxidant activities (in vitro and in vivo) of *Reichardia picroide* crude extract. *Journal of Ethnopharmacology*, 2017 ; 208, 105–116.
- Apak R, Guclu K, Ozyurek M, Karademir S.E. Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC Method. *J. Agric. Food. Chem.* 2004 ; 52, 7970–7981.
- Argentieri M, Macchia F, Papadia P, Fanizzi FP, Avato P. Bioactive compounds from *Capparis spinosa* subsp. *Rupestris*. *Industrial Crops and Products*. 2012 ; 36: 65– 69.
- Aribi I. Etude ethnobotanique de plantes médicinales de la région de Jijel : Etude anatomique, phytochimique, et recherche d'activités biologiques de deux espèces. Mémoire de Magister de l'USTHB (Algérie), 2012. 148p.
- Arrar L, Benzidane N, Krache I, Charef N, Khennouf S, Baghiani A. Comparison between polyphenol contents and antioxidant activities of different parts of *Capparis spinosa* L. *Pharmacognosy Communications*. 2013 ; 3 (2): 70 – 74.
- Assadi S, Shafiee SM, Erfani M, Akmal M. Antioxidative and antidiabetic effects of *Capparis spinosa* fruit extract on high-fat diet and low-dose streptozotocin-induced type 2 diabetic rats. *Biomed Pharmacother.* 2021 ; 138 :111391. doi: 10.1016/j.biopha.2021.111391.
- Attou S. Flavonoïdes et tanins contenus dans les extraits aqueux de la plante *Aristolochia* : formulation galénique et application thérapeutique. Thèse de doctorat 3^{ème} cycle, Université Mustapha Stambouli, Mascara (Algérie). 2021 ; 184p.
- Aubert G. Méthodes d'analyses du sol, 2^{ème} édition, Centre national de documentation pédologique (C.N.D.P). Marseille, 1978 ; 199p.
- Auberval N. Prévention du stress oxydant dans le diabète et ses complications par des antioxydants d'origine naturelle. Thèse de doctorat en sciences de l'Université de Strasbourg. 2010 ; 258p.

- Badami S, Jose C. K., Kumar C. R. K. *In vitro* antioxidant activity of various extracts of *Aristolochia bracteolata* leaves,” *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*, 2005 ; 5(4) :316–321.
- Badiaga M. Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali. 2001 ; Thèse pour l’obtention du grade de docteur d’université. Université de Bamako. 137p.
- Baghiani A, Ameni D, Boumerfeg S, Adjadj M, Djarmouni M, Charef N, Khennouf S, Arrar L. Studies of Antioxidants and Xanthine Oxidase Inhibitory Potentials of Root and Aerial Parts of Medicinal Plant *Capparis spinosa* L. *American Journal of Medicine and Medical Sciences*. 2012 ; 2(1) : 25-32.
- Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils--a review. *Food Chem Toxicol*. 2008 ; 46(2):446-75. doi: 10.1016/j.fct.2007.09.106.
- Balouiri M, Sadiki M, Ibsouda S.K. Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity : A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 2016 ; 6(2), 71-79.
- Bammi, J. et Douira, A. Les plantes médiciteuses dans la forêt de l’Achach (Plateau Central, Maroc). *Acta Botanica Malacitana*. 2002 ; 27:131-145. <https://doi.org/10.24310/abm.v27i0.7322>.
- Barba F.J., Zhu Z., Koubaa M., Sant'Ana A.S., Orlie V. Green alternative methods for the extraction of antioxidant bioactive compounds from winery wastes and byproducts : a review. *Trends in Food Science & Technology*. 2016 ; 49, 96-109.
- Baseflor. Index botanique, éc ologique et c horologique de la flore de Franc e. Version : 27 avril 2022. <https://www.tela-botanic a.org/projets/phytosoc iologie>.
- Baseflor. Index botanique, éc ologique et c horologique de la flore de Franc e. Version : 27 avril 2022. <https://www.tela-botanic a.org/projets/phytosociologie>.
- Behera J.N, Rao J. A Ni²⁺ Kagome Compound Templated by 1,8-Diazacubane *American of Chemistry Society*, 2006 ; 128 (29), 9334 -9335.
- Bekdouche F, Derridj A, & Krouchi F. Evolution apres feu de la composition floristique de la SUBERAIE de Mizrana (Tizi- ouzou, ALGERIE). *Sciences et Technologie*, 2008 ; 28 :19- 29.

- Bekero Y.A, Mamyrbekova J.A, Boua B.B, Bi F.T, & Ehile E.E. Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend. et Zarucchi (Caesalpinaceae). *Sciences & Nature*, 2007 ; 4(2) : 217-225. DOI:10.4314/scinat.v4i2.42146.
- Belhattab R, Larous L, Kalantzakis G, Bouskou D, Exarchou V. Antifungal properties of *Origanum glandulosum* Desf. extracts. *Food, Agricul. & Envir.* 2004 ; 2: 63-69.
- Belkhiri F, Baghiani A, Zerroug M.M, & Arrar L. Investigation of antihemolytic, xanthine oxidase inhibition, antioxidant and antimicrobial properties of *Salvia verbenaca* L. aerial part extracts. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 2017 ; 14(2), 273-281.
- Ben el Hadj Ali I, Bahri R, Chaouachi M, Boussaïd M and Harzallah-Skhiri F. Phenolic content, antioxidant and allelopathic activities of various extracts of *Thymus numidicus* Poir. *Organs. Industrial Crops and Products*, 2014 ; 62 : 188-195.
- Belhouala K, Benarba B. Medicinal Plants Used by Traditional Healers in Algeria: A Multiregional Ethnobotanical Study. *Front Pharmacol.* 2021 Nov 29;12:760492. doi: 10.3389/fphar.2021.760492.
- Benachour H, Ramdani M, Lograda T, Chalard P, Figueredo G. Chemical composition and antibacterial activities of *Capparis spinosa* essential oils from Algeria. *Biodiversitas*, 2020 ; 21(1) : 161-169. DOI: 10.13057/biodiv/d210121.
- Benachour Halima. Etude de la composition chimique et activités biologiques des huiles essentielles du *Capparis spinosa* L. Thèse de doctorat de l'Université Ferhat Abbas Sétif 1 (Algérie), 2020 ; 162p.
- Benarba B, Meddah B. Ethnobotanical study, antifungal activity, phytochemical screening and total phenolic content of Algerian *Aristolochia longa*. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*. 2014 ; 3(4) : 150-154. DOI: 10.5455/jice.20140826030222.
- Benarba B. (2016). Anticancer activity, phytochemical screening and acute toxicity evaluation of an aqueous extract of *Aristolochia longa* L. *International Journal of Pharmaceutical and Phytopharmacological Research*, 6(1), 20-26. Doi : 10.24896/eijppr.2016614.
- Bendif H. Caractérisation phytochimique et détermination des activités biologiques in vitro des extraits actifs de quelques Lamiaceae: *Ajuga iva* (L.) Schreb., *Teucrium polium* L., *Thymus munbyanus* subsp. *coloratus* (Boiss. & Reut.) Greuter & Burdet et *Rosmarinus eriocalyx* Jord

& Fourr. Thèse présentée pour obtenir le diplôme de docteur en sciences biologiques ; spécialité : biotechnologies végétales. ENS-KOUBA (Algérie). 2017 ; 252p.

Benseghir L.A. Biofacteurs de développement du Câprier épineux (*Capparis spinosa* L.) En Algérie, Thèse de Doctorat en Biologie Végétale. Université Badji Mokhtar faculté des sciences Annaba, (Algérie) ; 2014, 181p.

Benseghir-Boukhari LA, Seridi R. Le câprier, une espèce arbustive pour le développement rural durable en Algérie. Méditerranée. 2007 ; 109: 100-105.

Bensouici C. Etude phytochimique et évaluation des activités biologiques de deux plantes du genre *Sedum* (Crassulaceae). Thèse de doctorat en sciences, Université Frères Mentouri Constantine (Algérie). 250p.

Benzakour G, Amrani M, & Oudghiri M. A Histopathological analyses of *in vivo* anti-tumor effect of an aqueous extract of *Aristolochia longa* used in cancer treatment in traditional medicine in Morocco. International journal of plant research, 2012 ; 2(2), 31-35.

Benzakour G, Benkirane N, Amrani M, Oudghiri M. Immunostimulatory potential of *Aristolochia longa* L. induced toxicity on liver, intestine and kidney in mice. Journal of Toxicology and Environmental Health Sciences, 2011 ; 3(8) : 214-222. DOI: 10.5897/JTEHS.

Benzidane N, Aichour R, Guettaf S, Laadel N, Khennouf S, Baghiani A, & Arrar L. Chemical investigation, the antibacterial and antifungal activity of different parts of *Capparis spinosa* extracts. Journal of Drug Delivery and Therapeutics, 2020 ; 10(5), 118-125. DOI <https://doi.org/10.22270/jddt.v10i5.4388>.

Berchtold N.C et Cotman C.W. Evolution in the Conceptualization of Dementia and Alzheimer's Disease: Greco-Roman Period to the 1960s. Neurobiology of Aging, 1998 ; 19(3) :173-189. [https://doi.org/10.1016/S0197-4580\(98\)00052-9](https://doi.org/10.1016/S0197-4580(98)00052-9).

Berreguioua A. Investigation phytochimique sur des extraits Bioactifs de deux brassicaceae médicinales du sud Algérien : *Moricandia arvensis* et *Zilla macroptera*. 2016. Thèse en vue de l'obtention du diplôme de doctorat en chimie organique. Université Abou bakr belkaid-Tlemcen. 96p.

Bharathajothi P and Bhaaskaran CT, Phytochemical and pharmacological evaluations of *Aristolochia bracteolata* lam. Asian journal of plant science and research, 2014 ; 4(6):15-19.

Bijalwan V, Ali U, Kesarwani A.T, Yadav K, Mazumder K. Hydroxycinnamic acid bound arabinoxylans from millet brans-structural features and antioxidant activity. International Journal of Biological Macromolecules. 2016 ; 88 :296-305. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.03.069>.

Blois M. S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical [10]. In Nature, 1958 ; 181 : 4617. <https://doi.org/10.1038/1811199a0>.

Boga C, Forlani L, Calienni R, Hindley T, Hochkoepler A, Tozzi S, Zanna N. On the antibacterial activity of roots of *Capparis spinosa* L. Natural Product Reserch.2011 ; 25 : 417–421.

Boizot N et Charpentier JP. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Le Cahier des Techniques de l'Inra, 2006 ; Numéro spécial. 79-82.

Bolanos de la Torre A.A, Henderson T, Nigam P.S, Owusu-Apenten R.K. A universally calibrated microplate ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay for foods and applications to Manuka honey. Food Chem. 2015 ; 1(174): 119-23. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.11.009.

Bonina F, Puglia C, Ventura D, Aquino R, Tortora S, Sacchi A, Saija A, Tomaino A., Pellegrino, M.L. & De Capraris, P. *In vitro* antioxidant in vivo photoprotective effects of a lyophilized extract of *Capparis spinosa* L. buds. Journal of Cosmetic Science, 2002 ; 53: 321-335.

Bonnaillie C, Salacs M, Vassiliova E, Saykova I. Etude de l'extraction de composés phénoliques à partir de pellicules d'arschide (*Arachis hypoga* L.). 2012 ; 3(2) : 35-45.

Bonneau, M., Souchier B. (1979) - Pédologie 2. Constituants et propriétés du sol. Masson, 459p.

Bouaziz A, Djidel S, Bentaher A, & Khennouf S. Polyphenolic content, Antioxidant and Anti-inflammatory activities of Melon (*Cucumis melo* L. var. inodorus) Seeds. Journal of Drug Delivery and Therapeutics, 2020 ; 10(2-s), 22–26.

Boudjedjou. L. 2010. Etude de la flore adventice des cultures de la région de Jijel, thèse de Magister, valorisation des ressources végétales, Université Ferhat Abbas – Sétif-. 155p.

- Bounechada M et Fenni M. Les Alticinae (coleoptera, Chrysomelidae) de la region de Sétif : un moyen de lutte biologique contre les mauvaises herbes des cultures. ASJP, 2012 ; 3(1) : 37-41.
- Bouriche H, Karnouf N, Belhadj H, Dahamna S, Harzalah D, Senator A. Free radical, metal-chelating and antibacterial activities of methonolic extract of *Capparis spinosa* buds. Advances in Environmental Biology, 2011 ; 5(2): 281-287.
- Bouteldja R, Doucene R, Aggad H, Abdi F.Z. Phytochemical characterization, antioxidant and antibacterial activity of *Salvia officinalis* (L.) extracts from the Tiaret region. European Journal of Biological Research 2021; 11(3): 356-366.
- Bouzerzour H., Mahnane S. Une association pour une agriculture de conservation sur les hautes plaines orientales semi-arides d'Algérie. In : Arrue Ugarte J.L. (ed.), Cantero-Martínez C.(ed.). Troisièmes rencontres méditerranéennes du semis direct. Zaragoza : CIHEAM, 2006 :107-111.
- Bronick C.J et Lal R. Soil structure and management : a review. Geoderma, 2005 ; 124 : 3–22. doi:10.1016/j.geoderma.2004.03.005.
- Bursal E, Gülçin İ. Polyphenol contents and *in vitro* antioxidant activities of lyophilized aqueous extract of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) Food Res Int. 2011; 44:1482–1489. doi: 10.1016/j.foodres.2011.03.031.
- Călinoiu L.F, Vodnar D.C. Whole Grains and Phenolic Acids : A Review on Bioactivity, Functionality, Health Benefits and Bioavailability. Nutrients. 2018 ; 10(11):1615. doi: 10.3390/nu10111615. PMID: 30388881.
- Calis I, Kuruuzum A, Lorenzetto P.A. & Ruedi, P. (6S)-Hydroxy- 3-oxo-alpha-ionol glucosides from *Capparis spinosa* fruits. Phytochemistry, 2002 ; 59: 451-457.
- Cao Y.L, Li X, Zheng M. *Capparis spinosa* protects against oxidative stress in systemic sclerosis dermal fibroblasts. Archives of Dermatological Reserch. 2010 ; 302: 349 – 355.
- Carbonnelle B, Denis F, Marmonier A, Pinon G, Vargues R., 1987.Les cocci Gram positif in Bactériologie médicale : techniques usuelles, édition SIMEP. France, 113 p.
- Carocho M, Ferreira I.C.F.R. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives, Food and Chemical Toxicology, 2013 ; 51 :15-25. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.09.021>.

Chacha F, (2011). Profils métaboliques et fécondité en élevage bovins laitiers (wilaya de Sétif). Thèse de doctorat en sciences. Centre Universitaire d'El-Tarf (Algérie) ; 193p.

Chang H.R, Lian J.D, Lo C.W, Huang H.P, Wang C.J. Aristolochic acid-induced cell cycle G1 arrest in human urothelium SV-HUC-1 cells. Food and Chemical Toxicology. 2007 ; 45(3) : 396-402. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2006.08.020>.

Chawla P, Chawla A, Shah G, Baghel U.S, Dhawan R.K. A review on pharmacognosy and biological activities of Aristolochia. Asian journal of research in biological and pharmaceutical sciences. 2013 ; 1(2) : 97–106.

Chedraoui S, Abi-Rizk A, El-Beyrouthy M, Chalak L, Ouaini N and Rajjou L. *Capparis spinosa* L. in A Systematic Review: A Xerophilous Species of Multi Values and Promising Potentialities for Agrosystems under the Threat of Global Warming. Front. Plant Sci. 2017 ; 8 : 1-18. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01845>.

Cherif H.S, Saidi F, Boutoumi H, Rouibi A, & Chaouia C. Identification et caractérisation de quelques composés chimiques chez *Aristolochia longa* L. Agricultura, 2009 ; 3 (4) : 76-82.

Cherif S.H. Caractérisation biochimique, histologique et physiologique d'une plante médicinale (beroustoum), *Aristolochia longa*. 2012. Thèse pour obtenir le grade de docteur en sciences. Université Saad Dahlab de Blida (Algérie), 249p.

Cherifi K. Impact de l'action anthropozoogène sur la biodiversité végétale de l'écosystème forestier du Djebel Tassala (Algérie occidentale). Thèse Doctorat en écologie végétale et environnement. Univ. Sidi Bel Abbès. 2013 ; 100p.

Cheurfa M et Allem R. Evaluation of antioxidant activity of different extracts of *Aloysia triphylla* leaves (L'Herit.) from Algeria *in vitro*. Phytothérapie. 2016 ; 14:181-187.

Choi KS, Kundu JK, Chun KS, Na HK, Surh YJ. Rutin inhibits UVB radiation-induced expression of COX-2 and iNOS in hairless mouse skin: p38 MAP kinase and JNK as potential targets. Arch Biochem Biophys. 2014; 559:38-45.

Choi, J. M., Yoon, B. S., Lee, S. K., Hwang, J. K., & Ryang, R. (2007). Antioxidant properties of neohesperidin dihydrochalcone: Inhibition of hypochlorous acid-induced DNA strand breakage, protein degradation, and cell death. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 30(2), 324-330.

Chopra R.N, Nayar S.C, Chopra I.C. Glossary of Indian medicinal plants (National Institute of Scientific and Industrial Research, New Delhi. 1986 ; 49-129.

Ciobanu C.S., Iconaru S.L., Le Coustumer P., Constantin L.V., Predoi D. Antibacterial activity of silver-doped hydroxyapatite nanoparticles against gram-positive and gram-negative bacteria. *Nanoscale Research Letters*. 2012 ; 7(1), 324.

Clara G, Ana Cristina F, Jesus B, Ana M.M, Jose S.U, Jose G.B, Jose A.C. and Antonio M.F.P. Composition and antioxidant activity of *Thymus vulgaris* volatiles : Comparison between supercritical fluid extraction and hydrodistillation, 2010 ; 33 :2211-2218.

CLSI, 2006. Quality Control Minimal Inhibitory Concentration (MIC) Limits for Broth Dilution and MIC Interpretative Breakpoints (M27S2).Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

Cotelle N, Bernier J.L; Catteau J.P; Pommery J; Wallet J.C.; Gaydou E.M. Antioxidant properties of hydroxy-flavones, *Free Radic. Biol. Med.* 1996, 20: 35-43.

Coulibaly A.Y, Hashim R, Sulaiman S.F., Sulaiman O, Ping Ang L.Z., Ooi K.L. Bioprospecting medicinal plants for antioxidant components. *Asian Pac J Trop Med.* 2014 ; 7(1): 553-559.

Buchanan, W. Grisse, R. Jones, (Eds.). *American Society of Plant Physiologists*, 2000 ; 1250-1316.

Croteau, R., Kutchan, T.M. and Lewis, N.G. (2000) Natural Products (Secondary Metabolites). *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*, 24, 1250-1319.

Crozier A, Jaganath I.B, Clifford M.N. Plant secondary metabolites: occurrence, structure and role in the human diet. A. Crozier, M. N. Clifford, H. Ashihara (Eds.). Blackwell Publishing Ltd.2007 ; ISBN-13: 978-1-4051-2509-3.

D'Archivio M, Filesi C, Di Benedetto R, Gargiulo R, Giovannini C, Masella R. Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali dell'Istituto Superiore di Sanità.* 2007 ; 4: 348-361.

Dacosta Y. Les phytonutriments bioactifs. Edition YVES DACOSTA. Paris. 2003 ; 318p.

De Pascual Teresa J, Uronic J, Alvaro F, MD Alvarez Vaquero. Lipid components of *Aristolochia longa*; *Phytochemistry*.1984 ; 23.(2) :461-462.

De Abreu I.N et Mazzafera, P. Effect of water and temperature stress on the content of active constituents of *Hypericum brasiliense* Choisy. *Plant Physiol. Biochem.* 2005 ; 43, 241–248.

De Pascual Teresa J., G. Uronic J. Alvaro F., MD Alvarez Vaquero. Monoterpene Derivatives from the Essential Oil of *Aristolochia longa* L. *Phytochemistry*, 1983 ; 22(12) :2753-2754.

Demir Y ; Güngör A ; Duran E.D ; Demir N. Cysteine protease (capparin) from capsules of caper (*Capparis spinosa*). *Food Technol. Biotechnol.*, 2008 ; 46, 286-291.

Derouiche S, Laib I and Zeribit W. *Aristolochia longa* (Aristolochiaceae) Spice Alleviates Nickel-Induced Oxidative Stress and Biochemical Alterations in Rats. *Austin Journal of Pharmacology and Therapeutics* ; 2021 ; 9(6) : 1-5.

Derouiche S., Khaoula Z., Safa G., & Yahia K. Beneficial Effects of *Aristolochia Longa* and *Aquilaria Malaccensis* on lead-induced hematological alterations and heart oxidative stress in rats. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 2018 ; 10(9), 8-15.

Dhakad PK, Sharma PK, Kumar S. A Review on ethnobiological & medicinal potential of Capparaceae family plant: *Capparis decidua* (Forssk.) Edgew. *Advances in Pharmacology and*

Dhayakaran R.P.A, Neethirajan S, Xue J, & Shi J. Characterization of antimicrobial efficacy of soy isoflavones against pathogenic biofilms. *LWT-Food Science and Technology*, 2015 ; 63(2), 859-865. Doi: [org/10.1016/j.lwt.2015.04.053](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.04.053).

Dhouioui M, Boulila A, Chaabane H, Mongia Z, Casabianca H. Seasonal changes in essential oil composition of *Aristolochia longa* L. ssp. *paucinervis* Batt. (Aristolochiaceae) roots and its antimicrobial activity, *Industrial Crops and Products*. 2016 ; 83:301-306. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.01.025>.

Di Carlo G, Mascolo N, Izzo A.A et Capasso F. Flavonoids : old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life sciences*, 1999 ; 65(4) : 337-353.

Dias J.S. Nutritional Quality and Effect on Disease Prevention of Vegetables. In *Nutrition in Health and Disease*. IntechOpen. 2019 : 1-81pp.

Djebaili H. L'Effet des facteurs d'environnement sur la variation de quelque métabolites secondaires chez deux espèces médicinales : junipeurs *oxycedrus* L. (cupressacées) et schinus molle L. (Anacardiacees).

Djeridane A, Yousfi M, Nadjemi B, Maamri S, Djireb F, Stocker P. Phenolic extracts from various Algerian plants as strong inhibitors of porcine liver carboxylesterase. *J Enzyme Inhib Med Chem*. 2006; 21:719-26.

Djouahri A, Boualem S, Boudarene L, Baaliouamer A. Geographic's variation impact on chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils from wood and leaves of *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters, *Industrial Crops and Products*, 2015 ; 63 : 138-146. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.10.018>.

Doré T, Le Bail M, Martin P, Ney B, & Roger-Estrade J. L'agronomie aujourd'hui. Quae, Versailles Cedex. 2006 ; 114-118.

Dramane S. Evaluation des activités antimicrobiennes et antiradicaux libres de quelques taxons bioactifs de Côte d'Ivoire. *Euro Journal of Scientific Research*, 2010 ; 40 (2): 307- 317.

Dröge W. Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Physiological Reviews*, 2002 ; 82(1): 47–95.

Duchaufour Ph. (1979) - Pédologie : I. Pédogenèse et classification. Paris : Masson, 477p.

Duchaufour Ph, (1991). Pédologie (Sol, Végétation, Environnement) Ed. Masson., Paris, Pp : 11-12.

Duchaufour, Ph. (2001) - Introduction à la science du sol: Sol, végétation, environnement. Paris : DUNOD, 331p.

Duecker R, Baer P, Eickmeier O, Strecker M, Kurz J, Schaible A, Henrich D, Zielen S, Schubert R. Oxidative stress-driven pulmonary inflammation and fibrosis in a mouse model of human ataxia-telangiectasia, *Redox Biology*. 2018; 14 : 645-655. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2017.11.006>.

Duman E, Özcan M.M. Physicochemical properties of seeds of *Capparis* species growing wild in Turkey. *Environ Monit Assess*, 2014 ; 186, 2393–2398. <https://doi.org/10.1007/s10661-013-3546-z>.

Eddouks, M., Hebi, M., Ajebli, M. et al. Étude de l'activité antidiabétique de *Capparis spinosa* L. et de *Calamintha officinalis* Moench chez la souris diabétique. *Phytothérapie*, 2017 ; 7(2): 191–198. <https://doi.org/10.1007/s10298-017-1105-4>.

Edeas M. Les antioxydants dans la tourmente. *Phytothérapie*, 2005 ; 3 : 271–273. <https://doi.org/10.1007/s10298-005-0124-8>.

Ejaz A, Arshad M, Khan M.Z, Amjad M.S, Sadaf H.M, Riaz I, Sabir S, Ahmad N, Sabaoon. Secondary metabolites and their multidimensional prospective in plant life. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2017 ; 6 (2): 205-214.

El Aanachi S, Gali L, Neghmouche N, Bensouici C, Dari K, Aassila H. Phenolic contents and in vitro investigation of the antioxidant, enzyme inhibitory, photoprotective, and antimicrobial effects of the organic extracts of *Pelargonium graveolens* growing in Morocco. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2020 ; 29 (101819). <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101819>.

El Omari K, Mohamad N, Bountra K, Duman R, Romano M, Schlegel K, Kwong HS, Mykhaylyk V, Olesen C, Moller JV, Bublitz M, Beis K, Wagner A. Experimental phasing with vanadium and application to nucleotide-binding membrane proteins. *IUCrJ*. 2020 ; 7(6):1092-1101. doi: 10.1107/S2052252520012312.

El Omari N, Sayah K, Fettach S. Evaluation of *In Vitro* Antioxidant and Antidiabetic Activities of *Aristolochia longa* Extracts. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2019 : 7384735. doi:10.1155/2019/7384735.

El Yahyaoui El Idrissi A, Khouchlaa A, Bouyahya A, Bakri Y, Tijane M. Phytochemical Characterization, In Vitro Antioxidant, Cytotoxic, and Antibacterial Effects of *Aristolochia longa* L. *Biointerface recherche and applied chemistry*. 2021; 11(1): 8129–8140. <https://doi.org/10.33263/BRIAC111.81298140>.

EL-Haoud H, Boufellous M, Berrani A, Tazougart H et Bengueddour R. Screening phytochimique d'une plante medicinale: *Mentha spicata* L. *Am. J. innov. res. appl. sci*. 2018;

Ellman G.L, Courtney K.D, Andres V, & Featherstone R.M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 1961 ; 7(2). [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(61\)90145-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9).

Ereifej K.I, Feng H, Rababah T.M, Tashtoush S.H, Al-U'datt M.H, Gammoh S, & Al-Rabadi, G.J. Effect of extractant and temperature on phenolic compounds and antioxidant activity of selected spices. *Food and Nutrition Sciences*, 2016 ; 7(5), 362-370.

Essawi T et Srour M. Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *Journal of ethnopharmacology*, 2000 ; 70(3), 343-349. Doi: 10.1016/s0378-8741(99)00187-7.

Fadili K, Zerkani H, Amalich S et Zair T. Phytochemical study and evaluation of antioxidant activity of leaves and fruits of *Capparis spinosa* L. American Journal of Innovative Research and Applied Sciences. 2017 ; 5(2) :108-118.

Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., & Abdelly, C., (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities, Comptes Rendus Biologies, 331(5), 372-379.

Fauchere I.L et Avril J.L. Bactériologie générale et médicale. Editions Ellipses. Paris1, 2002 ; 368p. <http://www.sudoc.fr/069011605>.

Faurie C., Ferra C., Medori P., (1980). Ecologie. Edition. J. B. Baillière. Paris. 168 p.

Favier A. Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'Actualité chimique, 2003, 108-115p.

Feng, X., Lu, J., Xin, H., Zhang, L., Wang, Y., and Tang, K. Anti-arthritic active fraction of *Capparis spinosa* L. fruits and its chemical constituents. Yakugaki Zasshi. 2011 ; 13, 423–429. doi: 10.1248/yakushi.131.423.

Francisco C.S., Messiano G.B, Lopes L.M.X, Tininis A.G, D'Oliveira, J.E., Capellari Jr. Classification of Aristolochia species based on GC–MS and chemometric analyses of essential oils. Phytochemistry. 2008 ; 69 :168–175.

Freschet G.T, Violle C, Bourget M.Y, Scherer-Lorenzen M.S and Fort F. Allocation, morphology, physiology, architecture : the multiple facets of plant above- and below-ground responses to resource stress. New phytologist, 2018 ; 1-15.

Fu X., Wu T., Abdurahim M., Su Z., Hou X., Aisa H., Wu H. New spermidine alkaloids from *Capparis spinosa* roots. Phytochemistry Letters. 2008 ; 1(1) :59-62. Available : <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1874390008000037>.

Gadgoli C et Mishra SH. Antihepatotoxic activity of p-methoxybenzoic acid from *Capparis spinosa*. Journal of Ethnopharmacology. 1999 ; 66 (2):187- 192.

Gadhi C.A, Benharref A, Jana m, Lozniewski A. Anti-Helicobacter pylori activity of *Aristolochia paucinervis* Pomel extracts, Journal of Ethnopharmacology. 2001; 75:2–3.[https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(01\)00184-2](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(01)00184-2).

- Ganeshpurkar A, Ajay K. Saluja. The Pharmacological Potential of Rutin, Saudi Pharmaceutical Journal, 2017 ; 25(2) : 149-164. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2016.04.025>
- Gardner, C.M.K., Laryea, K.B., Unger, P.W., 1999. Soil physical constraints to plant growth and crop production. Land and Water Development Division, FAO, Rome, Vol 11, pp: 96
- Ghestem A., Segun E., Paris M., Orecchioni A-M. Le préparateur en pharmacie : Botanique-Pharmacognosie Phytothérapie - Homéopathie. Lavoisier Tec et Doc, Paris. 2001 ; 273p.
- Gong Y, Dong R, Gao X, Li J, Jiang L, Zheng J, Cui S, Ying M, Yang B, Cao J, He Q. Neohesperidin prevents colorectal tumorigenesis by altering the gut microbiota. Pharmacol Res. 2019, 148:104460. doi: 10.1016/j.phrs.2019.104460.
- González P.A.M., Ayuda D.B., Martínez S., González M.S. & Santos B.C. (2018). The mechanisms behind the biological activity of flavonoids. Curr Med Chem. 35: 1-15.
- Gourlay G et Constabel C.P, Condensed tannins are inducible antioxidants and protect hybrid poplar against oxidative stress, Tree Physiology, 2019 ; 39 (3) : 345–355. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpy143>.
- Grimalt M., Hernández, F., Legua, P., Almansa, M. S., & Amorós, A. Physicochemical composition and antioxidant activity of three Spanish caper (*Capparis spinosa* L.) fruit cultivars in three stages of development. Scientia horticulturae, 2018 ; 240, 509-515.
- Guinnin F.D.F, Sacramento T.I, Ategbro J.M, Agbangnan Cocou D.P. Physico-chemical composition and radical scavenging activity evaluation of the extracts of *Aristolochia albida* Duch. (Aristolochiaceae) of Benin. Journal of Applied Biosciences, 2016 ; 07: 10460-10470. <http://dx.doi.org/10.4314/jab.v107i1.11>.
- Gülçin, İ. (2010). Antioxidant properties of resveratrol : A structure–activity insight. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 11(1), 210-218.
- Gupta D. Methods for determination of antioxidant capacity: A review. International journal of pharmaceutical sciences and research. 2015 ; 6 (2).546-66.
- Hagerman, A.E., and Butler L.G. Choosing appropriate methods and standards for assaying tannin. J. Chem. Ecol. 1989 ; 15:1795-18.

Hakemi Z. Auto ecologie d'*Aristolochia baticea* L. dans les monts de Tessala (Algérie de l'ouest) et physiologie de germination de ses graines. Thèse de doctorat en Sciences. Université Djillali Laabes de Sidi Bel Abbes (Algérie) ; 2019, 195p.

Halliwell B and Gutteridge J.M.C. Free Radicals in Biology and Medicine. 5th Edition, Oxford University Press, New York. 2015, <http://dx.doi.org/10.1093/acprof:oso/9780198717478.001.0001>.

Hatano T, Kusuda M, Inada K, Ogawa T.O, Shiota S, Tsuchiya T et Yoshida, T. Effects of tannins and related polyphenols on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Phytochemistry, 2005 ; 66(17), 2047-2055. Doi: 10.1016/j.phytochem.2005.01.013.

Hauchinal RR., Tandon JP., Salinath PM., 1993. Variation and adaptation of wheat varieties to heat tolerance in Peninsular India. In Sanders, D.A. and G.P. Hettel. Wheat in heat stressed environments, irrigated dry areas and rice- wheat farming systems, Mexico, DF, Cimmyt, pp175-183.

Haykel M.S et Omar A.A. Plantes médicinales et aromatiques, leur chimie, production et bienfaits, deuxième édition, édition El-maarif (Alexandrie). 1993 ; 515 : 34-120pp.

Heim K.E, Tagliaferro A.R, Bobilya D.J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. J Nutr Biochem. 2002 ; 13(10): 572-584. doi: 10.1016/s0955-2863(02)00208-5.

Hoffman L., 2003. Etude du métabolisme des phénylpropanoïdes. Thèse de doctorat. Université de Strasbourg, 245p.

Huang T.C, Chen S.M, Li Y.C, Lee J.A. Increased renal semicarbazide-sensitive amine oxidase activity and methylglyoxal levels in aristolochic acid-induced nephrotoxicity. Life Sci. 2014 ; 114 : 4–11.

Hubert J. Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de soja. Etude des voies de sa valorisation en nutrition et santé humaines Thèse de doctorat Institut national polytechnique de Toulouse, 2006 ; 174p.

Hümmer W, Schreier P. Analysis of proanthocyanidins. Mol Nutr Food Res. 2008 ; 52(12):1381-98. doi: 10.1002/mnfr.200700463.

Huseini HF, Hasani-Rnjbar S, Nayebi N, Heshmat R, Sigaroodi FK, Ahvazi M, Alaei BA, Kianbakht S. *Capparis spinosa* L. (Caper) fruit extract in treatment of type 2 diabetic patients:

a randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *Comparative Therapies and Medicin.* 2013 ; 21:447- 452.

Mujahid M.A. (2001). *Écologie végétale*. 3^{ème} édition. Editions scientifiques et imprimeries, Royaume d'Arabie Saoudite. 407 : 92pp.

Ifeanyi O.E. A Review on Free Radicals and Antioxidants. *International Journal of Current Research in Medical Sciences.* 2018 ; 4(2): 123-133.

Ignat I, Volf I, Valentin Popa I. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables, *Food Chemistry*, 2011 ; 126(4) : 1821-1835. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.026>.

Incalza M.A, D'Oria R, Natalicchio A, Perrini S, Laviola L, Giorgino F. Oxidative stress and reactive oxygen species in endothelial dysfunction associated with cardiovascular and metabolic diseases, *Vascular Pharmacology*, 2017 ; 100 : 1-19. <https://doi.org/10.1016/j.vph.2017.05.005>.

Inocencio C, Rivera D, Ma Concepción Obón, Francisco Alcaraz, and Jose-Antonio Barreña "A systematic revision of *Capparis* section *Capparis* (Capparaceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden.* 2006 ; 93(1) : 122-149. [https://doi.org/10.3417/0026-6493\(2006\)93\[122:ASROCS\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.3417/0026-6493(2006)93[122:ASROCS]2.0.CO;2).

ISRIC (International Soil Reference and Information Center). (1984) - *Procedures for Soil Analysis*, 3th ed. International Soil Reference and Information Center, Wageningen.

Javed H, Khan, M. M., Ahmad, A., Vaibhav, K., Ahmad, M. E., Khan, A., ... & Safhi, M. M. Rutin prevents cognitive impairments by ameliorating oxidative stress and neuroinflammation in rat model of sporadic dementia of Alzheimer type. *Neuroscience*, 2012 ; 210, 340-352.

Jennings K.R. Collision-induced decompositions of aromatic molecular ions, I. *J. Mass. Spectrom of Ion Phys.* 1968 ; 227-235.

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

Jonathan D. Impact des stress thermique et hydrique sur la croissance, la reproduction et la pollinisation de *Fagopyrum esculentum* et comparaison de la pollinisation chez deux espèces de *Fagopyrum*. Thèse de doctorat en sciences, Université catholique de Louvain, 2020. 100p.

Jones R.A et Qualset C.O. Breeding Crops for Environmental Stress Tolerance. In: Collins, G.B., Petolino, J.G. (eds) Applications of Genetic Engineering to Crop Improvement. Advances in Agricultural Biotechnology, vol 10. Springer, Dordrecht. 1984. https://doi.org/10.1007/978-94-009-6207-1_10.

Jorgensen J.H et Turnidge J. D. Susceptibility test methods: dilution and disk diffusion methods. Manual of clinical microbiology, 2015 ; 1253-1273.

Kabera J.N, Semana E, Mussa A.R, He X. Plant Secondary Metabolites: Biosynthesis, Classification, Function and Pharmacological Properties. Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2014 ; 2:377-392.

Kabongo tshiabukole. Evaluation de la sensibilité aux stress hydriques du maïs (*zea mays* L.) cultivé dans la savane du sud-ouest de la Congo, cas de Mvuazi. Thèse de doctorat ; 2018, 161p.

Kaiser W. M. (1987). Effect of water deficit on photosynthetic capacity. *Physiol. Plant*, 71, 142-149.

Kamanzi A.K. Plantes médicinales de Côte d'Ivoire : Investigations phytochimiques guidées par des essais biologiques. Thèse de doctorat, Université de Cocody, Abidjan, 2002 ; p 176.

Kang L et Wang Z.Y. Breast cancer cell growth inhibition by phenethyl isothiocyanate is associated with down-regulation of oestrogen receptor- α 36. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 2010 ; 14: 1485– 1493.

Kanjilal B.P and Kotoky R. Chemical Composition of the Stem Oil of *Aristolochia indica* L. *Journal of Essential Oil Research*, 2009 ; 21(1) : 24-25. DOI: 10.1080/10412905.2009.9700098.

Kaper J.B, Nataro J.P, Mobley H.L. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol*. 2004 ; 2(2):123-40. doi: 10.1038/nrmicro818.

Karan Y.B, Balkan T, Erenler R. Phenolic Contents of Different Potato Genotypes Grown in the Central Northern Region in Turkey. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*. 2021 ; 9(8) : 1-14. DOI: 10.24925/turjaf.v9i8.1606-1611.4589.

Khaled-Khodja N, Boulekbache-Makhlouf L, Madani K. Phytochemical screening of antioxidant and antibacterial activities of methanolic extracts of some Lamiaceae. *Industrial Crops and Products*, 2014 ; 61 : 41–48.

Khanbabaee K et van Ree T. Tannins : classification and definition. Nat Prod Rep. 2001; 18(6):641-9. doi: 10.1039/b101061l.

Khare C.P. Indian Medicinal Plant. An Illustrated Dictionary. Springer. Library of Congress Control Number. 2007 ; 836p. (71-127pp).

Khiralla, A, Mohamed, I, Thomas J, Mignard B, Spina R, Yagi S, Laurain-Mattar D. A pilot study of antioxidant potential of endophytic fungi from some Sudanese medicinal plants. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine. 2015 ; 8(9): 701–704.

Kinoshita T, leep Z, Chuman H. Construction of a novel database for flavonoids. The Journal of Medical Investigation. 2005 ; 52: 291 – 292.

Khojasteh Rad M, Ghani A, Ghani E. In vitro effects of *Capparis spinosa* L. extract on human sperm function, DNA fragmentation, and oxidative stress. J Ethnopharmacol. 2021 ; 6(269):113702. doi: 10.1016/j.jep.2020.113702.

Kouider H, Mohammed B., Mohammed M., Abdelkader O., & Abdelkarim R. (2019). Importance des plantes médicinales pour la population rurale du parc national de Djebel Aissa (Sud ouest algérien). Lejeunia, Revue de Botanique.

Kosalec I, Bakmaz M, Pepeljnjak S, & Vladimir-Knezevic S. A. N. D. A. Quantitative analysis of the flavonoids in raw propolis from northern Croatia. Acta pharmaceutica, 2004 ; 54(1), 65-72.

Kulisic-Bilusic T., Blazevic I., Dejanovic B., Milos M., Pifat, G. Evaluation of the antioxidant activity of essential oils from caper (*Capparis spinosa*) and sea fennel (*Crithmum maritimum*) by different methods. Journal of Food Biochemistry. 2010; 34:286–302.

Laala A. (2009). Comportement des semis de Pin d'Alep sous contraintes thermiques. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Magistère en Biologie Végétale, Uni. Mentouri Constantine. 204p.

Lahmar R. Intensification céréalière dans les hautes plaines sétifiennes : quelques résultats. In : Bedrani S. (comp.), Elloumi M. (comp.), Zagdouni L. (comp.), Bedrani S. (collab.), Elloumi M. (collab.), Zagdouni L. (collab.). La vulgarisation agricole au Maghreb : théorie et pratique. Paris : CIHEAM, 1993, 93-97 pp.

- Latha S, Selvamani, P. S. and Benaseer Begam R. A review on pharmacological activities of *Aristolochia* species. *European Journal of Biomedical and Pharmaceutical sciences*. 2015, 2(5) : 160-167.
- Le Minor L. and Véron M. *Bactériologie médicale*, Médecine Sciences Publications, 1989 ; 1107 p.
- Leclerc V et Floc'h J.Y. (2010). *Les Secret des Algues*. Editions Quae. Editions Quae. France., 465p.
- Lee M, Edith G. McGeer, Patrick L. McGeer, Quercetin, not caffeine, is a major neuroprotective component in coffee, *Neurobiology of Aging*, 2016 ; 46 :113-123. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2016.06.015>.
- Lee S, Lee J, Lee H, & Sung, J. Relative protective activities of quercetin, quercetin-3-glucoside, and rutin in alcohol-induced liver injury. *Journal of food biochemistry*, 2019; 43(11), e13002.
- Lemhadri A., Eddouks M., Sulpice T., Burcelin R. Anti-hyperglycaemic and Anti-obesity Effects of *Capparis spinosa* and *Chamaemelumnobile* Aqueous extracts in HFD Mice. *American Journal of Pharmacology and Toxicology*. 2007; 2:106-110. Available: <http://thescipub.com/abstract/10.3844/ajptsp.2007.106.110>.
- Liu, Q., & Yao, H. Antioxidant activities of barley seeds extracts. *Food Chemistry*, 2007 ; 102(3), 732-737. Doi: 10.1016/j.foodchem.2006.06.051
- Loomis W.D et Croteau R. *Biochemistry of Terpenoids*, Editor(s): P.K. Stumpf, *Lipids: Structure and Function*, Academic Press, 1980 : 363-418. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-675404-9.50019-9>.
- Mahajan H, Narendra Tuteja N. Cold, salinity and drought stresses : An overview, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2005 ; 444(2) : 139-158, <https://doi.org/10.1016/j.abb.2005.10.018>.
- Mahasneh A.M. Screening of some indigenous Qatari medicinal plants for antimicrobial activity. *Phytotherapy Research*, 2002 ; 16(8): 751–753.
- Mahmoud S.S et Croteau R.B. Strategies for transgenic manipulation of monoterpene biosynthesis in plants. *Trends Plant Sci*. 2002 ; 7(8): 366-73. doi: 10.1016/s1360-1385(02)02303-8.

- Maire R. (1961). « Flore de l'Afrique du nord » édition Paul Lechevalier, volume VIII, Paris. 216-221.
- Malik, M. N., Haq, I. U., Fatima, H., Ahmad, M., Naz, I., Mirza, B., & Kanwal, N. (2022). Bioprospecting *Dodonaea viscosa* Jacq.; a traditional medicinal plant for antioxidant, cytotoxic, antidiabetic and antimicrobial potential. *Arabian Journal of Chemistry*, 15(3), 103688.
- Manikandaselvi S, Brindha P. Chemical standardization studies on *Capparis spinosa* L. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2014 ; 6(1) : 47-54.
- Magnoliides C. Piperales : Aristolochiaceae, in *Guia de consultas Diversidad veégetal*. Ed. FACENA (UNNE). Argentina, 2006 : 24-29.
- Marco G. J. A rapid method for evaluation of antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 1968 ; 45(9). <https://doi.org/10.1007/BF02668958>.
- Masadeh M.M, Alkofahi A.S, Alzoubi K.H, Tumah H.N, Bani-Hani K. Anti Helicobacterpylori activity of some jordanian medicinal plants. *Pharmacology and Biology*. 2014 ; 52: 566 – 569.
- Matthous B et Ozcan M. (2005). Glucosinolates and fatty acid, sterol, and tocopherol composition of seeds oils from *Capparis spinosa* Var. *spinosa* and *Capparis ovata* Desf. Var. *canescens* (Coss.) Heywood. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 2003 ; 53: 7136-7141.
- Mayachiew P and Devahastin S. Antimicrobial and Antioxidant Activities of Indian Gooseberry and Galangal Extracts. *LWT-Food Science and Technology*, 2008 ; 41, 1153-1159.
- Meddour A, Yahia M, Benkiki N, Ayachi A. Étude de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'un ensemble des parties de la fleur du *Capparis spinosa* L. *Lebanese Science Journal*, 2013 ; 14(1): 49-60.
- Meddour A. Etude des activités biologiques des extraits méthanoliques des fruits et des écorces de racines de *Capparis spinosa* L. Thèse de doctorat en sciences, Université Mustapha Ben Boulaid-Batna 2. 2019 ; 145p.
- Merouani N, Belhattab R and Sahli F. Evaluation of the biological activity of *Aristolochia longa* L. Extracts. *International Journal Of Pharmaceutical Sciences And Research*. 2017 ; 8(5) :1978-1992. DOI:10.13040/IJPSR.0975-8232.8(5).1978-92.

Merouani N, Boukhebt H, Belhattab R. Ethnobotanical Study, Anatomical Study and Phytochemical Screening of *Aristolochia longa* L. 2020 ; 10(4) :112-24. <https://doi.org/10.22270/jddt.v10i4.4160>.

Merouani N. Etude biologique et anatomique de la plante médicinale *Aristolochia longa* L. Thèse pour obtenir le grade de docteur en sciences, Université Ferhat ABBES Sétif1 (Algérie). 2017, 207p.

Mesli-Bestaoui K, Bouazza M, Godron M. Etude des groupements végétaux des monts de tlemcen et de leurs faciès de, dégradation par deux approches : les profils écologiques et les liaisons interspécifiques (oranie-algerie). Sciences & Technologie, 2007 ; 25 :71-78.

Metrouh-Amir H, Duarte C.M.M, Maiza F. Solvent effect on total phenolic contents, antioxidant, and antibacterial activities of *Matricaria pubescens*. Industrial Crops and Products ; 2015 ; 67 :249–256.

Miguel G, Nunes S, Anahi Dandlen S, Margarida Cavaco A, Dulce Antunes M. Phenols and antioxidant activity of hydro-alcoholic extracts of propolis from Algarve, South of Portugal, Food and Chemical Toxicology, 2010 ; 48(10) : 3418-3423. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.09.014>.

Miller N.J, Sampson J, Candeias L.P, Bramley P.M et Rice-Evans C.A. Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. FEBS Letters, 1996 ; 384(3). [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(96\)00323-7](https://doi.org/10.1016/0014-5793(96)00323-7).

Min D.S, Lim Y, Park H, Kim H.P. Flavonoids interfere with NLRP3 inflammasome activation, Toxicology and Applied Pharmacology, 2018 ; 355 : 93-102. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2018.06.022>.

Moghtet S, Menad N, Meddah B , Moussaoui A. Effect of *Salsola vermiculata* on fungi of french soft wheat and test of grain storage by the coating method. Journal of Fundamental and Applied Sciences. 2018 ; 10(1), 226-234.

Mohammedi Z. Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie .Thèse de Doctorat en sciences. Université Abou Bakr Belkaid, (Algérie). 2013 ; Pp22, 83-85.

Moharram H.A et Youssef M.M. Methods for Determining the Antioxidant Activity : A Review. Alexandria Journal of Food Science and Technology, 2014 ; 11(1), 31-42. doi: 10.12816/0025348.

Mohebbali N, Shahzadeh Fazeli S.A, Ghafoori H, Farahmand Z, MohammadKhani E, Vakhshiteh F. Effect of flavonoids rich extract of *Capparis spinosa* on inflammatory involved genes in amyloid- beta peptide injected rat model of Alzheimer's disease. Nutr. Neurosci. 2016 ; 25, 1–8. doi: 10.1080/1028415X.2016.1238026.

Mollica A, Stefanucci A, Macedonio G, Locatelli M, Luisi G, Novellino E, Zengin G. Chemical composition and biological activity of *Capparis spinosa* L. from Lipari Island. South African Journal of Botany, 2019 ; 120 : 135–140.

Montezano A.C, Dulak-Lis M, Tsiropoulou S, Harvey A, Briones AM, Touyz RM. Oxidative stress and human hypertension : vascular mechanisms, biomarkers, and novel therapies. Can J Cardiol. 2015 ; 31(5):631-41. doi: 10.1016/j.cjca.2015.02.008.

Moreira M.R, Ponce A.G, del Valle C.E, Roura S.I. Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen, LWT - Food Science and Technology, 2005 ; 38(5) :565-570. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.07.012>.

Moufid A, Farid O, Eddouks M. Pharmacological Properties of *Capparis spinosa* Linn. Int J Diabetol Vasc Dis Res 2015 ; 3: 99–104.

Mouna Dhouioui. Contribution à l'étude phytochimique d'espèces végétales de la flore tunisienne (*Aristolochia longa* L. et *Bryonia dioica* Jacq.) : évaluation des activités antioxydante et antimicrobienne. Chimie analytique. Université de Lyon; Université de Tunis El-Manar. Faculté des Sciences de Tunis (Tunisie), 2016. 144p.

Muraih J.K, Arean A.G and Abdulabass H.T. Antibacterial Susceptibility and Phytochemical Profile of *Capparis Spinosa* Stem. The Journal of Research on the Lepidoptera.2020 ; 51 (1): 644-654.

Murugan M and Mohan V R. Efficacy of different solvent extracts of *Vitex trifolia* L. and *Aristolochia indica* L. for potential antibacterial activity. Science Research Reporter, 2012 ; 2(1): 110-114.

Nabavi S.F, Maggi F, Daglia M, et al. Pharmacological Effects of *Capparis spinosa* L. Phyther Res, 2016; 30: 1733–1744.

Naghiloo, S., Movafeghi, A., Delazar, A., Nazemiyeh, H., Asnaashari, S., Dadpour, M.R. Ontogenetic variation of total phenolics and antioxidant activity in roots, leaves and flowers of *Astragalus compactus* Lam.(Fabaceae). *BioImpacts*, 2012 ; BI 2, 105.

Nassiri-Asl, M., Mortazavi, S. R., Samiee-Rad, F., Zangivand, A. A., Safdari, F., Saroukhani, S., & Abbasi, E. The effects of rutin on the development of pentylenetetrazole kindling and memory retrieval in rats. *Epilepsy & Behavior*, 2010 ; 18(1-2), 50-53.

NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards), 1997. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved standard M2-A6. Wayne, PA : National Committee for Clinical Laboratory Standards.

Ncube B., Ngunge V., Finnie J., and Van Staden J. (2012). A comparative study of the antimicrobial and phytochemical properties between outdoor grown and micro propagated *Tulbaghia violacea* Harv. *Plants. Journal of Ethnopharmacology*, 112 (4): 775-780.

Ncube N., Finnie J.F. et Van Staden J. Quality from the field: The impact of environmental factors as quality determinants in medicinal plants. *South Afr. J. Bot.* 2012 ; 82: 11-20.

Nedjraoui D et Bédrani S. La désertification dans les steppes algériennes : causes, impacts et actions de lutte. *Vertigo - la revue électronique en sciences de l'environnement*. 2008 ; 8(1) : 1-14. DOI : <https://doi.org/10.4000/vertigo.5375>.

Newman, D. J., and Cragg, G. M. (2012). Natural Products as Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010. *J. Nat. Prod.* 75, 311–335. doi:10.1021/np200906s.

Nichols H.B, Anderson C, White A.J. Milne G.L. et Sandler D.P. Oxidative stress and breast cancer risk in premenopausal women. *Epidemiology*. 2017 ; 28(5) :667-674.

Nile A, Gansukh E, Park G. S, Kim D.H., & Nile S. H. Novel insights on the multi-functional properties of flavonol glucosides from red onion (*Allium cepa* L) solid waste–In vitro and in silico approach. *Food Chemistry*, 2021 ; 335, 127650.

Nile S. H., Nile A. S., and Keum Y.S. Total phenolics, antioxidant, antitumor, and enzyme inhibitory activity of Indian medicinal and aromatic plants extracted with diferent extraction methods. 2017 ; 7(1) : 76.

Nimse S.B and Pal D. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC Advances* ; 2015, 5(1) : 27986–28006. DOI: 10.1039/c4ra13315c.

Niture N. T., Ansari, A.A., & Naik, S. R. Anti-hyperglycemic activity of rutin in streptozotocin-induced diabetic rats: an effect mediated through cytokines, antioxidants and lipid biomarkers. *Indian J Exp Biol.* 2014; 52:720-7.

Noui A, Boudiar T, Boulebd H, Gali L, del Mar Contreras M, Segura-Carretero A, Nieto G & Akkal S. HPLC–DAD–ESI/MS profiles of bioactive compounds, antioxidant and anticholinesterase activities of *Ephedra alata* subsp. *alenda* growing in Algeria, *Natural Product Research*, 2022 ; 1-7. DOI: 10.1080/14786419.2021.2024184.

Nur Arina A.J. & Azrina A. (2016). Comparison of phenolic content and antioxidant activity of fresh and fried local fruits. *Int Food Res J.* 23:1717-1724.

O'connell, J. and Fox, P. Significance and Applications of Phenolic Compounds in the Production and Quality of Milk and Dairy Products: A Review. *International Dairy Journal*, 2001 ; 11 : 103-120. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00033-4](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00033-4).

Obeid H.K, Karuso P, Prenzler P.D & Robards K. Novel secoiridoids with antioxidant activity from Australian olive mill waste. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007 ; 55(8), 2848- 2853.

Oguntibeju O.O. Type 2 diabetes mellitus, oxidative stress and inflammation : examining the links. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol.* 2019 ; 11(3): 45-63.

Okhale S.E, Egharevba H.O, Okpara O. J, Ugbabe G.E, Ibrahim J.A. Aristolochic acids in herbal medicine: Public health concerns for consumption and poor regulation of botanical products in Nigeria and West. Africa *Journal of Medicinal Plants Research.* 2019 ; 13(3) : 55-65.

Olajide O.A and Sarker S.D. Alzheimer's disease : Natural products as inhibitors of neuroinflammation. *Inflammopharmacology*, 2020 ; 28:1439–1455. <https://doi.org/10.1007/s10787-020-00751-1>.

Othman A., Mukhtar N.J., Ismail N.I. & Chang S.K. (2014). Phenolics, flavonoids content and antioxidant activities of 4 Malaysian herbal plants. *Int Food Res J.* 21:759-766.

Oudah S.K, Al-Salih R. M. H and Gusar S.H. Study The Role of Polyphenolic Extract of *Capparis Spinosa* L. Leaves As a Hypoglycemic agent. *International Journal of Scientific & Engineering Research*, 2014 ; 5(5) :1561-1575.

Oyaizu, M. Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics, 1986 ; 44(6), 307–315.

Ozenda P., 1977, Flore du Sahara. Paris, C.N.R.S., 622 p.

Pandey K.B et Rizvi S.I. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. Oxid Med Cell Longev. 2009; 2(5):270-278. doi:10.4161/oxim.2.5.9498.

Panico A. M., Cardile V., Garufi F., Puglia C., Bonina F. et Ronsisvalle G. Protective effect of *Capparis spinosa* on chondrocytes. Life Sci. 2004 ; 77(20):2479-88.

Park S.E, Sapkota K, Choi J.H, Kim M.K, Kim Y.H, Kim K.M. Rutin from *Dendropanax morbifera* Leveille protects human dopaminergic cells against rotenone induced cell injury through inhibiting JNK and p38 MAPK signaling. Neurochem Res. 2014;39: 707-18.

Pavarini P.D, Pavarini S.P, Niehues M, Lopes N.P. Exogenous influences on plant secondary metabolite levels, Animal Feed Science and Technology, 2012 ; 176(1–4) : 5-16, <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2012.07.002>.

Phaniendra A, Jestadi D.B, Periyasamy L. Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. Ind J Clin Biochem. 2015 ; 30(1):11–26.

Plaper A, Golob M, Hafner I, Oblak M, Solmajer T, & Jerala R. Characterization of quercetin binding site on DNA gyrase. Biochemical and biophysical research communications.2003 ; 306(2), 530-536. Doi: 10.1016/s0006-291x (03)01006-4.

Plaut, Z et Federman E. Acclimation of CO₂ assimilation in cotton leaves to water stress and salinity. Plant Physiol, 1991 ; 97 : 515-522.

Polevova S.V. Ultrastructure and development of sporoderm in *Aristolochia clematitis* (Aristolochiaceae), Review of Palaeobotany and Palynology.2015 ; 222 : 104-115. <https://doi.org/10.1016/j.revpalbo.2015.08.004>.

Poulev A, Joseph M. O'Neal, Sithes Logendra, Reneta B. Pouleva, Vesa Timeva, Alison S. Garvey, Doloressa Gleba, Ivan S. Jenkins, Barbara T. Halpern, Ralf Kneer, Gordon M. Cragg, and Ilya Raskin. Elicitation, a New Window into Plant Chemodiversity and Phytochemical Drug Discovery. . Med. Chem. 2003, 46(12) : 2542–2547. <https://doi.org/10.1021/jm020359t>.

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.

Qureshi, N. et J. W. Porter, Conversion of acetyl-Coenzyme A to isopentenyl pyrophosphate, in Biosynthesis of Isoprenoid Compounds, (J. W. Porter and S. L. Spurgeon, eds.), Wiley-Interscience, New York, 1981 ; 1 :47–94.

Rad M, Ghani A, Ghani E. *In vitro* effects of *Capparis spinosa* L. extract on human sperm function, DNA fragmentation, and oxidative stress. J Ethnopharmacol. 2021 ; 6 (269):113702. doi: 10.1016/j.jep.2020.113702.

Radušienė, J., Karpavičienė, B., Stanius, Ž. Effect of external and internal factors on secondary metabolites accumulation in St. John's wort. Bot. Lith. 2012 ; 18 : 101–108.

Rahal K. Standardisation de L'antibiogramme en Médecine Humaine à l'Echelle Nationale selon les recommandations de l'OMS, 4ème édition, éd Ministère de la Santé, de la Population et de la Réforme Hospitalière, 2005. 365p.

Rahman T., Hosen I., Towhidul islam M. et Uddin shekhar H. Oxidative stress and human health. Advances in Bioscience and Biotechnology. 2012 ; 3 : 997-1019.

Rajhi I, Ben Dhia M.T, Abderrabba M, Ouzari-Hadda I, Ayadi S. Phytochemical screening, in vitro antioxidant and antibacterial activities of methanolic extracts of *Capparis spinosa* L. different parts from Tunisia. Journal of Material and Environment Sciences. 2019 ; 10 (3): 234 – 243.

Raju M.G and Sundar Reddy T.H. anti-diabetic and hypolipidemic activity of methanolic extract of *Aristolochia bracteolata* on streptozotocin induced diabetic rat model. International Journal Of Pharmaceutical Sciences And Research. 2017 ; 8(3) : 1173-1177.

Rakotomalala R. Pratique de la Régression Logistique, Régression Logistique Binaire et Polytomique : Version 2.0. Thèse de doctorat de l'Université Lumière Lyon 2, 2015 ; 272p.

Ramade, F. 1984. Eléments d'écologie- Ecologie fondamentale. Ed. Mc GrawHill, Paris, 397p.

Ramakrishna A, Ravishankar GA. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. Plant Signal Behav. 2011 ; 6(11) :1720-1731. doi: 10.4161/psb.6.11.17613.

Rauwald H.W, Brehm O, & Odenthal K.P. Screening of nine vasoactive medicinal plants for their possible calcium antagonistic activity. Strategy of selection and isolation for the active

principles of *Olea europaea* and *Peucedanum ostruthium*. *Phytotherapy Research*. 1994 ; 8, 135–140.

Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, & Rice-Evans, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 1999 ; 26(9–10). [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3).

Reddy C.V.K., Sreeramulu D, & Raghunath M. (2010). Antioxidant activity of fresh and dry fruits commonly consumed in India. *Food Research International*, 43(1), 285-288. Doi: 10.1016/j.foodres.2009.10.006.

Ren W, Qiao Z, Wang H, Zhu L, Zhang L. Flavonoids: promising anticancer agents. *Med Res Rev*. 2003 ; 23(4):519-34. doi: 10.1002/med.10033.

Rezai A.R, Ranjan M, D’Haese P.F, Haut M.W, Carpenter J, Najib U, Kaplitt M. Noninvasive hippocampal blood– brain barrier opening in Alzheimer’s disease with focused ultrasound. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2020 ; 117(17), 9180-9182.

Richetti, S. K., Blank, M., Capiotti, K. M., Piato, A. L., Bogo, M. R., Vianna, M. R., & Bonan, C. D. Quercetin and rutin prevent scopolamine-induced memory impairment in zebrafish. *Behavioural Brain Research*, 2011 ; 217(1), 10-15.

Richter G. *Métabolisme des végétaux : physiologie et biochimie*. Presses polytechniques et universitaires romandes, 1993. ISBN : 2880742315, 9782880742317 ; 526p.

Rivero-Pérez M.D, Muñoz P, Gonzalez-Sanjose M.L. Antioxidant profile of red wines evaluated by total antioxidant capacity, scavenger activity, and biomarkers of oxidative stress methodologies. *J Agric Food Chem*. 2007 ; 55(14):5476-83. doi: 10.1021/jf070306q.

Rukayadi Y, Shim J.S and Hwang J.K. Screening of Thai medicinal plants for anticandidal activity. *Mycoses*. 2008 ; 51(4): 308-312. DOI:10.1111/j.1439-0507.2008.01497.x.

Rout, S. D., Panda, T., & Mishra, N. (2009). Ethno-medicinal plants used to cure different diseases by tribals of Mayurbhanj district of North Orissa. *Studies on Ethno-Medicine*, 3(1), 27-32.

Saidi F, Cherif S.H, Metidji H, Rouibia A, Chaouia C, Abdulhussain M.S, Mohamed R, Hamaidi S. Essais de multiplication in vitro par organogenese directe d’une plante medicinale *Aristolochia longa* L. *Agricultura – Știință și practică*, 2009 ; 3(4) : 71-72.

Sarian M.N., Ahmed Q.U., So'ad M., Zaiton S., Alhassan A.M., Murugesu S. & Latip J. (2017). Antioxidant and antidiabetic effects of flavonoids: A structure-activity relationship based study. *Biomed Res Int.* 2017: 8386065.

Satyanarayana T., Mathews A., Vijetha P. phytochemical and pharmacological Review of Some Indian Capparis Species. *Pharmacognosy Reviews.* 2008 ; 2(4):36-45. Available:https://www.researchgate.net/profile/Vijetha_Pendyala2/publication/316964958.

Schulze J, Tesfaye M, Litjens R.H.M.G. Malate plays a central role in plant nutrition. *Plant and Soil*, 2002 ; 247 : 133–139. <https://doi.org/10.1023/A:1021171417525>.

Senhaji O, Faid M, Elyachioui M, Dehhaoui M. Étude de l'activité antifongique de divers extraits de cannelle. *Journal de Mycologie Medicale.* 2005 ; 15(4) :220-229.

Sepahpour S, Selamat J, Abdul Manap M.Y, Khatib A, Abdull Razis A.F. Comparative Analysis of Chemical Composition, Antioxidant Activity and Quantitative Characterization of Some Phenolic Compounds in Selected Herbs and Spices in Different Solvent Extraction Systems. *Molecules* 2018, 23 (2) : 402. <https://doi.org/10.3390/molecules23020402>.

Seraoui R, Benkiniouar R, Akkal S. Phytochemical Investigation, Antioxidant and Antimicrobial Assays of Algerian Plant *Calamintha baborensis* Batt. *Pharm Chem J.* 2019 ; 52, 347–356. <https://doi.org/10.1007/s11094-018-1820-7>.

Shamam K. Oudah, Raid M. H. Al-Salih and Sajid H. Gusar. Study The Role of Polyphenolic Extract of *Capparis Spinosa* L. Leaves As a Hypoglycemic agent ; *International Journal of Scientific & Engineering Research*, 2014 ; 5(5) : 1561-1575.

Shan I, Yi-Zhong Cai, John D. Brooks, Harold Corke. The *in vitro* antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts, *International Journal of Food Microbiology*, 2007 ; 117(1) : 112-119. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.03.003>.

Sharaf M, El-Ansari M.A, Saleh N.A. Quercetin triglycoside from *Capparis spinosa*. *Fitotetrapia.* 2000 ; 71: 46-49.

Sharma S, Ali A, Ali J, Sahni JK, Baboota S. Rutin: therapeutic potential and recent advances in drug de- livery. *Expert Opin Investig Drugs.* 2013; 22:1063-79.

Sharrif moghaddasi M, Hamed H.K, Zohre A. *Capparis spinosa* L. Propagation and Medicinal uses. *Life Science Journal.* 2012 ; 9 (4): 684- 686.

Sherif M.M, El-Shiekh H.H, Elaasser M.M, Elbadry M.A. *In vitro* evaluation of antimicrobial and cytotoxic effects of Caper (*Capparis spinosa*). Journal of Applied Sciences Research, 2013 ; 9(4): 2944-2950.

Shi L.S, Kuo P.C, Tsai Y.L, Damu A.G, Wu T.S. The alkaloids and other constituents from the root and stem of *Aristolochia elegans*. Bioorganic & Medicinal Chemistry. 2004 ; 12:439–446.

Silva E.M, Souza J.N.S, Rogez H, Rees J.F., & Larondelle Y. (2007). Antioxidant activities and polyphenolic contents of fifteen selected plant species from the Amazonian region. Food Chemistry, 101(3), 1012-1018. Doi: org/10.1016/j.foodchem.2006.02.055

Singleton V.L, Rossi J.R. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic–phosphothungstic acid. Am. J. Enol. Vitic, 1965 ; 16 :1-144.

Sivanandham, V. Free Radicals in Health and Diseases- A Review. Pharmacologyonline, 2011 ; 1:1062-1077.

Sivaraj D, Shanmugam S, Rajan M. Evaluation of *Aristolochia indica* L. and *Piper nigrum* L. methanol extract against centipede *Scolopendra moristans* L. using Wistar albino rats and screening of bioactive compounds by high pressure liquid chromatography: a polyherbal formulation,” Biomedicine & Pharmacotherapy, 2018 ; 97 :1603–1612.

Sokol-Letowska, A., Oszmiansk, J., & wojdylo, A. (2007). Antioxydant activity of the phenolic compounds of Hawthorn, pine and skullcap. Food chemistry, 103(3), 853-859. Doi: org/10.1016/j.foodchem.2006.09.036.

Soni A and Sosa S. Phytochemical Analysis and Free Radical Scavenging Potential of Herbal and Medicinal Plant Extracts. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry 2013; 2 (4): 22-29.

Sosa S, Balick M.J, Arvigo R, Esposito R.G, Pizza C, Altinier G, Aurelia Tubaro, Screening of the topical anti-inflammatory activity of some Central American plants. Journal of Ethnopharmacology. 2002 ; 81(2) : 211-215. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(02\)00080-6](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(02)00080-6).

Su X, Duan J, Jian Y, Shi J et Kakuda Y. Effect of soaking conditions on the antioxidant potentials of oolong tea. Journal of Food Composition and Analysis. 2006 ; 19, 348-353.

Subramaniyan V, R. Saravanan, D. Baskaran, and S. Ramalalingam. In vitro free radical scavenging and anticancer potential of *Aristolochia indica* L. Against MCF-7 cell line/ International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 2015 ; 7(6) : 392–396, 2015.

Szymańska R, Ślesak I, Orzechowska A, Kruk J. Physiological and biochemical responses to high light and temperature stress in plants, *Environmental and Experimental Botany*, 2017 ; 139 : 165-177, <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.05.002>.

Tagnaout I, Zerkani H, Mahjoubi M, Bourakhouadar M, Alistiqsa F, Bouzoubaa A, Zair T. Phytochemical study, antibacterial and antioxidant activities of extracts of *Capparis spinosa* L. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*.2016 ; 8 (12): 1993-2006.

Tan J.B.L et Lim Y.Y. Critical analysis of current methods for assessing the *in vitro* antioxidant and antibacterial activity of plant extracts. *Food chemistry*. 2015 ; 172, 814-822.

Taslimi P, Caglayan C, Farzaliyev V, Nabiyeu O, Sujayev A, Turkan F, Gulçin İ. 2019. "Synthesis and discovery of potent carbonic anhydrase, acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, and α -glycosidase enzymes inhibitors: The novel N, N'-bis-cyanomethylamine and alkoxyethylamine derivatives". *Journal of biochemical and molecular toxicology*, 32(4), e22042.

Tesoriere L., Butera D., Gentile C., Livrea MA. Bioactive components of caper (*Capparis spinosa* L.) from Sicily and Antioxidant Effects in a Red Meat Simulated Gastric Digestion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2007 ; 55:8465–8471. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17887802>.

Thirumal M, Vadivelan R, Kishore G, Brahmaji V.S. *Aristolochia bracteolata* : An Overview on Pharmacognostical, Phytochemical and Pharmacological Properties. *Critical review in pharmaceutical sciences*. 2012 ; 1(1) : 70-82.

Tippmann, H.F., Schlüter, U., Collinge, D.B., 2006. Common themes in biotic and abiotic stress signalling in plants, in: *Floriculture, Ornamental and Plant Biotechnology*. Global Science Books.

Tlili Mohammed Laid. Contribution à la caractérisation structurale et biologique de quelques principes actifs extraits de deux plantes médicinales du Sahara Algérien *Salvia chudaiei* (Lamiaceae) et *Pergularia tomentosa* (Asclepiadeceae). Thèse de doctorat en sciences, Université Kasdi Merbah – Ouargla, (Algérie) ; 2021, 168p.

Tlili N, Elfalleh W, Saadaoui E, Khaldi A, Triki S, Nasri N. The caper (*Capparis* L.): Ethnopharmacology, phytochemical and pharmacological properties, *Fitoterapia*, 2011; 82(2) : 93-101. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2010.09.006>.

Tlili N, Feriani A, Saadou E, Nasri N, & Khaldi A. *Capparis spinosa* leaves extract: Source of bioantioxidants with nephroprotective and hepatoprotective effects. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2017 ; 87 :171-179.

Tlili N, Feriani A, Saadou E, Nasri N, Khaldi A. *Capparis spinosa* leaves extract : Source of bioantioxidants with nephroprotective and hepatoprotective effects. *Biomed Pharmacother*. 2017 ; 87:171-179. doi: 10.1016/j.biopha. 2016.12.052.

Tlili N, Khaldi A, Triki S, Munné-Bosch S. Phenolic compounds and vitamin antioxidants of caper (*Capparis spinosa*). *Plant Foods and Human Nutrient*, 2010 ; 65: 260– 265.

Tlili N, Mejri H, Anouer F, Saadaoui E, Khaldi A, Nasri N. Phenolic profile and antioxidant activity of *Capparis spinosa* seeds harvested from different wild habitats. *Industrial Crops and Products*, 2015 ; 76: 930–935.

Tlili N, Munné-Bosch S, Nasri N, Saadaoui E, Khaldi A, Triki S. Fatty acids, tocopherols and carotenoids from seeds of Tunisian caper “*Capparis spinosa*”. *Journal of Food Lipids*. 2009 ; 16: 452 –464.

Tolba I. Détermination d'un méta-paramètre pour l'estimation de la capacité antioxydante globale des thés, tisanes et jus. Thèse de doctorat en sciences de l'environnement. Université du Québec. 2016 ; 116p.

Treutter, D. Significance of Flavonoids in Plant Resistance and Enhancement of Their Biosynthesis. *Plant Biology*, 2005 ; 7 : 581-591. <https://doi.org/10.1055/s-2005-873009>.

Trouillas, P.; Calliste, C.A.; Allais, D.P.; Simon, A.; Marfak, A.; Delage, C.; Duroux, J.L. Antioxydant, anti-inflammatoire et antiprolifératif propriétés de seize extraits de plantes utilisés dans le Limousin countryside as herbel tea. *Food chem*. 2003, 80: 399-407.

Tucker P.S, Scanlan A.T and Dalbo V.J. Chronic Kidney Disease Influences Multiple Systems: Describing the Relationship between Oxidative Stress, Inflammation, Kidney Damage, and Concomitant Disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2015 : 1-8. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/806358>.

Tuekaew J., Siriwatanametanon N., Wongkrajang Y., Tamsiririrkkul R., Jantan I. (2014). Evaluation of the Antioxidant Activities of Ya-hom Intajak, a Thai Herbal Formulation, and its Component Plants. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 13(9): 1477-1485.

- Vahid H, Rakhshandeh H, Ghorbani A. Antidiabetic properties of *Capparis spinosa* L. and its components. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2017 ; 92 : 293–302.
- Valko M, Rhodes C.J, Moncol J, Izakovic M & Mazur M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160(1), 1-40.
- Van Raamsdonk J.M, Vega I.E et Brundin P. Oxidative stress in neurodegenerative disease : causation or association?. *Oncotarget*. 2017 ; 8:10777-10778.
- Veeresham, C. (2012). Natural products derived from plants as a source of drugs. *Journal of advanced pharmaceutical technology & research*, 3(4), 200.
- Verma N et Shukla S. Impact of various factors responsible for fluctuation in plant secondary metabolites, *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*. 2015 ; 2(4) : 105-113. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2015.09.002>.
- Verpoorte R et Alfermann A.W. *Metabolic Engineering of Plant Secondary Metabolism*. Springer Science & Business Media. 2013 ; 286 p.
- Vina J. The free radical theory of frailty : Mechanisms and opportunities for interventions to promote successful aging. *Free Radical Biology and Medicine*. 2019 ; 134: 690–694.
- Wadood A.A, Ghufuran M, Jamal S.B, Naeem M, Khan A, Ghaffar R and Asnad I. Phytochemical Analysis of Medicinal Plants Occurring in Local Area of Mardan. *Biochem Anal Biochem* 2013, 2(4) : 1-4. DOI: 10.4172/2161-1009.1000144.
- Walkley A et Black A. (1974) - A critical examination of rapid methods for determining organic carbon in soils. *Soil. Sci*, 62: 251-254.
- Walton N. J, Mayer M. J and Narbad A. Molecules of interest : vanillin,” *Phytochemistry*, 2003 ; 63(5) :505–515.
- Wang, J., Yuan, Y., Zhang, P., Zhang, H., Liu, X., & Zhang, Y. Neohesperidin prevents A β 25–35-induced apoptosis in primary cultured hippocampal neurons by blocking the S-nitrosylation of protein-disulphide isomerase. *Neurochemical Research*, 2018 ; 43(9), 1736-1744.
- Watson R.R., Preedy V.R., Zibadi S. *Polyphenols: Prevention and Treatment of Human Disease*. 2 Eds., Academic press. 2018 ; 484p.

- Weidner S., Król A., Karamać M. & Amarowicz R. (2018). Phenolic compounds and the antioxidant properties in seeds of green-and yellow-podded bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties. *CYTA J Food*. 16(1): 373-380.
- Williams C.A et Grayer R.J. Anthocyanins and other flavonoids. *Nat Prod Rep*. 2004 ; 21(4):539-73. doi: 10.1039/b311404j.
- Wink M. Evolution of secondary metabolites in legumes (Fabaceae), *South African Journal of Botany*. 2013 ; 89 :164-175. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2013.06.006>.
- Wintola O, Afolayan A. The antibacterial, phytochemicals and antioxidants evaluation of the root extracts of *Hydnora africana* Thunb. used as antidysenteric in Eastern Cape Province, South Africa. *BMC Complement Altern Med*, 2015 ; 15, 307. <https://doi.org/10.1186/s12906-015-0835-9>.
- Wu T.S, Damu A.G, Su C.R, Kuo P. C. Terpenoids of *Aristolochia* and their biological activities. *Natural Product Reports*, 2004 ; 21(5), 594-624.
- Wu X, Shi Q, Shen S, Huang C, Wu H. Clinical and Bacterial Characteristics of *Klebsiella pneumoniae* Affecting 30-Day Mortality in Patients With Bloodstream Infection. *Front Cell Infect Microbiol*. 2021 ; 11:688989. doi:10.3389/fcimb.2021.688989.
- Yadav, S.K., 2010. Cold stress tolerance mechanisms in plants. A review. *Agron. Sustain. Dev*. 30, 515–527.
- Yaman C, Önlü Ş, Ahmed H.A.A and Erenler R. Comparison of phytochemicals and antioxidant capacity of hypericum perforatum; wild plant parts and in vitro samples. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 2022 ; 32(2): 596-603. <https://doi.org/10.36899/JAPS.2022.2.0459>.
- Yang D.L, Mei W.L, Wang H et Dai H.F. Antimicrobial Alkaloids from the Tubers of *Stephania succifera*. *Z. Naturforsch.*, 2010 ; 65(6) : 757-761.
- Yokota A., Takahara K et Akashi K. *Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants*. Springer, 2006 : 15–39.
- Yoland D. Diversité chimique et caractérisation de l'impact du stress hydrique chez les lavandes. Thèse pour obtenir le grade de docteur en sciences. Université Jean Monnet - Saint-Etienne, 2005 ; 242p.

Yuan J, Qian Liu, Zhu W, Ding L, Tang F, Yao S. Simultaneous analysis of six aristolochic acids and five aristolactams in herbal plants and their preparations by high-performance liquid chromatography–diode array detection–fluorescence detection. *Journal of Chromatography A*. 2008 ; 1182 (1) : 85-92. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.12.076>.

Zaiter A. Etude de la phytochimie de 12 plantes de la région Lorraine en fonction de la granulométrie de poudres superfines. Thèse pour obtenir le grade de docteur en Sciences. Université DE LORRAINE (France). 2017 ; 199p.

Zargoosh Z, Ghavam1 M, Bacchetta G & Tavili A. Effects of ecological factors on the antioxidant potential and total phenol content of *Scrophularia striata* Boiss. *Scientific Reports*. 2019 ; 9:16021. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-52605-8> 1.

Zengin G, Senkardes I, Mollica A, Picot-Allain C.M.N, Bulut G, Dogan A, & Mahomoodally M. F. New insights into the in vitro biological effects, in silico docking and chemical profile of clary sage–*Salvia sclarea* L. *Computational Biology and Chemistry*, 2018 ; 75, 111-119.

Zergui F.Z. Contribution à l'étude phytochimique et possibilités de valorisation d'une espèce dunaire du littoral oranais *Matthiola sinuata* (L.)R.Br.1812. Thèse pour obtenir le grade de docteur en sciences, Université Djillali Liabes de Sidi Bel Abbes. 2016 ; 101p.

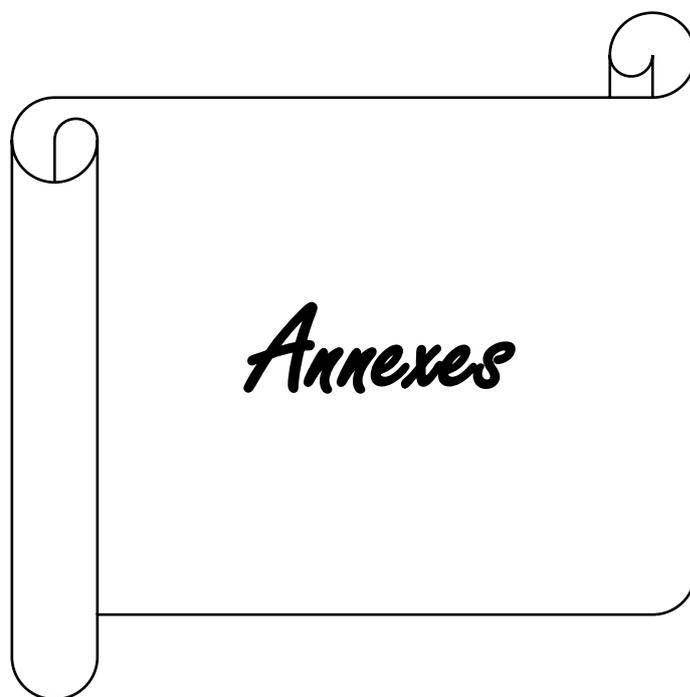
Zhang H and Ma Z. Phytochemical and pharmacological properties of *Capparis spinosa* as a medicinal plant. *Nutrients*, 2018 ; 178 : 116-121.

Zhang J.P, Tian X.H, Yang Y.X, Liu Q, Wang Q, Chen L.P, Li H.L Zhang W.D. Gleditsia species: An ethnomedical, phytochemical and pharmacological review. *Journal of Ethnopharmacology*, 2016 ; 3(178), 155-171.

Zhou H, Jian R, Kang J. Anti-inflammatory Effects of Caper (*Capparis spinosa* L.) Fruit Aqueous Extract and the Isolation of Main Phytochemicals. *J Agric Food Chem* 2004; 58: 12717–12721.

ZID E., 1982. Relations hydriques dans la feuille de *Citrus aurantium* : effets de l'âge et de la salinité. *Rev. FAC. Sc. Tunis*, 2 : 195-205.

Zouaidia H. (2006). Bilan des incendies de forêt dans l'Est algérien, cas de Mila, Constantine, Guelma et Souk Ahras. Thèse de Magister. University of Constantin, 198p.



Annexes

Annexe 1. Composition des milieux de culture utilisés dans l'activité antibactérienne.

Eau physiologique stérile :

Chlorure de sodium (NaCl)	9g
Eau distillée.....	1000mL

Bouillon Brain Heart Infusion (BHIB) :

Protéose-peptone.....	10g
Infusion de cervelle de veau.....	12.5g
Infusion de cœur de bœuf.....	5g
Chlorure de sodium.....	5g
Phosphate di-sodique.....	2.5g
Glucose.....	2g
Eau distillée.....	1000mL

PH=7.5

Gélose Muller Hinton (MH) :(en g /l d'eau distillée)

Peptone.....	17.5g
Extrait de viande.....	2.0g
Amidon	1.5g
Calcium.....	20-25mg
Magnésium.....	10-12.5mg
Agar.....	26g
Eau distillée.....	1L

PH=7.4

Stérilisation à l'autoclave à 121±1 °C pendant 15 à 20 minutes.

Annexe 2. Composition des réactifs utilisés pour le screening phytochimique

Réactif de Wagner

Iodure de potassium (KI).....02g

Di-iode (I₂).....1.27g dans 75 ml d'eau.

Ajuster le volume total à 100 ml d'eau. Les alcaloïdes donnent avec ce réactif un précipité brun.

Réactif de Bouchardat

Iode.....02g

Iodure de potassium02g

Eau distillé.....100mL

Composition des réactifs

Liquueur de Fehling

Réactif à chaud

Solution A

CuSO₄35g

Eau distillée500 mL contenant 5 mL d'H₂SO₄

Laisser refroidir puis compléter au litre avec l'eau distillée

Solution B

Sel de Seignette150g

Eau distillée500mL

Refroidir puis ajouter 300 ml de lessive de soude non carbonaté, compléter au litre avec l'eau distillée.

NB: mélanger les 2 solutions à volume égal au moment de l'emploi.

Annexe 3.**Annexe 3.1.** Résultats des rendements des extraits méthanolique et aqueux de trois parties d'*Aristolochia longa* L.

Partie de la plante	Sétif			Mila			Jijel		
	Feuilles	Tiges	Racines	Feuilles	Tiges	Racines	Feuilles	Tiges	Racines
Rendement En %	Extraits MeOH								
	8.15	6.05	6.55	5.2	4.4	6.4	5.75	6.6	7.8
	Extraits aqueux								
	18.5	8.5	17.8	10.7	17.1	12.8	22	15.7	8.5

Annexe 3.2. Résultats des rendements des extraits méthanolique et aqueux de trois parties de *Capparis spinosa* L.

Partie de la plante	Sétif			Mila			Jijel		
	Feuilles	Tiges	Racines	Feuilles	Tiges	Racines	Feuilles	Tiges	Racines
Rendement En %	Extrait MeOH								
	14.35	5.35	10.8	12.65	5.75	6.75	10.6	8.3	6.96
	Extrait aqueux								
	32.7	6.2	8.1	15.5	5.1	10.1	36.7	9.3	11.2

Annexe 3.3. Teneur en polyphénols, flavonoïdes, flavones et flavonols des extraits
méthanolique d'*A. longa* L.

La plante	Wilaya d'étude	Partie de la plante	polyphénols	flavonoïdes	Flavones et flavonols
			µg Equivalent Acide Gallique / mg d'extrait	µg Equivalent Quercétine / mg d'extrait	µg Equivalent Quercétine / mg d'extrait
<i>Aristolochia Longa</i> L.	Mila	Feuilles	176.56±1.64	43.51±1.13	29.04±0.34
		Tiges	88.73±1.53	24.22±1.23	9.77±0.12
		Racines	46.33±0.87	7.89±2.35	2.91±1.85
	Sétif	Feuilles	155.79±0.08	36.09±0.038	31.44±2.54
		Tiges	105.60±0.01	21.86±0.025	14.04±1.67
		Racines	49.97±2.43	8.549±1.00	2.71±1.85
	Jijel	Feuilles	169.27±1.67	36.23±0.02	48.44±0.03
		Tiges	155.71±2.32	25.28±0.62	21.30±0.64
		Racines	35.79±0.24	7.56±1.03	3.24±0.65

Annexe 3.4. Teneur en polyphénols, flavonoïdes, flavones et flavonols des extraits aqueux

d'*A. longa* L.

La plante	Wilaya d'étude	Partie de la plante	polyphénols	flavonoïdes	Flavones et flavonols
			µg Equivalent Acide Gallique / mg d'extrait	µg Equivalent Quercétine / mg d'extrait	µg Equivalent Quercétine/ mg d'extrait
<i>Aristolochia Longa</i> L.	Mila	Feuilles	73.86±0.12	18.74±2.43	39.04±0.01
		Tiges	53.28±0.14	9.92±1.56	17.57±0.03
		Racines	49.02±0.23	7.21±1.59	9.04±0.01
	Sétif	Feuilles	98.05±1.43	27.02±0.34	55.24±2.87
		Tiges	63.51±2.04	14.79±0.46	30.64±1.78
		Racines	48.86±1.75	9.80±0.67	16.44±1.54
	Jijel	Feuilles	113.63±0.56	21.35±1.09	48.10±3.43
		Tiges	98.70±0.34	16.81±1.56	45.24±2.89
		Racines	50.53±1.03	17.96±1.67	32.17±3.16

Annexe 3.5. Teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes, en flavones et flavonols des extraits MeOH de différentes parties de *Capparis spinosa* de trois régions d'étude. Les valeurs représentent les moyennes \pm SD de 3 répétitions.

La plante	Wilaya d'étude	Partie de la plante	polyphénols	flavonoïdes	Flavones et flavonols
			μg Equivalent Acide Gallique /mg d'extrait	μg Equivalent Quercétine / mg d'extrait	μg Equivalent Quercétine/ mg d'extrait
<i>Capparis spinosa</i> L.	Mila	Feuilles	207.02 \pm 3.01	84.95 \pm 1.76	64.64 \pm 0.62
		Tiges	67.26 \pm 3.11	21.52 \pm 2.79	19.97 \pm 2.80
		Racines	24.55 \pm 2.65	12.06 \pm 2.06	4.50 \pm 0.41
	Sétif	Feuilles	228.34 \pm 3.44	95.39 \pm 2.50	77.77 \pm 2.75
		Tiges	101.75 \pm 3.55	36.42 \pm 1.98	39.97 \pm 1.50
		Racines	104.55 \pm 2.98	9.048 \pm 1.54	/
	Jijel	Feuilles	137.96 \pm 1.54	85.90 \pm 1.69	36.50 \pm 0.06
		Tiges	85.17 \pm 1.31	21.89 \pm 1.14	23.10 \pm 0.025
		Racines	23.85 \pm 1.57	9.67 \pm 0.89	3.30 \pm 0.034

Annexe 3.6. Teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes, en flavones et flavonols des extraits aqueux de différentes parties de *Capparis spinosa* de trois régions d'étude. Les valeurs représentent les moyennes \pm SD de 3 répétitions.

La plante	Wilaya d'étude	Partie de la plante	polyphénols	flavonoïdes	Flavones et flavonols
			μg Equivalent Acide Gallique / mg d'extrait	μg Equivalent Quercétine / mg d'extrait	μg Equivalent Quercétine/ mg d'extrait
<i>Capparis spinosa</i> L.	Mila	Feuilles	45.57 \pm 0.16	3.96 \pm 1.76	17.50 \pm 1.15
		Tiges	20.29 \pm 0.20	2.18 \pm 1.56	1.64 \pm 0.13
		Racines	29.98 \pm 0.32	2.14 \pm 1.98	9.77 \pm 0.28
	Sétif	Feuilles	49.83 \pm 0.44	5.99 \pm 2.29	21.37 \pm 2.46
		Tiges	29.17 \pm 0.14	4.86 \pm 0.71	10.84 \pm 2.78
		Racines	39.29 \pm 0.14	7.99 \pm 1.05	/
	Jijel	Feuilles	35.76 \pm 0.29	8.23 \pm 6.23	28.50 \pm 1.35
		Tiges	20.60 \pm 0.32	3.62 \pm 5.75	4.50 \pm 1.76
		Racines	25.56 \pm 0.43	2.55 \pm 4.65	2.37 \pm 0.99

**Annexe 4. Valeurs des taux d'inhibitions et des IC50/A05 des activités biologiques
d'*Aristolochia longa* L.**

Annexe 4.1. Test de DPPH

Extraits (µg /mL)	(% d'Inhibition du DPPH							
	12.5µg	25µg	50µg	100µg	200µg	400µg	800µg	CI50 (µg/mL)
EMFS	8.90±4.03	15.75±1.20	31,49±0,98	62,72±0,39	86,03±0,08	85,28±1,39	80,87±0,60	79,06±0,61
EMFM	9.61±1.85	16.55±0.47	31,14±0,13	62,01±0,20	88,08±0,43	87,06±0,23	82,56±0,91	80,43±0,22
EMFJ	9.16±2.40	17,66±0,23	34,34±0,96	69,48±0,60	85,99±0,80	84,21±0,41	77,40±0,31	71,52±0,61
EMRS	1,30±0,22	6,79±0,33	12,99±0,65	17,08±0,88	39,85±0,22	50,88±0,07	71,66±0,22	388,55±1,04
EMRM	0,38±0,14	3,22±0,22	3,56±0,38	7,07±0,30	8,05±0,01	20,69±0,22	52,36±0,14	565,68±0,87
EMRJ	1,49±0,22	2,79±0,36	3,13±0,29	7,27±0,96	32,58±0,29	45,67±0,22	62,66±0,22	528,52±1,77
EMTS	1,90±3,47	8,57±0,08	14,23±0,81	30,14±0,88	55,62±2,95	87,35±0,68	85,88±0,56	178,10±8,80
EMTM	6,09±3,13	6,96±1,65	15,42±0,99	29,77±1,92	58,93±1,17	87,95±0,90	86,20±0,63	186,63±5,42
EMTJ	7,97±2,39	12,62±0,42	25,13±0,32	49,04±1,24	84,59±0,48	87,31±0,55	85,05±0,44	109,20±1,25
EAFS	16,01±2,15	28,66±3,30	46,37±4,08	65,78±4,46	SAT	SAT	SAT	88,78±47,88
EAFM	3,40±9,67	7,90±6,18	18,44±7,02	24,53±4,34	25,55±3,57	SAT	SAT	>800
EAFJ	17,16±11,85	23,18±7,68	42,38±6,25	64,23±7,96	SAT	SAT	SAT	71,32±9,60
EARS	10,34±3,57	5,54±3,38	4,08±0,82	2,49±7,85	12,96±1268	19,28±746	SAT	>800
EARM	9,06±4,76	6,08±5,11	11,62±1,64	21,35±2,24	29,38±174	41,00±527	SAT	321,68±5,46
EARJ	24,09±8,78	23,54±7,57	22,20±5,75	25,85±3,52	SAT	SAT	SAT	>800
EATS	12,57±9,19	24,51±4,55	31,39±1,61	31,08±4,68	44,23±6,40	SAT	SAT	304,53±102,86
EATM	9,06±4,76	6,08±5,11	11,62±1,64	21,35±2,24	28,38±1,74	41,00±5,27	SAT	560,07±114,80
EATJ	8,34±6,25	12,42±3,13	23,15±3,73	39,70±8,61	47,48±4,87	SAT	SAT	205,21±31,15
BHA	76,55±0,48	79,89±0,26	81,73±0,10	84,18±0,10	87,13±0,17	89,36±0,19	90,14±0,00	6.14±0.41
BHT	49,09±0,76	72,63±2,06	88.73±0,89	94.00±0,31	94.97±0,08	95.38±0,41	95.02±0,23	12.99±0.41

Annexe 4.2. Test d'ABTS

Extraits (µg /mL)	(% d'Inhibition de l'ABTS							
	12.5µg	25µg	50µg	100µg	200µg	400µg	800µg	IC50 (µg/mL)
EMFS	27.58±0.46	50.40±1.53	75.45±1.87	89.12±1.14	90.24±1.45	SAT	SAT	28.26±0.72
EMFM	22.60±0.70	41.50±2.22	68.59±0.66	91.67±0.62	91.67±0.09	91.82±0.32	SAT	33.95±0.38
EMFJ	22.34±1.99	42.77±1.99	71.29±2.97	89.99±1.71	90.29±1.67	90.90±0.58	SAT	32.74±1.57
EMRS	9.59±1.22	18.67±0.54	29.93±1.45	48.99±2.14	71.24±1.91	79.82±20.40	92.38±0.49	102.14±4.66
EMRM	9.75±2.72	15.08±1.77	28.87±0.44	47.31±0.78	69.96±0.42	89.35±0.64	92.38±0.39	121.48±1.05
EMRJ	8.86±1.02	14.74±2.21	29.09±1.12	52.75±1.47	72.20±0.64	90.02±0.42	92.10±0.58	93.80±2.06
EMTS	19.09±2.66	39.30±3.86	61.88±0.16	87.13±0.64	91.69±1.31	SAT	SAT	38.10±1.03
EMTM	15.44±4.39	32.39±2.35	57.16±1.53	83.00±1.25	90.88±2.42	92.06±0.33	SAT	41.99±2.85
EMTJ	19.73±3.78	43.22±2.48	72.82±1.32	92.60±0.48	SAT	SAT	SAT	32.61±0.26
EAFS	-0,72±7,32	27,27±4,36	22,75±17,02	22,70 ± 0,31	98,71 ± 0,39	SAT	SAT	309,30±1,43
EAFM	-1,51±0,97	6,04 ± 1,64	14,05 ± 3,20	28,88 ± 0,28	96,65± 1,20	SAT	SAT	238,12±1,56
EAFJ	13,27±3,39	22,31±1,62	43,62 ± 0,09	68,18 ± 0,26	89,00 ± 2,15	SAT	SAT	267,24±0,51
EARS	-11.35±0.34	2.35±5.79	26.61±3.85	60.86±1.79	78.54±3.33	SAT	SAT	46.53±11.71
EARM	11.71±0.98	25.92±1.08	37.64±0.65	73.76±1.32	88.48±0.39	SAT	SAT	64.84±1.54
EARJ	-14.16±2.85	-1.70±2.97	24.20±2.29	61.19±0.56	81.60±0.52	SAT	SAT	100.75±2.53
EATS	11.92±1.26	23.59±1.38	43.48±1.81	69.93±1.32	87.34±0.54	SAT	SAT	65.47±0.49
EATM	-10.96±1.87	-1.04±3.92	22.64±4.21	61.71±5.00	86.69±0.68	SAT	SAT	98.96±5.91
EATJ	18.89±0.78	24.94±13.42	58.41±1.80	80.01±1.76	87.24±0.98	SAT	SAT	40.62±1.92
BHA	92.83±1.42	94.68±0.42	94.95±0.90	95.32±0.25	95.59±0.47	95.83±0.15	95.86±0.10	1.81±0.10
BHT	69.21±0.40	78.23±1.34	88.12±1.28	88.76±3.07	90.85±1.74	90.95±0.51	96.68±0.39	1.29±0.30

Annexe 4.3. Test du blanchissement du β -carotène.

Extraits ($\mu\text{g/mL}$)	(% d'Inhibition de la β -carotène/acide linoléique							
	12,5	25	50	100	200	400	800	IC50 ($\mu\text{g/mL}$)
EMFS	31.53±6.04	46.29±5.91	44.63±7.01	55.45±4.14	59.20±1.43	62.61±5.01	SAT	61.68±35.62
EMFM	37.18±4.39	50.22±2.84	55.95±4.38	59.91±2.25	64.08±4.44	66.79±4.87	SAT	34.43±8.64
EMFJ	36.17±2.21	49.58±4.70	56.48±2.34	58.00±3.16	62.14±1.61	66.72±0.86	SAT	34.22±5.44
EMRS	5.11±11.46	5.85±6.72	18.56±4.75	24.47±5.91	39.18±2.26	43.25±5.28	48.99±5.05	926.08±42.51
EMRM	2.95±3.02	11.45±5.88	21.27±6.43	30.58±4.62	39.83±3.39	49.77±1.56	62.07±2.41	451.32±42.38
EMRJ	1.25±5.19	18.80±1.46	23.77±2.07	35.98±2.95	42.51±2.32	45.74±1.68	SAT	518.46±39.64
EMTS	26.17±0.48	31.65±1.24	40.21±2.11	46.69±1.16	52.76±0.80	55.02±2.14	58.18±1.04	160.44±8.80
EMTM	21.14±3.03	29.19±1.45	31.81±11.31	45.60±0.11	SAT	SAT	SAT	121.58±6.16
EMTJ	23.20±2.58	32.23±1.49	41.00±2.41	4426±089	46.16±1.34	48.51±2.18	31.30±18.72	538.49±169.29
EAFS	8.59±4.19	19.09±3.48	3174±2.25	42.44±2.31	49.94±2.43	54.61±2.31	59.20±1.84	193.26±15.98
EAFM	17.94±3.15	27.50±2.99	33.66±0.43	41.76±2.15	47.04±1.74	50.53±1.74	57.03±3.40	389.22±127.46
EAFJ	14.91±0.49	22.79±2.19	31.79±9.78	33.20±2.61	SAT	SAT	SAT	>800
EARS	-515±316	-1102±362	-1329±1222	-2307±5.32	-25.03±7.42	-4882±421	-56.02±7.99	NA
EARM	-5.56±5.37	-6.18±2.94	-9.99±4.57	-24.00±7.25	-43.36±3.34	-4861±539	-62.31±2.10	NA
EARJ	-9.58±1.43	-12.98±9.64	-22.35±4.25	-31.72±5.82	-46.45±4.16	-4614±1168	-47.48±10.39	NA
EATS	31.99±3.44	27.59±4.12	38.29±2.16	48.07±1.57	53.91±1.33	61.41±3.24	62.41±0.34	129.18±29.87
EATM	17.53±3.24	23.07±3.37	33.31±2.45	44.39±3.94	5190±211	54.48±4.61	57.58±4.13	175.28±6.72
EATJ	28.73±1.41	39.20±2.37	47.34±1.88	53.13±1.67	54.06±2.25	SAT	SAT	77.99±8.48
BHA	93.48±0.44	95.52±0.33	96.34±0.55	97.56±0.19	97.64±2.22	97.85±0.32	99.66±0.52	1.05±0.03
BHT	88.29±0.10	91.70±0.36	93.65±0.30	93.68±0.46	94.49±0.07	94.88±0.10	95.58±0.19	0.91±0.01

Annexe 4.4. Test du Pouvoir réducteur

Extraits ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbance du pouvoir réducteur (A05)							
	3.125	6.25	12.5	25	50	100	200	A ₀₅ ($\mu\text{g/mL}$)
EMFS	0.11±0.01	0.13±0.02	0.22±0.01	0.34±0.02	0.55±0.04	0.75±0.06	0.97±0.09	43.73±3.38
EMFM	0.10±0.00	0.14±0.03	0.22±0.02	0.36±0.02	0.60±0.01	0.75±0.12	0.88±0.18	39.52±0.54
EMFJ	0.11±0.00	0.15±0.01	0.23±0.01	0.37±0.05	0.44±0.06	0.73±0.03	1.07±0.10	55.03±9.59
EMRS	0.08±0.03	0.08±0.01	0.09±0.00	0.10±0.01	0.14±0.01	0.21±0.02	0.35±0.00	312.39±12.25
EMRM	0.10±0.03	0.07±0.00	0.09±0.02	0.13±0.03	0.14±0.02	0.19±0.00	0.31±0.02	359.45±32.36
EMRJ	0.11±0.03	0.08±0.01	0.08±0.01	0.09±0.01	0.14±0.02	0.25±0.01	0.28±0.00	440.56±57.17
EMTS	0.10±0.00	0.13±0.01	0.17±0.02	0.26±0.02	0.41±0.02	0.84±0.26	0.99±0.15	59.54±20.02
EMTM	0.08±0.01	0.11±0.00	0.15±0.01	0.23±0.00	0.56±0.03	0.59±0.09	0.82±0.19	42.61±2.04
EMTJ	0.11±0.00	0.16±0.01	0.23±0.01	0.35±0.01	0.56±0.04	0.91±0.03	1.23±0.05	44.04±2.04
EAFS	0.10±0.01	0.12±0.00	0.17±0.00	0.26±0.00	0.38±0.01	0.58±0.04	1.15±0.11	81.20±6.32
EAFM	0.08±0.02	0.10±0.03	0.16±0.01	0.22±0.02	0.34±0.01	0.53±0.03	0.86±0.17	90.67±7.15
EAFJ	0.11±0.02	0.14±0.03	0.17±0.01	0.25±0.01	0.40±0.02	0.60±0.06	1.06±0.07	77.88±9.13
EARS	0.05±0.01	0.05±0.01	0.07±0.01	0.07±0.01	0.09±0.00	0.14±0.00	0.20±0.02	>200
EARM	0.05±0.00	0.05±0.00	0.06±0.01	0.07±0.00	0.09±0.00	0.14±0.01	0.17±0.02	>200
EARJ	0.05±0.00	0.05±0.00	0.07±0.01	0.07±0.01	0.09±0.01	0.14±0.01	0.24±0.01	>200
EATS	0.07±0.00	0.09±0.02	0.11±0.01	0.14±0.01	0.22±0.04	0.39±0.03	0.87±0.09	104.83±12.82
EATM	0.07±0.00	0.09±0.01	0.10±0.00	0.15±0.02	0.21±0.02	0.38±0.04	0.56±0.06	170.36±21.12
EATJ	0.08±0.00	0.15±0.11	0.12±0.03	0.15±0.02	0.23±0.02	0.29±0.02	0.68±0.06	150.88±9.75
Ascorbic acid	0.35±0.05	0.46±0.03	0.84±0.12	0.93±0.30	1.18±0.34	1.37±0.20	1.44±0.21	6.77±1.15
α -Tocopherol	0.11±0.00	0.16±0.00	0.21±0.03	0.35±0.03	0.73±0.03	1.37±0.08	1.81±0.09	34.93±2.38

Annexe 4.5. Test de CUPRAC

Extraits ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbance du pouvoir réducteur (A05)							$A_{0.5}$ ($\mu\text{g/mL}$)
	12.5	25	50	100	200	400	800	
EMFS	0.21±0.02	0.32±0.01	0.52±0.02	0.85±0.04	1.59±0.07	2.47±0.14	3.42±0.32	47.58±2.39
EMFM	0.19±0.00	0.31±0.01	0.51±0.01	0.91±0.01	1.53±0.05	2.63±0.06	3.56±0.08	48.14±1.06
EMFJ	0.19±0.01	0.32±0.01	0.54±0.01	0.93±0.05	1.57±0.06	2.74±0.05	3.86±0.14	45.32±1.20
EMRS	0.12±0.02	0.12±0.00	0.15±0.02	0.22±0.01	0.32±0.01	0.50±0.03	0.86±0.12	390.98±22.33
EMRM	0.10±0.00	0.12±0.01	0.14±0.00	0.21±0.01	0.30±0.00	0.46±0.01	0.88±0.10	430.67±18.09
EMRJ	0.11±0.00	0.12±0.00	0.15±0.00	0.23±0.01	0.32±0.00	0.53±0.02	0.88±0.05	368.15±21.04
EMTS	0.15±0.02	0.21±0.01	0.33±0.02	0.55±0.01	1.00±0.03	1.97±0.04	2.97±0.18	88.79±2.10
EMTM	0.13±0.01	0.20±0.01	0.33±0.03	0.55±0.00	1.01±0.01	1.60±0.40	2.67±0.15	88.72±3.51
EMTJ	0.15±0.00	0.23±0.02	0.41±0.02	0.79±0.03	1.33±0.17	2.58±0.32	3.35±0.08	60.16±1.77
EAFS	0.16±0.02	0.25±0.05	0.39±0.01	0.53±0.04	1.14±0.01	1.97±0.21	2.92±1.05	88.36±7.08
EAFM	0.11±0.01	0.16±0.00	0.34±0.14	0.49±0.19	0.67±0.15	1.16±0.07	1.99±0.06	105.45±86.90
EAFJ	0.13±0.00	0.22±0.02	0.34±0.00	0.67±0.02	1.10±0.09	1.73±0.02	2.75±0.04	77.10±5.46
EARS	0.13±0.03	0.16±0.02	0.19±0.02	0.30±0.01	0.48±0.00	0.87±0.08	1.32±0.05	212.03±13.67
EARM	0.10±0.01	0.15±0.01	0.19±0.01	0.32±0.02	0.46±0.01	0.89±0.02	1.72±0.08	205.37±4.74
EARJ	0.10±0.00	0.16±0.02	0.23±0.08	0.32±0.01	0.46±0.01	0.86±0.04	1.63±0.10	212.52±9.29
EATS	0.14±0.01	0.20±0.03	0.26±0.01	0.44±0.03	0.70±0.01	1.23±0.04	2.27±0.03	127.44±1.35
EATM	0.13±0.01	0.17±0.04	0.25±0.02	0.37±0.00	0.64±0.01	1.19±0.02	2.11±0.03	145.44±0.87
EATJ	0.15±0.01	0.19±0.01	0.29±0.01	0.49±0.01	0.82±0.01	1.45±0.02	2.53±0.05	107.43±0.40
BHA	1.12±0.05	1.95±0.31	3.14±0.46	3.58±0.42	3.35±0.20	3.77±0.19	3.92±0.13	5.35±0.71
BHT	1.41±0.03	2.22±0.05	2.42±0.02	2.50±0.01	2.56±0.05	2.86±0.07	3.38±0.13	8.97±3.94

Annexe 4.6. Activité inhibitrice de l'Acétylcholinestérase.

Extraits ($\mu\text{g/ml}$)	(%) d'Inhibition de l'acétylcholinestérase							IC50 ($\mu\text{g/mL}$)
	1.5625	3.125	6.25	12.5	25	50	100	
EMFS	10.74±1.51	29.90±3.00	30.04±5.00	47.64±3.85	74.53±4.70	99.72±2.17	SAT	14.29±1.57
EMFM	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
EMFJ	6.58±4.49	13.59±5.60	27.84±3.84	52.26±4.62	88.88±6.73	SAT	SAT	12.66±1.49
EMRS	-0.89±2.89	-1.85±2.53	-3.90±1.00	-7.94±3.11	4.32±1.28	6.77±2.99	19.01±26.96	>100
EMRM	-29.61±18.00	-10.99±55.14	-26.53±6.82	-11.81±12.50	-17.60±8.17	-4.07±5.71	-1.67±1.70	NA
EMRJ	-0.76±1.09	-0.89±5.80	-5.49±1.44	4.14±0.94	9.56±4.63	10.84±3.99	18.45±3.83	>100
EMTS	-0.18±4.19	-3.97±3.75	-13.09±3.51	-17.50±1.16	-19.61±8.53	4.19±1.46	5.86±9.97	>100
EMTM	7.96±13.86	8.01±6.03	9.20±1.36	9.93±3.76	16.77±1.78	27.23±25.14	31.99±1.84	>100
EMTJ	-1.54±1.92	-14.01±1.67	-15.38±4.58	-16.10±1.87	-17.36±2.93	-18.47±2.25	-23.83±13.24	NA
EAFS	-10.40±5.56	-2.06±9.23	-3.74±8.03	2.13±6.30	4.07±5.74	5.03±7.07	18.23±46.49	>100
EAFM	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
EAFJ	-0.30±4.15	-0.84±6.69	-1.62±0.81	-2.18±6.76	-2.30±4.15	4.17±11.77	5.32±1.23	>100
EARS	-10.01±5.29	-11.43±40.65	-11.66±2.87	-12.28±1.66	-21.58±5.89	-18.95±6.16	-13.25±2.76	NA
EARM	-26.41±6.70	-7.81±39.95	-22.12±3.44	-26.97±7.20	-8.80±13.79	-8.84±11.34	-2.47±7.23	NA
EARJ	-6.99±3.74	-11.41±1.71	-12.30±3.70	-13.41±3.22	-16.89±2.60	-17.19±2.51	-11.92±5.14	NA
EATS	-5.92±3.44	-5.17±4.55	-17.33±1.85	0.57±2.02	4.32±7.62	5.19±3.36	27.96±35.90	>100
EATM	-4.27±4.75	-5.43±1.04	-1.15±4.95	-0.39±8.20	-7.12±4.74	-7.66±3.10	-8.12±1.40	NA
EATJ	-1.80±18.48	-0.33±4.98	-6.65±3.68	-1.88±3.39	-7.97±6.21	-11.63±2.38	4.34±35.76	>100
Galantamine	NT	35,93 ±2,28	43,77 ±0,00	68,50 ±0,31	80,69 ±0,41	85,78 ±1,63	91,80 ±0,20	6.27±1.2

Annexe 4.7. Activité inhibitrice de Butyrylcholinestérase

Extraits (µg/ml)	(%) d'Inhibition de la butyrylcholinestérase							
	1.5625	3.125	6.25	12.5	25	50	100	IC50 (µg/mL)
EMFS	-74.41±13.97	-72.67±17.14	-50.36±3.59	-33.06±10.40	2.56±10.05	14.94±10.99	22.11±3.71	>100
EMFM	-21.89±8.20	-36.14±37.46	-11.66±0.92	2.29±1.95	35.56±2.89	47.04±1.91	79.64±4.98	51.52±2.23
EMFJ	-60.40±2.85	-83.05±72.91	-9.97±13.10	6.84±5.78	29.63±3.26	63.96±3.48	77.49±10.82	46.23±0.80
EMRS	-19.70±9.91	-16.08±32.45	40.20±3.89	52.26±4.33	60.90±1.96	67.74±3.85	78.89±1.31	6.53±8.51
EMRM	-19.71±12.84	25.69±17.07	70.41±7.37	70.55±0.77	71.18±10.59	SAT	SAT	2.42±2.87
EMRJ	0.50±1.81	17.49±19.44	31.06±7.52	41.11±0.92	53.57±2.11	67.94±2.80	73.87±0.76	21.81±1.26
EMTS	-11.37±6.24	-42.41±32.44	-10.32±3.76	-2.39±16.00	16.81±3.90	36.87±3.16	50.05±7.93	100.07±19.43
EMTM	-22.17±29.67	-54.69±70.12	-9.87±25.53	-8.28±13.26	8.16±7.72	38.00±14.62	66.50±4.33	58.52±19.05
EMTJ	-19.10±9.34	-21.30±3.61	-1.15±13.92	1.81±3.64	16.62±4.90	36.29±5.05	66.19±2.01	69.38±3.47
EAFS	-2.30±3.78	-2.95±0.18	-2.97±7.01	-1.51±9.15	3.42±4.15	8.01±7.79	13.05±6.42	>100
EAFM	-1.92±6.95	-31.89±45.93	-10.89±4.26	-16.12±1.92	-2.61±6.15	-17.79±13.18	-38.00±12.72	NA
EAFJ	8.66±7.36	10.61±7.93	11.19±3.49	11.49±4.17	11.69±1.39	16.70±9.80	32.53±8.01	175.03±94.95
EARS	3.61±7.48	3.48±8.00	4.76±6.02	5.02±6.55	7.29±1.77	34.40±2.10	SAT	206.08±169.72
EARM	9.73±3.85	9.85±3.40	9.98±4.02	18.00±2.33	21.84±2.22	29.41±4.85	41.76±3.50	131.22±15.96
EARJ	8.66±7.36	10.61±7.93	11.19±3.49	11.84±4.17	11.90±1.39	16.70±9.80	32.53±8.01	175.03±94.95
EATS	-5.50±5.79	-6.42±3.76	-1.19±1.41	0.97±0.49	-0.32±4.11	-0.86±3.07	-13.58±13.75	NA
EATM	-4.61±5.30	0.23±5.34	0.12±2.94	-3.88±6.61	-13.82±2.27	-13.33±6.91	-15.03±12.03	NA
EATJ	-2.69±11.51	-11.31±5.23	-8.51±1.35	-15.95±0.81	-16.59±4.04	-16.06±2.87	-21.77±7.21	NA
Galantamine	NT	3,26±0,62	6,93±0,62	24,03±2,94	45,13±2,60	63,87±2,85	73,57±0,77	34,75±1,99

Annexe 5. Valeurs des taux d'inhibitions et des IC50/A05 des activités biologiques de *Capparis spinosa* L.

Annexe 5.1. Test de DPPH

Extraits (µg/ml)	(%) d'Inhibition de DPPH							
	12.5µg	25µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	800 µg	CI50 (µg/mL)
EMFS	10,24±3,06	20,38±0,80	34,31±1,74	66,36±2,41	83,93±1,42	83,89±1,00	SAT	74,04±3,17
EMFM	8,10±6,14	14,51±2,01	27,50±3,37	57,63±1,61	82,06±1,30	SAT	SAT	83,06±4,12
EMFJ	4,27±5,99	9,70±0,47	21,05±0,08	42,81±0,28	74,77±1,16	83,36±0,51	SAT	127,45±1,60
EMRS	3,87±1,48	0,97±1,17	6,02±3,21	15,59±3,69	26,70±4,72	47,53±2,25	73,61±1,79	474,57±35,45
EMRM	2,87±3,49	34,7±0,48	13,18±1,56	19,84±3,09	31,51±3,25	54,04±0,79	76,27±3,51	364,49±13,57
EMRJ	1,02±5,56	18,09±5,90	10,23±4,10	20,64±13,12	38,52±4,22	64,20±3,38	81,73±0,48	265,64±19,10
EMTS	5,68±4,40	4,79±1,96	12,56±0,46	26,11±0,71	58,50±1,49	84,83±1,41	84,49±1,14	150,30±7,06
EMTM	8,72±3,20	3,63±6,03	10,51±0,92	17,74±2,31	30,94±0,39	52,09±0,61	76,84±1,99	366,57±11,93
EMTJ	6,03±2,24	6,41±0,56	9,10±1,36	15,09±1,04	27,14±1,82	47,44±2,04	75,38±1,58	466,92±19,65
EAFS	5,61±2,56	11,18±1,25	11,89±3,43	23,09±2,85	36,12±1,85	58,82±3,14	61,37±5,41	324,85±14,69
EAFM	2,59±6,58	4,25±3,18	10,94±2,69	13,73±1,01	23,74±3,76	42,70±2,76	55,80±26,7	650,94±30,02
EAFJ	0,02±2,85	5,73±1,88	9,28±3,90	14,85±2,05	30,32±3,73	59,35±1,16	73,28±0,91	318,04±29,88
EARS	1,35±1,58	2,81±1,54	9,31±0,16	19,88±0,63	36,94±0,41	59,99±0,65	66,75±1,49	365,58±7,86
EARM	2,08±1,04	2,68±1,44	3,27±1,75	5,56±0,86	11,51±1,27	31,45±4,11	49,40±3,01	787,92±59,00
EARJ	1,13±5,41	7,27±5,05	8,90±0,34	16,64±2,74	19,53±0,53	37,57±4,08	50,24±4,05	769,31±98,75
EATS	12,16±1,34	13,40±5,66	13,99±3,78	16,11±7,70	34,33±9,70	49,30±3,56	62,98±6,21	486,73±63,44
EATM	2,34±2,66	2,24±1,04	4,99±1,26	12,17±1,45	24,30±1,89	42,92±1,42	67,53±0,47	538,59±2,95
EATJ	0,64±5,39	1,59±0,23	1,69±2,15	5,11±3,29	7,69±0,60	27,53±0,93	29,71±6,16	>800
BHA	79,89±0,26	81,73±0,10	84,18±0,10	87,13±0,17	89,36±0,19	90,14±0,00	NT	6,14±0,41
BHT	72,63±2,06	88,73±0,89	94,00±0,31	94,97±0,08	95,38±0,41	95,02±0,23	NT	12,99±0,41

Annexe 5.2. Test d'ABTS

Extraits (µg/ml)	(%) d'Inhibition de l'ABTS							
	12.5	25	50	100	200	400	800	IC50 (µg/mL)
EMFS	37.63±2.01	67.48±1.94	90.30±0.56	SAT	SAT	SAT	SAT	17.67±0.74
EMFM	33.51±2.46	57.83±0.61	88.59±1.37	91.48±0.32	92.12±0.28	92.45±0.28	SAT	20.95±0.47
EMFJ	26.49±1.79	48.94±1.37	79.26±1.96	91.59±0.67	91.27±0.49	92.23±0.25	SAT	28.04±1.21
EMRS	7.41±1.81	13.73±0.82	21.76±1.10	36.48±0.86	55.70±1.53	77.15±2.24	89.22±1.77	184.57±7.23
EMRM	6.53±2.03	11.50±1.12	17.88±0.39	28.76±3.29	47.51±1.44	65.96±1.98	80.67±1.48	254.62±5.03
EMRJ	7.98±0.54	11.81±2.14	18.24±1.09	28.39±1.71	44.72±1.66	62.99±5.86	82.33±4.80	278.33±26.14
EMTS	14.96±0.86	29.93±1.74	50.20±0.69	81.32±0.45	91.32±2.13	SAT	SAT	52.67±1.18
EMTM	9.82±2.01	18.05±2.33	40.38±12.63	54.31±0.40	79.10±1.81	89.38±0.91	90.35±0.43	85.29±7.11
EMTJ	11.36±2.06	19.02±1.69	31.41±0.99	51.06±1.59	77.61±3.37	89.78±0.26	90.58±0.30	96.65±2.86
EAFS	26.77±1.31	45.68±8.23	76.94±1.37	83.11±3.24	85.74±0.15	SAT	SAT	29.24±2.21
EAFM	17.26±2.61	36.02±3.77	65.51±5.75	89.13±2.28	SAT	SAT	SAT	37.47±2.74
EAFJ	26.31±0.70	51.80±3.12	79.82±1.58	87.81±3.58	87.86±0.84	SAT	SAT	24.153.17
EARS	6.35±1.19	14.48±0.59	27.43±0.79	51.06±1.00	84.58±1.03	88.68±0.34	SAT	105.042.20
EARM	3.24±1.44	6.82±3.24	13.37±1.06	22.14±1.46	35.19±2.19	55.45±0.68	74.20±0.98	346.34±8.75
EARJ	3.99±8.27	4.18±1.32	12.26±1.26	22.29±1.06	36.30±0.75	59.58±3.72	85.94±1.68	320.72±20.33
EATS	8.68±3.02	13.57±3.00	25.31±4.91	44.36±3.67	73.09±2.58	79.78±20.37	86.90±1.36	39.05±104.43
EATM	3.29±2.00	8.17±2.62	23.20±1.11	39.73±2.46	77.29±1.66	79.50±20.12	88.22±1.08	125.73±3.39
EATJ	3.84±5.12	1024±3.06	16.34±3.29	30.86±0.23	46.08±1.27	73.29±1.15	90.58±0.31	232.82±4.78
BHA	92.83±1,42	94.68±0,42	94.95±0,90	95.32±0,25	95.59±0,47	95.83±0,15	95.86±0,10	1.81±0.10
BHT	69.21±0,40	78.23±1,34	88.12±1,28	88,76±3,07	90.85±1,74	90.95±0,51	96.68±0.39	1.29±0.30

Annexe 5.3. Test du Pouvoir réducteur

Extraits (µg/ml)	Absorbance du pouvoir réducteur (A05)							
	3.125	6.25	12.5	25	50	100	200	A ₀₅ (µg/ml)
EMFS	0.09±0.04	0.17±0.00	0.24±0.03	0.35±0.02	0.66±0.06	1.07±0.05	1.25±0.15	36.86±2.45
EMFM	0.12±0.00	0.18±0.01	0.25±0.01	0.40±0.07	0.66±0.08	0.96±0.03	1.27±0.15	35.57±6.05
EMFJ	0.10±0.01	0.12±0.01	0.18±0.02	0.32±0.01	0.53±0.03	0.82±0.11	1.14±0.10	48.08±5.05
EMRS	0.07±0.00	0.07±0.01	0.08±0.01	0.10±0.01	0.16±0.01	0.21±0.03	0.34±0.05	337.03±64.28
EMRM	0.07±0.00	0.07±0.01	0.09±0.01	0.13±0.01	0.16±0.01	0.25±0.00	0.50±0.06	207.30±27.93
EMRJ	0.07±0.02	0.08±0.01	0.09±0.01	0.12±0.01	0.18±0.01	0.25±0.04	0.44±0.01	233.01±4.81
EMTS	0.05±0.00	0.06±0.01	0.07±0.00	0.09±0.01	0.12±0.00	0.16±0.01	0.27±0.03	>200
EMTM	0.06±0.00	0.06±0.01	0.06±0.00	0.08±0.01	0.09±0.00	0.11±0.01	0.18±0.02	>200
EMTJ	0.06±0.00	0.06±0.00	0.07±0.00	0.07±0.00	0.08±0.01	0.11±0.01	0.15±0.01	>200
EAFS	0.06±0.00	0.07±0.00	0.09±0.00	0.12±0.00	0.18±0.01	0.25±0.02	0.47±0.05	220.50±27.21
EAFM	0.05±0.00	0.06±0.00	0.08±0.00	0.08±0.00	0.09±0.01	0.19±0.01	0.30±0.09	414.62±93.63
EAFJ	0.06±0.01	0.06±0.01	0.08±0.00	0.11±0.00	0.15±0.01	0.16±0.01	0.36±0.04	310.69±34.90
EARS	0.06±0.00	0.07±0.00	0.09±0.00	0.12±0.00	0.18±0.01	0.25±0.02	0.47±0.05	220.50±27.21
EARM	0.05±0.00	0.06±0.00	0.08±0.00	0.08±0.00	0.09±0.01	0.19±0.01	0.30±0.09	414.62±59.73
EARJ	0.06±0.01	0.06±0.01	0.08±0.00	0.11±0.00	0.15±0.01	0.16±0.01	0.36±0.01	310.69±34.90
EATS	0.08±0.01	0.09±0.01	0.11±0.01	0.13±0.2	0.16±0.02	0.23±0.06	0.40±0.04	276.48±0.52
EATM	0.08±0.00	0.09±0.01	0.11±0.00	0.14±0.01	0.12±0.01	0.06±0.02	0.19±0.02	276.78±0.00
EATJ	0.07±0.00	0.07±0.01	0.07±0.00	0.08±0.00	0.08±0.00	0.11±0.02	0.10±0.01	276.78±0.00
Ascorbic acid	0,35±0,05	0,46±0,03	0,84±0,12	0,93±0,30	1,18±0,34	1,37±0,20	1,44±0,21	6,77±1,15
α-Tocopherol	0.11±0.00	0.16±0.00	0,21±0,03	0,35±0,03	0,73±0,03	1,37±0,08	1,81±0,09	34,93±2,38

Annexe 5.4. Test de CUPRAC

Extraits ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbances du CUPRAC (A05)							
	12.5	25	50	100	200	400	800	A ₀₅ ($\mu\text{g/mL}$)
EMFS	0.23±0.02	0.39±0.01	0.62±0.06	1.10±0.08	1.96±0.17	3.11±0.26	4.06±0.11	38.29±3.84
EMFM	0.21±0.01	0.34±0.02	0.61±0.02	1.07±0.08	1.93±0.15	3.00±0.62	3.97±0.13	39.54±1.42
EMFJ	0.19±0.01	0.27±0.01	0.53±0.01	0.85±0.04	1.54±0.10	2.39±0.06	3.48±0.14	47.92±0.88
EMRS	0.10±0.02	0.11±0.00	0.14±0.01	0.18±0.03	0.26±0.02	0.38±0.02	0.40±0.07	>800
EMRM	0.10±0.01	0.12±0.00	0.15±0.01	0.22±0.01	0.33±0.03	0.35±0.10	0.39±0.02	>800
EMRJ	0.10±0.01	0.11±0.01	0.13±0.00	0.20±0.01	0.30±0.01	0.32±0.01	0.42±0.04	>800
EMTS	0.14±0.00	0.21±0.02	0.31±0.02	0.46±0.03	0.80±0.02	1.46±0.03	2.65±0.09	108.34±2.54
EMTM	0.11±0.01	0.15±0.01	0.23±0.01	0.36±0.01	0.60±0.02	1.11±0.04	1.92±0.06	158.66±5.16
EMTJ	0.12±0.00	0.16±0.01	0.21±0.01	0.32±0.01	0.56±0.00	0.95±0.02	1.69±0.05	173.80±4.03
EAFS	0.12±0.01	0.13±0.01	0.18±0.03	0.23±0.01	0.37±0.02	0.62±0.02	1.21±0.06	300.51±13.60
EAFM	0.10±0.03	0.11±0.02	0.15±0.02	0.18±0.01	0.29±0.02	0.47±0.00	0.70±0.01	486.19±20.67
EAFJ	0.09±0.02	0.12±0.02	0.13±0.01	0.20±0.01	0.33±0.01	0.53±0.01	0.91±0.04	366.06±9.36
EARS	0.09±0.00	0.10±0.01	0.13±0.01	0.16±0.01	0.23±0.00	0.38±0.01	0.42±0.04	>800
EARM	0.09±0.01	0.10±0.00	0.11±0.01	0.15±0.01	0.21±0.01	0.34±0.02	0.39±0.06	>800
EARJ	0.12±0.03	0.11±0.01	0.14±0.00	0.20±0.01	0.31±0.02	0.47±0.02	0.45±0.04	>800
EATS	0.11±0.03	0.12±0.01	0.15±0.02	0.21±0.01	0.33±0.01	0.55±0.01	0.96±0.03	359.55±3.72
EATM	0.09±0.01	0.12±0.00	0.15±0.00	0.24±0.01	0.39±0.01	0.68±0.03	1.28±0.06	278.81±2.17
EATJ	0.08±0.00	0.09±0.01	0.11±0.01	0.15±0.01	0.22±0.01	0.37±0.01	0.68±0.02	593.07±342.6
BHA	1,12±0,05	1,95±0,31	3,14±0,46	3,58±0,42	3,35±0,20	3,77±0,19	3,92±0,13	5,35±0,71
BHT	1.41±0.03	2.22±0.05	2.42±0.02	2.50±0.01	2.56±0.05	2.86±0.07	3.38±0.13	8.97±3.94

Annexe 5.5. Test de blanchiment du β -carotène

Extraits ($\mu\text{g/ml}$)	(% d'inhibition de β -carotène/acide linoléique							
	12,5	25	50	100	200	400	800	IC50
EMFS	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
EMFM	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
EMFJ	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
EMRS	21.32±6.24	27.14±7.80	36.10±7.32	41.85±4.03	43.90±3.16	51.81±7.51	52.58±5.35	501.94±401.44
EMRM	5.20±5.58	20.68±2.81	32.12±3.53	42.38±0.18	48.06±1.07	48.98±3.60	56.20±2.48	399.41±98.05
EMRJ	3.37±6.00	18.13±3.39	26.05±8.50	33.04±7.91	40.29±6.54	43.50±4.12	84.87±65.85	560.93±71.52
EMTS	3.59±10.97	7.60±4.97	13.92±19.60	17.71±21.32	35.74±4.23	47.98±1.92	SAT	333.02±113.16
EMTM	5.09±5.75	10.81±3.38	17.72±4.57	31.08±1.08	36.55±4.26	44.93±1.76	51.01±2.40	721.29±60.53
EMTJ	0.12±1.53	5.07±3.32	5.12±1.92	13.63±3.32	14.72±4.42	43.72±2.10	48.53±1.03	739.23±9.64
EAFS	11.43±1.83	18.42±0.93	29.10±2.32	43.54±3.35	53.26±0.41	52.68±1.16	60.83±1.62	169.21±4.75
EAFM	10.76±1.04	15.93±4.09	24.85±1.70	34.50±2.90	22.77±2.28	34.90±3.94	58.82±1.23	652.21±24.89
EAFJ	2.19±8.06	14.17±0.35	25.41±2.19	40.46±1.19	56.05±1.92	50.35±2.36	60.48±1.25	164.64±8.27
EARS	22.53±1.19	32.80±0.84	39.46±1.07	47.92±2.64	49.58±0.86	58.93±1.42	60.08±0.42	110.52±16.30
EARM	12.37±3.76	14.12±3.85	26.06±2.10	38.57±5.77	45.71±2.10	46.15±1.19	57.72±1.08	227.67±26.40
EARJ	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
EATS	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
EATM	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
EATJ	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
BHA	93.48±0.44	95.52±0.33	96.34±0.55	97.56±0.19	97.64±2.22	97.85±0.32	99.66±0.52	1.05±0.03
BHT	88.29±0.10	91.70±0.36	93.65±0.30	93.68±0.46	94.49±0.07	94.88±0.10	95.58±0.19	0.91±0.01

Annexe 5.6. Activité inhibitrice de l'Acétylcholinestérase

Extraits (µg/ml)	(%) d'Inhibition de l'acétylcholinestérase							
	1.5625	3.125	6.25	12.5	25	50	100	IC50 (µg/mL)
EMFS	2.26±1.45	11.18±25.90	-4.81±2.94	-1.48±7.03	-6.66±0.90	-6.19±11.77	-14.33±4.64	NA
EMFM	-4.68±3.20	-7.42±5.39	-10.96±14.82	-14.36±9.60	-17.88±26.00	-21.58±3.87	-36.22±12.42	NA
EMFJ	2.32±7.17	4.52±9.77	-10.34±4.56	-7.82±6.76	-13.76±2.36	-14.73±6.83	-19.86±0.33	NA
EMRS	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
EMRM	-3.88±7.77	-6.59±7.09	-7.86±2.76	-10.10±16.05	-19.76±3.28	-79.35±17.02	-89.89±0.89	NA
EMRJ	-8.88±5.65	-11.77±2.55	-14.56±7.59	-14.69±6.24	-30.77±17.35	-86.86±17.73	-92.61±3.01	NA
EMTS	-10.48±1.36	-12.34±6.52	-16.98±7.02	-18.19±13.48	-16.11±11.14	-14.11±4.03	-12.24±10.01	NA
EMTM	-14.25±3.72	-16.75±3.77	-22.52±2.02	-19.04±1.70	-20.02±7.56	-37.16±11.46	-22.94±9.47	NA
EMTJ	-0.74±1.78	-9.80±35.07	-20.94±11.47	-30.81±3.99	-29.15±5.08	-28.31±8.54	-26.92±0.95	NA
EAFS	0.09±6.00	-3.35±11.08	-5.03±8.65	-5.59±6.45	-9.60±7.14	-9.92±3.85	-10.99±1.53	NA
EAFM	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
EAFJ	-1.92±6.41	-4.54±1.43	-4.58±4.33	-14.96±4.43	0.85±11.83	2.20±11.40	2.27±5.83	>100
EARS	-3.22±4.33	-3.56±5.85	-9.15±0.82	-11.75±4.78	-12.62±16.85	-16.13±3.53	-23.54±12.22	NA
EARM	5.47±0.82	9.14±4.33	14.41±10.84	5.67±25.35	14.09±18.30	8.07±4.29	5.28±5.66	>100
EARJ	-2.97±6.49	26.01±44.39	16.69±1.71	18.27±5.06	11.28±5.06	9.60±6.11	6.01±1054	>100
EATS	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
EATM	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
EATJ	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Galantamine	NT	35,93 ±2,28	43,77 ±0,00	68,50 ± 0,31	80,69 ± 0,41	85,78 ± 1,63	91,80 ± 0,20	6.27±1.2

NT : non testé ; NA : non actif

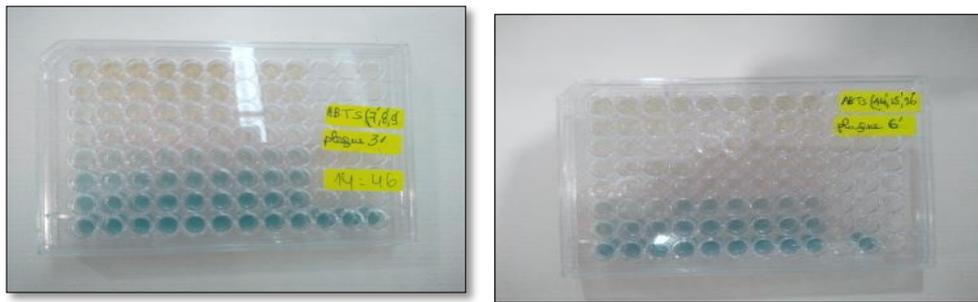
Annexe 5.7. Activité inhibitrice de Butyrylcholinestérase

Extraits (µg/ml)	(%) d'Inhibition de la butyrylcholinestérase							
	1.5625	3.125	6.25	12.5	25	50	100	IC50 (µg/mL)
EMFS	-17.02±15.52	-32.34±15.84	-1.35±1.20	-1.35±6.02	2.61±1.65	11.16±8.12	23.49±5.29	>100
EMFM	-17.61±3.86	-52.31±38.32	-32.39±10.62	-46.12±12.37	-46.33±8.36	-40.15±4.19	-36.90±11.19	NA
EMFJ	-0.40±1.45	-0.88±12.54	-0.24±6.85	-6.57±1.53	-17.62±2.89	-33.97±13.02	-35.23±7.58	NA
EMRS	-5.64±5.03	-7.95±19.67	-11.81±16.63	17.88±4.65	40.34±7.81	41.22±6.50	49.20±6.24	150.77±80.56
EMRM	-7.02±4.34	-19.94±7.63	-5.10±7.25	-10.37±13.54	-4.63±3.08	19.62±5.04	23.44±6.58	143.37±65.56
EMRJ	-13.40±0.48	-76.87±106.04	-11.48±5.43	-10.53±1.91	-9.25±10.62	10.21±5.98	21.85±12.31	147.07±145.38
EMTS	-25.23±2.66	-54.07±33.85	-43.56±1.78	-32.96±2.59	-20.39±3.45	14.01±5.56	20.70±12.73	>100
EMTM	-22.66±8.13	-18.18±14.66	-38.38±7.38	-42.64±3.27	-44.52±5.41	-20.20±8.10	-22.22±5.75	NA
EMTJ	-2.02±10.37	-73.74±83.35	-18.47±8.15	-15.87±11.06	-27.85±3.36	-21.21±12.19	-27.13±17.15	NA
EAFS	1.28±8.53	4.33±4.40	6.27±4.54	18.93±3.65	29.03±8.30	20.59±1.01	15.47±5.22	>100
EAFM	-4.61±5.30	-4.36±7.46	-3.87±7.03	-3.88±6.61	-13.82±2.27	-13.33±6.91	-15.03±12.03	NA
EAFJ	0.26±5.02	1.79±7.32	4.35±3.32	11.38±8.31	16.37±4.67	15.73±13.24	16.37±6.56	>100
EARS	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
EARM	-3.90±5.40	-4.34±6.46	-6.84±8.86	-13.47±5.35	-9.05±5.84	-0.81±2.04	4.64±11.20	>100
EARJ	-6.71±19.81	-7.87±16.26	-17.59±17.45	2.58±0.92	4.05±15.93	11.99±10.21	19.50±11.98	>100
EATS	1.92±6.95	-31.89±45.93	-10.89±4.26	-16.12±1.92	-2.61±6.15	-17.79±13.18	-38.00±12.72	NO
EATM	-18.16±2.64	-11.43±5.18	-27.64±2.16	-26.66±3.47	-29.69±2.24	-20.31±7.49	-17.77±2.89	NA
EATJ	-7.62±17.23	-34.96±41.71	-14.65±8.27	-2.64±16.56	-14.94±4.27	-11.33±2.03	-4.79±5.26	NA
Galantamine	NT	3,26 ± 0,62	6,93 ± 0,62	24,03 ± 2,94	45,13 ± 2,60	63,87 ± 2,85	73,57 ± 0,77	34.75±1.99

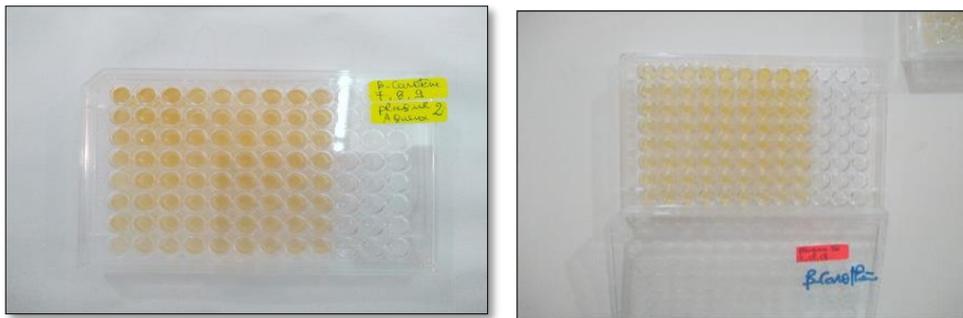
Annexe 6. Photos des activités biologiques.



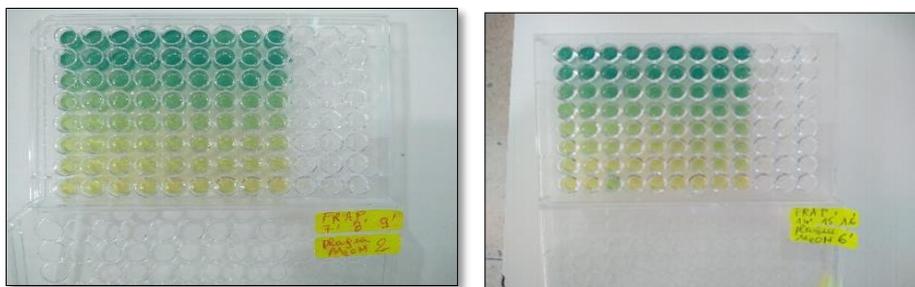
Plaque de dosage de l'activité anti-radicalaire (DPPH).



Plaque de dosage de l'activité anti-radicalaire (ABTS).



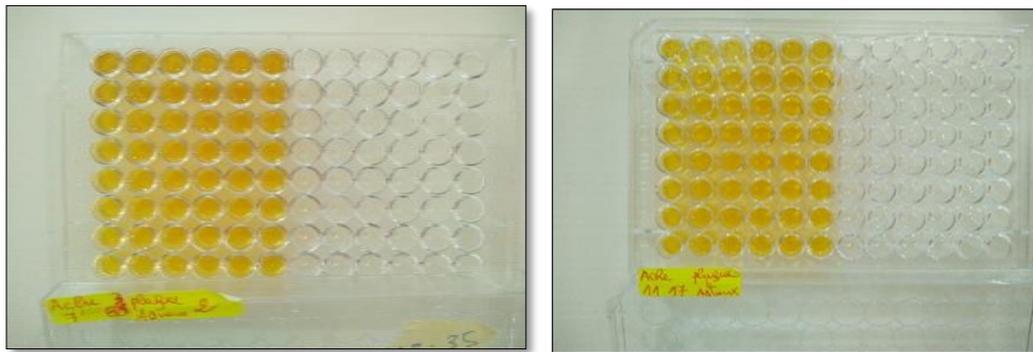
Plaque du test de β -carotène.



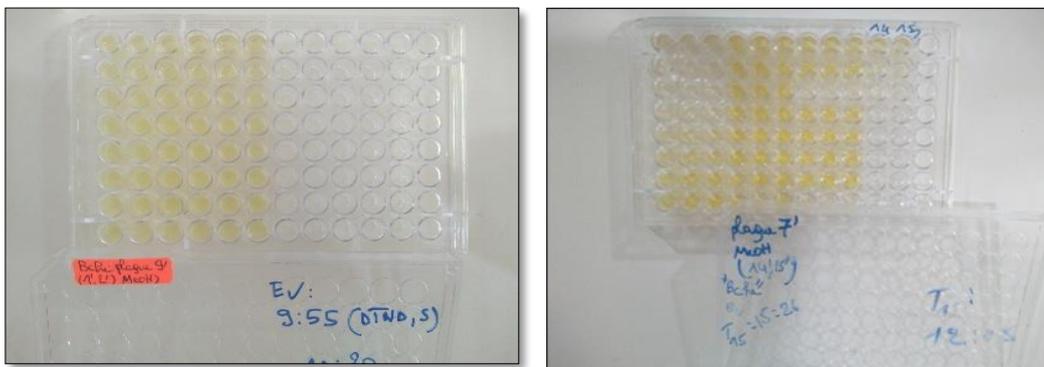
Plaque de dosage de l'activité anti-radicalaire (FRAP).



Plaque de dosage de l'activité de réduction du complexe cuivre-néocuproïne (CUPRAC).



Plaques de dosage de l'activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase.



Plaques de dosage de l'activité inhibitrice de la butyrylcholinestérase.

Annexe 7. Résultats de l'activité antibactérienne de deux plantes.

Annexe 7.1. Diamètre des zones d'inhibition des extraits méthanolique

d'*Aristolochia longa* L. sur les souches bactériennes testés (en mm).

Wilayas	Parties de la plante	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)											
		souches à Gram-positif						souches à Gram-négatif					
		<i>S. aureus</i>			<i>E. faecalis</i>			<i>E. coli</i>			<i>K. pneumonia</i>		
		Concentrations des extraits (mg/mL)											
25	50	100	25	50	100	25	50	100	25	50	100		
Mila	Feuilles	-	-	-	-	-	11.33±0.00	-	-	9.16±0.26	-	-	-
	Tiges	-	-	12.83±0.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Racines	-	-	11.88±1.00	-	-	-	-	10.33±0.53	-	-	-	-
Jijel	Feuilles	-	-	9.46±0.28	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Tiges	-	-	10.33±0.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Racines	-	-	11.33±0.57	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sétif	Feuilles	-	-	10.66±0.58	-	-	9.16±0.00	-	-	-	-	-	-
	Tiges	-	-	11.66±0.57	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Racines	-	-	9.33±1.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(-) : pas d'inhibition

Annexe 7.2. Diamètre des zones d'inhibition des extraits aqueux d'*Aristolochia longa* L.

Wilayas	Partie de la plante	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)											
		souches à Gram-positif						souches à Gram-négatif					
		<i>S. aureus</i>			<i>E. faecalis</i>			<i>E. coli</i>			<i>K. pneumonia</i>		
		Concentrations des extraits (mg/mL)											
50	100	200	50	100	200	50	100	200	50	100	200		
Mila	Feuilles	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Tiges	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Racines	-	-	12.33±0.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Jijel	Feuilles	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Tiges	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Racines	-	-	14.42±0.01	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sétif	Feuilles	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Tiges	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Racines	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(-) : pas d'inhibition.

Annexe 7.3. Diamètre des zones d'inhibition des extraits MeOH de *Capparis spinosa* L.

Wilayas	Partie de la plante	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)											
		souches à Gram-positif						souches à Gram-négatif					
		<i>S. aureus</i>			<i>E. faecalis</i>			<i>E. coli</i>			<i>K. pneumonia</i>		
		Concentrations des extraits (mg/mL)											
25	50	100	25	50	100	25	50	100	25	50	100		
Mila	Feuilles	-	-	7.66±0.26	-	-	10±1.15	-	-	-	-	-	-
	Tiges	-	-	-	-	-	7.32±0.08	-	-	-	-	-	-
	Racines	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Jijel	Feuilles	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Tiges	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Racines	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sétif	Feuilles	-	-	8.66±0.00	-	-	-	-	10.32±0.5	-	-	-	-
	Tiges	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Racines	-	-	9.01±0.22	-	-	-	-	10.21±0.44	-	-	-	-

(-) : pas d'inhibition

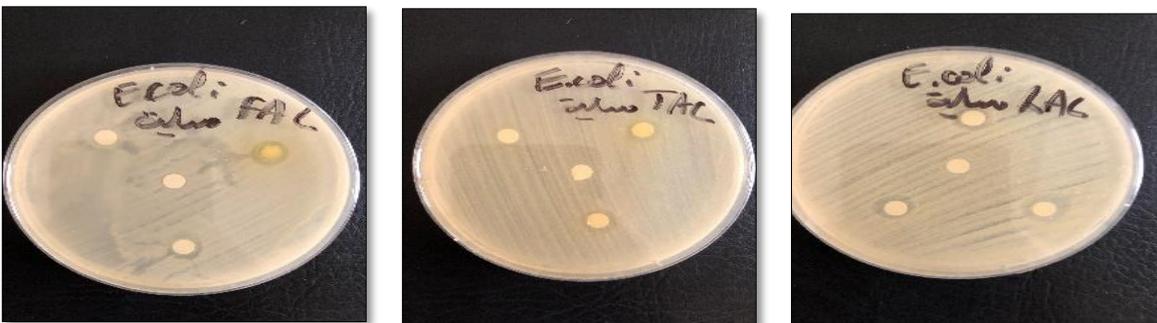
Annexe 7.4. Annexe des photos de l'activité antibactérienne



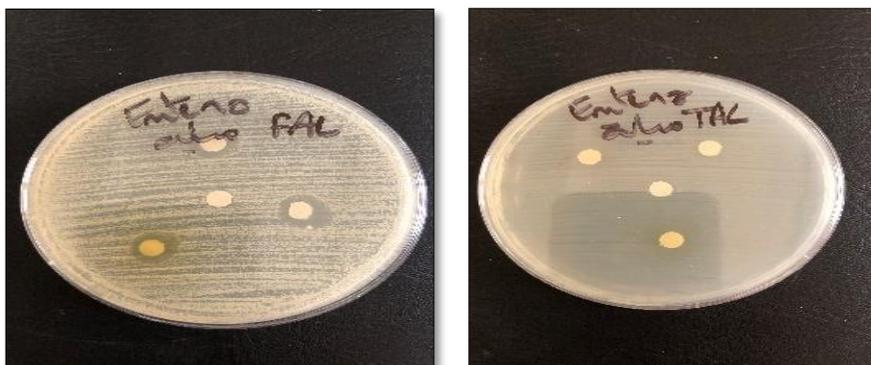
Figure 1. Effet des extraits MeOH de feuilles, tiges et racines d'*A. longa* de Sétif vis-à-vis *E. coli*.



Effet des extraits MeOH de feuilles, tiges et racines d'*A. longa* de Jijel vis-à-vis *E. coli*.



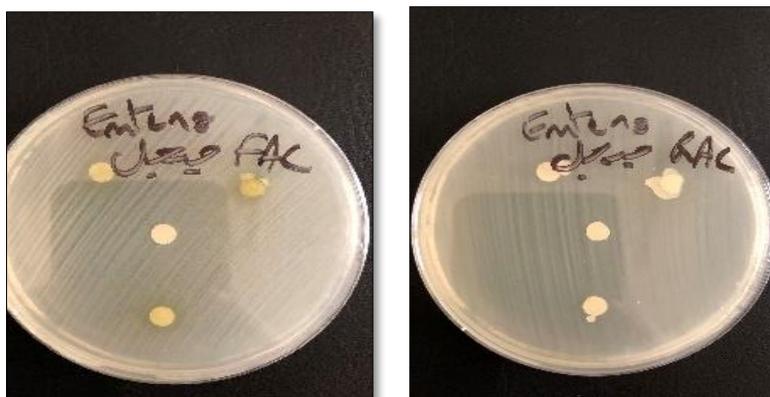
Effet des extraits MeOH de feuilles, tiges et racines d'*A. longa* de Mila vis-à-vis *E. coli*.



Effet des extraits MeOH de feuilles et tiges d'*A. longa* de Mila vis-à-vis *E. faecalis*.



Effet des extraits MeOH de feuilles, tiges et racines d'*A. longa* de Sétif vis-à-vis *E. faecalis*.



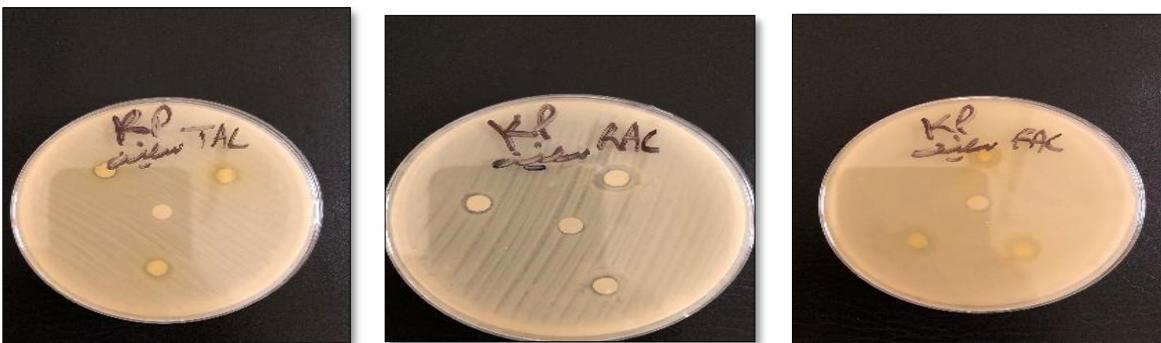
Effet des extraits MeOH de feuilles et racines d'*A. longa* de Jijel vis-à-vis *E. faecalis*.



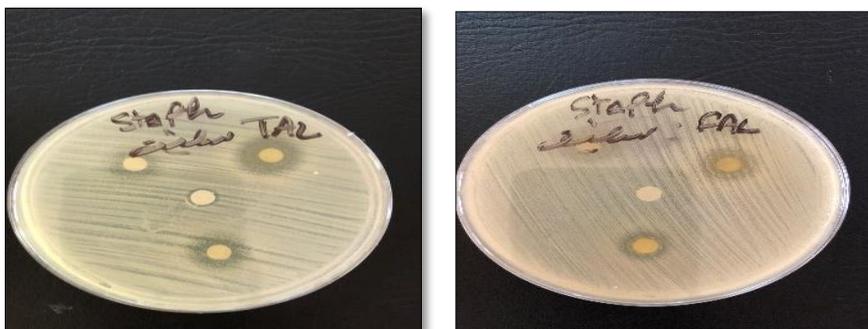
Effet des extraits MeOH de tiges, racine et feuilles d'*A. longa* de Jijel vis-à-vis *K. pneumoniae*.



Effet des extraits MeOH de tiges, racine et feuilles d'*A. longa* de Mila vis-à-vis *K. pneumoniae*.



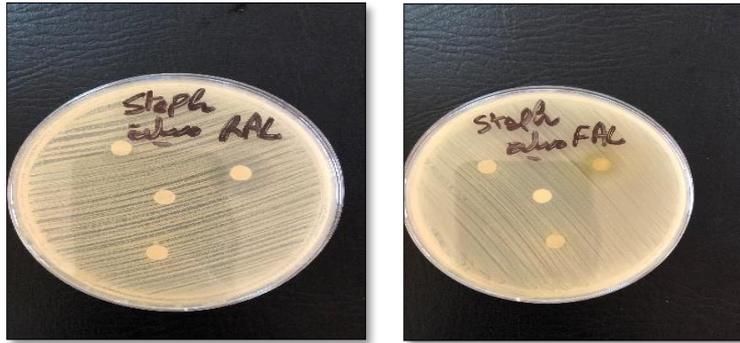
Effet des extraits MeOH de tiges, racine et feuilles d'*A. longa* de Sétif vis-à-vis *K. pneumoniae*.



Effet des extraits MeOH de tiges et feuilles d'*A. longa* de Sétif vis-à-vis *S. aureus*.



Effet des extraits MeOH de tiges, racines et feuilles d'*A. longa* de Jijel vis-à-vis *S. aureus*.



Effet des extraits MeOH de tiges, racine et feuilles d'*A. longa* de Mila vis-à-vis *S. aureus*.



Effet des extraits aqueux de racine, feuilles et tiges d'*A. longa* de Jijel vis-à-vis *E. coli*.



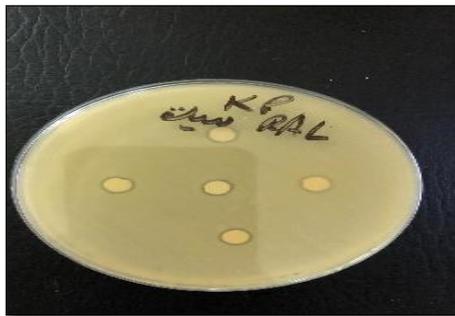
Effet des extraits aqueux de racine, feuilles et tiges d'*A. longa* de Sétif vis-à-vis *E. coli*.



Effet des extraits aqueux de racine, feuilles et tiges d'*A. longa* de Mila vis-à-vis *E. coli*.



Effet des extraits aqueux de feuilles, tiges et racines d'*A. longa* de Sétif vis-à-vis *K. pneumoniae*.



Effet des extraits aqueux de racines d'*A. longa* de Mila vis-à-vis *K. pneumoniae*.



Effet des extraits aqueux de racines d'*A. longa* de Jijel et Mila vis-à-vis *S. aureus*.



Effet des extraits MeOH de racines, feuilles et tiges de *C. spinosa* L. de Sétif vis-à-vis *E. coli*.



Effet des extraits MeOH de racines, feuilles et tiges de *C. spinosa* L. de Jijel vis-à-vis *E. coli*.



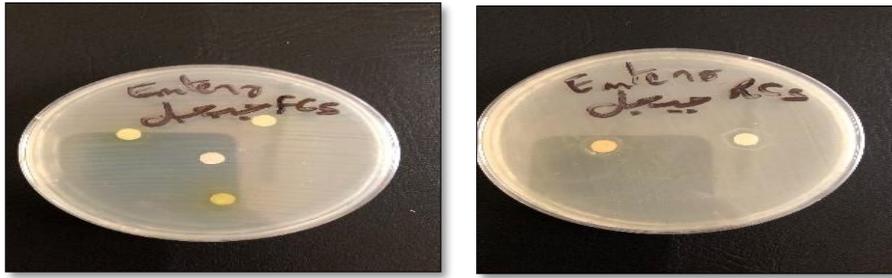
Effet des extraits MeOH de tiges, feuilles et racines de *C. spinosa* L. de Mila vis-à-vis *E. coli*.



Effet des extraits MeOH de feuilles et tiges de *C. spinosa* L. de Mila vis-à-vis *E. faecalis*.



Effet des extraits MeOH de feuilles et tiges de *C. spinosa* L. de Sétif vis-à-vis *E. faecalis*.



Effet des extraits MeOH de feuilles et racines de *C. spinosa* L. de Jijel vis-à-vis *E. faecalis*



Effet des extraits MeOH de racines, feuilles et tiges de *C. spinosa* L. de Jijel vis-à-vis *K. pneumoniae*.



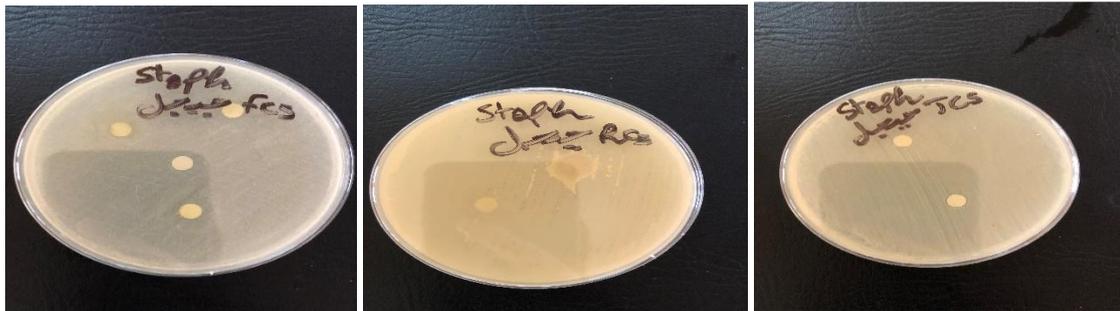
Effet des extraits MeOH de racines, feuilles et tiges de *C. spinosa* L. de Mila vis-à-vis *K. pneumoniae*.



Effet des extraits MeOH de racines, feuilles et tiges de *C. spinosa* L. de Sétif vis-à-vis *K. pneumoniae*.



Effet des extraits MeOH de feuilles et tiges et racines de *C. spinosa* L. de Mila vis-à-vis *S. aureus*.



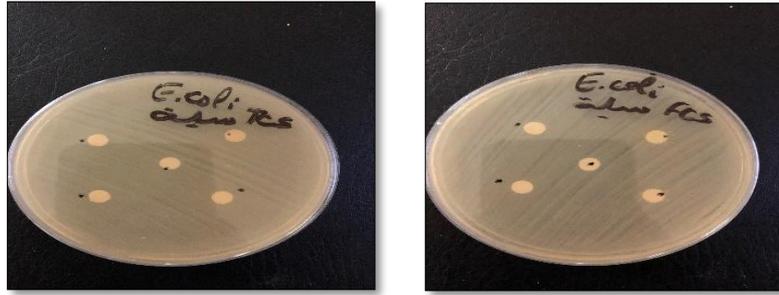
Effet des extraits MeOH de feuilles, racines et tiges de *C. spinosa* L. de Jijel vis-à-vis *K. pneumoniae*.



Effet des extraits aqueux de feuilles, tiges et racines de *C. spinosa* L. de Jijel vis-à-vis *E. coli*.



Effet des extraits aqueux de racines, tiges et feuilles de *C. spinosa* L. de Sétif vis-à-vis *E. coli*.



Effet des extraits aqueux de racines et feuilles de *C. spinosa* L. de Mila vis-à-vis *E. coli*.



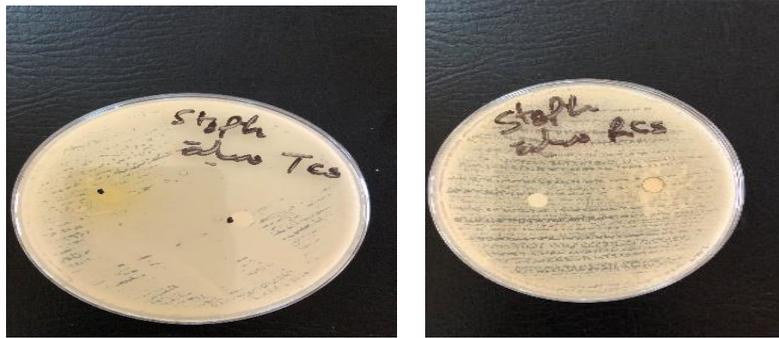
Effet des extraits aqueux de racines, feuilles et tiges de *C. spinosa* L. de Sétif vis-à-vis *K. pneumoniae*.



Effet des extraits aqueux de tiges, racines et feuilles de *C. spinosa* L. de Mila vis-à-vis *K. pneumoniae*.



Effet des extraits aqueux de racines, tiges et feuilles de *C. spinosa* L. de Jijel vis-à-vis *S. aureus*.



Effet des extraits aqueux de tiges et racines de *C. spinosa* L. de Mila vis-à-vis *S. aureus*.

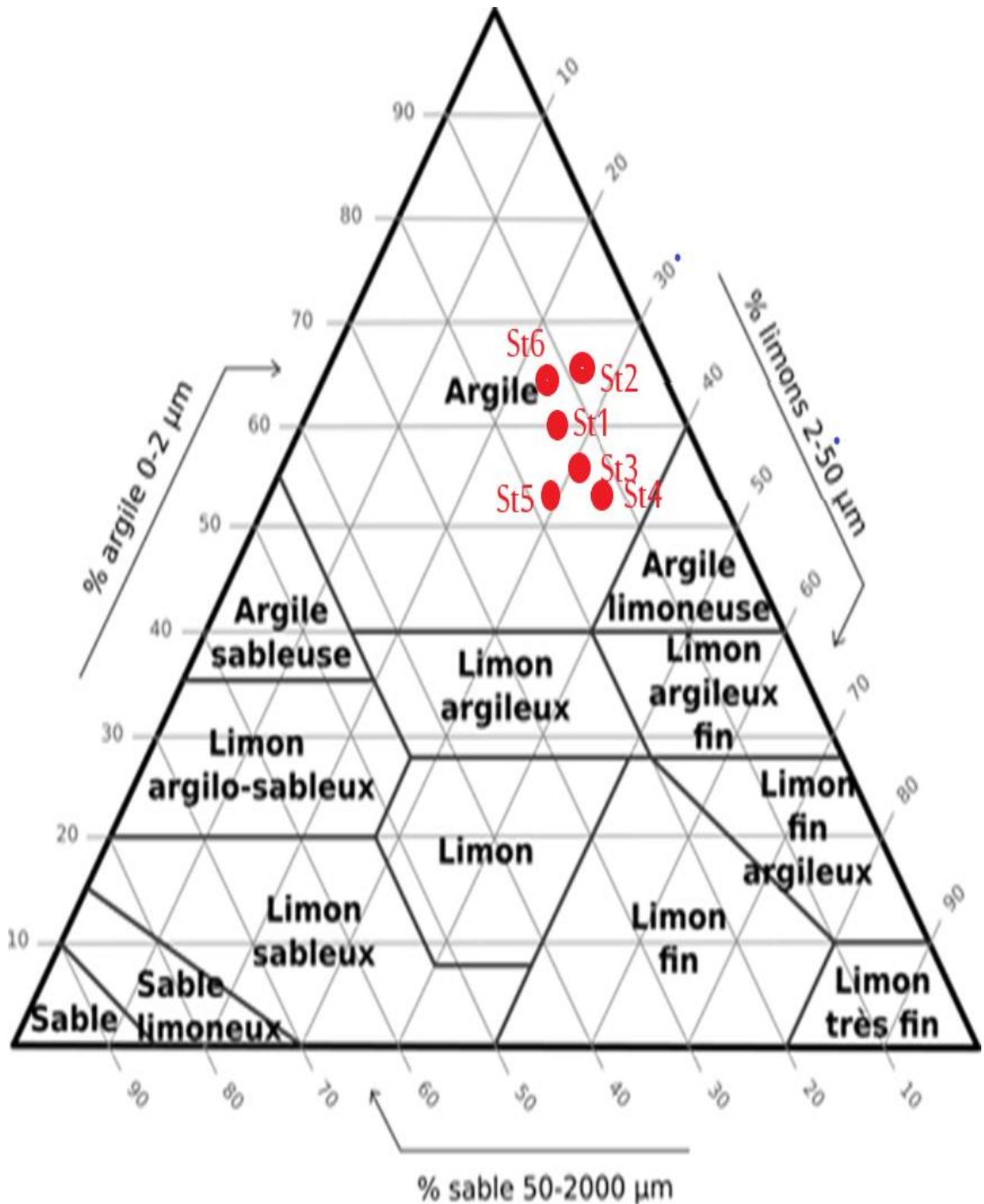
Annexe 8. Matrice de corrélation entre les activités biologiques réalisées x TPC, TFC et TFF (test de Pearson (n)).

	DPPH_EM	ABTS_EM	CUPRAC_EM	FRAP_EM	Be_cat_EM	ACHE_EM	DPPH_EA	ABTS_EA	CUPRAC_EA	FRAP_EA	Be_cat_EA	BCHE_EA
POLY_EM	Corr: -0.777*** Alonga: -0.928***	Corr: -0.731*** Alonga: -0.877**	Corr: -0.478* Alonga: -0.898**	Corr: -0.807** Alonga: -0.883**	Corr: -0.712*** Alonga: -0.657	Corr: 0.306 Alonga: 0.526	Corr: -0.208 Alonga: -0.211	Corr: -0.672** Alonga: -0.803**	Corr: 0.255 Alonga: -0.962***	Corr: 0.104 Alonga: 0.606	Corr: 0.625** Alonga: 0.580	Corr: -0.022 Alonga: -0.045
FLAV_EM	Corr: -0.670* Alonga: -0.910***	Corr: -0.809** Alonga: -0.871**	Corr: -0.042 Alonga: -0.895**	Corr: -0.408 Alonga: -0.856**	Corr: -0.771* Alonga: 0.791*	Corr: NA Alonga: 0.533	Corr: -0.281 Alonga: -0.176	Corr: -0.812* Alonga: -0.754*	Corr: 0.551 Alonga: -0.926***	Corr: -0.057 Alonga: 0.590	Corr: 0.644** Alonga: 0.727*	Corr: -0.249 Alonga: -0.258
FLAV_EA	Corr: -0.680** Alonga: -0.945**	Corr: -0.590** Alonga: -0.871**	Corr: -0.410 Alonga: -0.895**	Corr: -0.561* Alonga: -0.856**	Corr: -0.705** Alonga: 0.791*	Corr: 0.045 Alonga: 0.533	Corr: 0.083 Alonga: -0.152	Corr: -0.456 Alonga: -0.731*	Corr: 0.502* Alonga: -0.926***	Corr: 0.405 Alonga: 0.590	Corr: 0.644** Alonga: 0.727*	Corr: -0.249 Alonga: -0.258
POLY_EA	Corr: -0.691** Alonga: -0.822***	Corr: -0.608** Alonga: -0.789*	Corr: -0.480 Alonga: -0.790*	Corr: -0.616** Alonga: -0.722*	Corr: -0.643** Alonga: -0.699*	Corr: 0.232 Alonga: 0.759*	Corr: -0.014 Alonga: -0.272	Corr: -0.495* Alonga: -0.795*	Corr: 0.428 Alonga: -0.915***	Corr: 0.316 Alonga: 0.418	Corr: 0.471 Alonga: 0.321	Corr: -0.184 Alonga: 0.042
POLY_EA	Corr: -0.517* Alonga: -0.765*	Corr: -0.498* Alonga: -0.729*	Corr: -0.129 Alonga: -0.728*	Corr: -0.161 Alonga: -0.655	Corr: -0.424 Alonga: -0.474	Corr: 0.697** Alonga: 0.746*	Corr: -0.522* Alonga: -0.304	Corr: -0.593** Alonga: -0.736*	Corr: -0.396 Alonga: -0.877**	Corr: -0.556* Alonga: 0.415	Corr: 0.099 Alonga: 0.125	Corr: 0.502* Alonga: 0.218
FLAV_EA	Corr: -0.349 Alonga: -0.605	Corr: -0.476* Alonga: -0.648	Corr: 0.014 Alonga: -0.605	Corr: -0.022 Alonga: -0.431	Corr: -0.354 Alonga: -0.521	Corr: 0.687** Alonga: 0.756*	Corr: -0.702** Alonga: -0.596	Corr: -0.583* Alonga: -0.638	Corr: -0.374 Alonga: -0.702*	Corr: -0.690** Alonga: 0.170	Corr: 0.011 Alonga: 0.314	Corr: 0.273 Alonga: -0.284
FLAV_EA	Corr: -0.555* Alonga: -0.726*	Corr: -0.586* Alonga: -0.755*	Corr: -0.219 Alonga: -0.719*	Corr: -0.157 Alonga: -0.566	Corr: -0.511* Alonga: 0.486	Corr: 0.653** Alonga: 0.690*	Corr: -0.599* Alonga: -0.511	Corr: -0.634** Alonga: -0.675*	Corr: -0.352 Alonga: -0.809**	Corr: -0.483* Alonga: 0.341	Corr: 0.179 Alonga: 0.298	Corr: 0.253 Alonga: -0.128
FLAV_EA	Corr: -0.762* Alonga: -0.927***	Corr: -0.599 Alonga: -0.859	Corr: -0.379 Alonga: -0.839	Corr: -0.220 Alonga: -0.859	Corr: -0.927*** Alonga: -0.927***	Corr: NA Alonga: NA	Corr: -0.205 Alonga: -0.205	Corr: -0.666 Alonga: -0.666	Corr: 0.256 Alonga: 0.256	Corr: 0.030 Alonga: 0.030	Corr: 0.484 Alonga: 0.484	Corr: NA Alonga: NA

Annexe 9. Matrice de corrélation entre la teneur en métabolites secondaires (TPC, TFC, TFF), données climatiques (Précipitations (P), Températures (T) et Humidité (H)) et les caractéristiques du sol dans les 03 wilayas étudiées (test de Pearson (n)).

	Clay	Silt	Sand	pH	OM	EC	CaCO3	P	T	H
TPOLYEM	Corr: 0.070 Alonga: 0.122 C.spinsa: 0.044	Corr: 0.138 Alonga: 0.035 C.spinsa: 0.188	Corr: -0.245 Alonga: -0.002 C.spinsa: -0.326	Corr: -0.121 Alonga: -0.081 C.spinsa: -0.525	Corr: 0.015 Alonga: -0.034 C.spinsa: 0.175	Corr: -0.088 Alonga: -0.127 C.spinsa: -0.067	Corr: 0.144 Alonga: -0.072 C.spinsa: 0.230	Corr: -0.123 Alonga: 0.134 C.spinsa: -0.327	Corr: -0.088 Alonga: 0.183 C.spinsa: -0.302	Corr: -0.077 Alonga: 0.139 C.spinsa: -0.247
PLAVEM	Corr: -0.175 Alonga: -0.063 C.spinsa: 0.013	Corr: 0.023 Alonga: 0.002 C.spinsa: 0.017	Corr: -0.070 Alonga: -0.191 C.spinsa: -0.087	Corr: -0.347 Alonga: -0.128 C.spinsa: -0.550	Corr: -0.328 Alonga: 0.063 C.spinsa: -0.009	Corr: -0.095 Alonga: -0.311 C.spinsa: -0.013	Corr: -0.027 Alonga: -0.119 C.spinsa: 0.030	Corr: -0.031 Alonga: 0.014 C.spinsa: -0.054	Corr: 0.001 Alonga: 0.079 C.spinsa: -0.028	Corr: -0.047 Alonga: -0.044 C.spinsa: -0.059
FLAVLAFLEM	Corr: -0.082 Alonga: 0.264 C.spinsa: -0.003	Corr: 0.273 Alonga: 0.091 C.spinsa: 0.403	Corr: -0.288 Alonga: 0.125 C.spinsa: -0.470	Corr: 0.320 Alonga: -0.089 C.spinsa: -0.389	Corr: -0.332 Alonga: -0.068 C.spinsa: 0.232	Corr: -0.180 Alonga: -0.017 C.spinsa: -0.175	Corr: 0.245 Alonga: 0.200 C.spinsa: 0.550	Corr: -0.189 Alonga: 0.250 C.spinsa: -0.531	Corr: -0.165 Alonga: 0.264 C.spinsa: -0.544	Corr: -0.073 Alonga: 0.280 C.spinsa: -0.328
TPOLYEM	Corr: 0.567* Alonga: 0.472 C.spinsa: 0.052	Corr: 0.074 Alonga: 0.071 C.spinsa: 0.306	Corr: -0.090 Alonga: -0.380 C.spinsa: -0.451	Corr: 0.471* Alonga: 0.023 C.spinsa: -0.154	Corr: 0.710*** Alonga: -0.228 C.spinsa: 0.274	Corr: 0.142 Alonga: 0.245 C.spinsa: -0.104	Corr: 0.307 Alonga: 0.442 C.spinsa: 0.423	Corr: 0.067 Alonga: 0.353 C.spinsa: -0.485	Corr: 0.051 Alonga: 0.325 C.spinsa: -0.504	Corr: 0.149 Alonga: 0.482 C.spinsa: -0.347
PLAVEM	Corr: 0.471* Alonga: 0.373 C.spinsa: -0.510	Corr: 0.053 Alonga: -0.137 C.spinsa: 0.804	Corr: 0.072 Alonga: -0.406 C.spinsa: -0.035	Corr: 0.586* Alonga: 0.220 C.spinsa: -0.229	Corr: 0.736*** Alonga: -0.390 C.spinsa: -0.254	Corr: 0.058 Alonga: 0.308 C.spinsa: -0.603	Corr: 0.296 Alonga: 0.441 C.spinsa: 0.565	Corr: 0.041 Alonga: 0.169 C.spinsa: -0.188	Corr: -0.024 Alonga: 0.043 C.spinsa: -0.271	Corr: 0.180 Alonga: 0.376 C.spinsa: 0.164
FLAVLAFLEM	Corr: 0.476 Alonga: 0.475 C.spinsa: -0.176	Corr: 0.098 Alonga: -0.053 C.spinsa: 0.253	Corr: -0.020 Alonga: 0.461 C.spinsa: -0.080	Corr: 0.463 Alonga: 0.162 C.spinsa: -0.259	Corr: 0.586* Alonga: -0.366 C.spinsa: -0.079	Corr: 0.048 Alonga: 0.343 C.spinsa: -0.229	Corr: 0.399 Alonga: 0.515 C.spinsa: 0.252	Corr: 0.082 Alonga: 0.280 C.spinsa: -0.122	Corr: 0.006 Alonga: 0.178 C.spinsa: -0.131	Corr: 0.215 Alonga: 0.480 C.spinsa: 0.015

Annexe 10. Triangle texturale et classes texturales (Duchefaur., 1991).



Triangle des textures

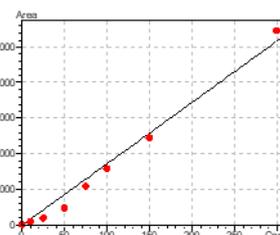
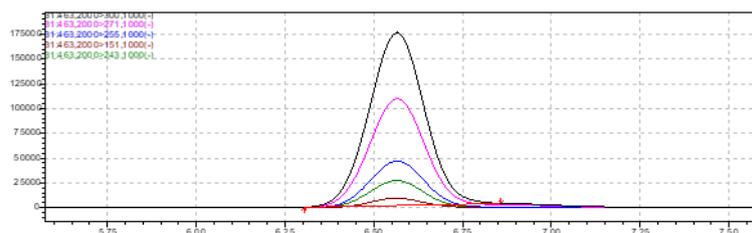
Annexe 11. Temps de rétention des substances phénoliques, masses des ions principaux, masses des ions produits et énergies de collision.

Tableau 1. Temps de rétention, ion précurseur (m/z), ion produit (m/z) et énergies de collision des composés phénoliques.

phenolic substance	Retention Time (min)	Major Ion Mass (g/mol)	Product Ion Masses (g/mol)	Collision Energy (eV)
Tangeretin	9,088	372.60	297.10/211.10/271.10/325.10	-18.0/ -22.0/ -28.0/ -22.0
Gardenin-B	9.46	358.60	133.10/169.10/286.10/311.10	-25.0/ -29.0/ -28.0/ -20.0
Gentisic acid	2,895	153.00	108.10	21.0
chlorogenic acid	3,658	352.90	191.10/127.10	20.0/ 25.0
cafic acid	2,776	179.00	134.10/117.10/109.00	13.0/ 23.0/ 10.0
Routine	6,512	608.90	300.10	20.0
p-Coumaric acid	4,747	163.00	119.10/117.00	22.0/ 22.0
Ferulic acid	3,884	193.00	133.10/105.10	24.0/ 20.0
hesperidin	6,392	609.00	286.10/ 325.50/ 286.10/ 242.50	15.0/ 14.0/ 30.0/ 11.0
Apigenin 7-O glycoside	6,796	430.90	268.10	28.0
Quercetin	7,561	300.90	151.10/ 212.10/ 107.10	15.0/ 24.0/ 20.0
naringenin	7,441	270.90	187.10/ 119.10/ 107.10	20.0/ 21.0/ 20.0
kamempferol	7,943	284.90	239.10/ 227.10/ 211.10/ 117.10	16.0/ 23.0/ 22.0/ 20.0
protocatechuic acid	2,855	153.10	108.90/108.10	20.0/ 11.0
gallic acid	1,149	169.10	125.20/79.0	24.0/ 30.0
4-OH benzoic acid	4,403	137.20	93.10/65.10	17.0/ 24.0
4-OH benzaldehyde	5,429	121.20	65.00/92.10	24.0/ 17.0
Taxifolin	5,993	303.10	125.10/151.10/217.10/199.20	25.0/ 30.0/ 23.0/ 21.0
diosmet	8,084	299.10	63.10/ 83.00/ 151.10/ 227.10	25.0/ 30.0/ 29.0/ 24.0
diosmin	6,734	607.30	284.10/299.10	30.0/21.0
naringin	6,292	579.30	151.10/271.20	29.0/ 18.0
polydatin	5,851	389.30	227.20/143.20	23.0/ 28.0
Fisetin	7,078	285.10	135.10/163.10	26.0/ 16.0
galangin	8,808	269.10	119.10	22.0
Quercetin-3-glycoside	6,573	463.20	255.10/ 271.10/ 300.10/ 151.10	27.0/ 29.0/ 21.0/ 15.0
neohesperidin	6,453	609.30	301,20/164,10	21.0/ 30.0
apigenin	8,023	269.10	117.10/ 151.10	22.0/ 29.0
Biochanin A	8,628	282.70	132.10/ 195.10/ 211.10/ 223.50	25.0/ 20.0/ 21.0/ 22.0
salicylic acid	4,384	137.20	93.10	18.0
wogonin	8,627	283.10	163.10/ 286.10	30.0/ 28.0
Sinapic acid	4,145	223.10	163.50	15
Resveratrol	6,655	227.20	185.20/ 115.10/ 143.20	19.0/ 22.0/ 27.0
Cinnamic acid	5,469	147.10	77.00/103.30	30.0/ 20.0
vanilla acid	2,223	167.00	152.10/108.00	28.0/ 20.0

Tableau 2. Coefficients de corrélation des courbes d'étalonnage.

phenolic substance	Correlation Coefficient (r ²)
Tangeretin	0.993
Gardenin-B	0.998
Gentisic acid	0.999
chlorogenic acid	0.999
cafic acid	0.999
Routine	0.993
p-Coumaric acid	0.994
Ferulic acid	0.996
hesperidin	0.995
Apigenin 7-O glycoside	0.997
Quercetin	0.997
naringenin	0.996
kamempferol	0.997
protocatechuic acid	0.999
gallic acid	0.992
4-OH benzoic acid	0.990
4-OH benzaldehyde	0.990
Taxifolin	0.996
diosmet	0.992
diosmin	0.990
naringin	0.997
polydatin	0.998
Fisetin	0.998
galangin	0.998
Quercetin-3-glycoside	0.992
neohesperidin	0.994
apigenin	0.993
Biochanin A	0.990
salicylic acid	0.993
wogonin	0.991
Sinapic acid	0.990
Resveratrol	0.993
Cinnamic acid	0.994
vanilla acid	0.992



Chromatogramme de la Quercétine-3-glycoside (100 µg/kg) (a), et courbe d'étalonnage (b).

Tableau 3. La répétabilité ; % de récupération moyenne, déviation standard, % de déviation standard relative (%RSD) valeurs.

phenolic substance	Fortification level, µg/kg					
	10			50		
	% average repurchase	SD	RSD%	% average repurchase	SD	RSD%
Tangeretin	102.2	0.55	5.44	105.9	1.81	3.43
Gardenin-B	104.3	0.88	8.43	86.9	4.25	9.77
Gentisic acid	108.9	0.65	5.96	111.8	3.39	6.07
chlorogenic acid	103.2	0.75	7.25	89.7	3.81	8.50
cafic acid	88.0	1.52	17.24	99.9	5.80	11.60
Routine	88.7	0.84	9.43	100.0	3.07	6.15
p-Coumaric acid	101.1	0.71	7.01	97.8	1.58	3.24
Ferulic acid	88.7	0.61	6.83	93.7	6.51	13.90
hesperidin	76.2	0.61	8.02	89.2	3,52	7.89
Apigenin 7-O glycoside	111.2	0.55	4.91	105.0	1.04	1.99
Quercetin	103.1	0.74	7.17	89.3	4.00	8.95
naringenin	104.6	0.68	6.53	114.2	1.88	3.29
kamempferol	102.7	1.16	11.30	92.7	5.52	11.92
protocatechuic acid	102.1	1.15	11.27	94.8	5.31	11.21
gallic acid	111.7	0.54	4.88	88.6	2.34	5.29
4-OH benzoic acid	113.5	0.31	2.74	108.6	2.14	3.94
4-OH benzaldehyde	108.4	0.51	4.71	107.4	2.75	5.12
Taxifolin	106.2	0.56	5.25	110.3	3.35	6.08
diosmet	106.8	0.79	7.41	98.5	4.57	9.28
diosmin	76.5	0.34	4.44	85.5	4.11	9.62
naringin	115.3	0.32	2.74	106.2	2.73	5.14
polydatin	97.9	1.07	10.92	107.7	3.15	5.84
Fisetin	96.3	0.69	7.18	96.5	2.87	5.96
galangin	111.9	0.60	5.40	96.8	2.11	4.37
Quercetin-3-glycoside	100.3	0.53	5.26	77.5	2.45	6.32
neohesperidin	77.6	0.54	6.96	76.5	2.55	6.66
apigenin	103.2	0.72	6.95	101.7	1.03	2.03
Biochanin A	113.4	0.39	3.47	114.6	1.03	1.79
salicylic acid	106.9	0.98	9.16	97.2	1.68	3.45
wogonin	91.5	0.33	3.59	92.7	1.36	2.94
Sinapic acid	94.8	1.00	10.56	88.2	4.73	10.72
Resveratrol	101.5	1.19	11.75	104.3	4.28	8.20
Cinnamic acid	75.0	0.81	10.64	85.7	2.00	4.67
vanilla acid	104.3	1.24	11.92	94.7	3.41	7.21

Tableau 4. Moyenne calculée, écart-type, pourcentage d'écart-type relatif, valeurs LOD et LOQ pour chaque substance phénolique.

phenolic substance	Average	SD	%RSD	LOD (µg/kg)	LOQ (µg/kg)
Tangeretin	10.22	0.56	5.44	1.67	5.56
Gardenin-B	10.43	0.88	8.43	2.64	8.79
Gentisic acid	11.09	0.36	3.25	1.08	3.60
chlorogenic acid	10.42	0.61	5.86	1.83	6.11
cafic acid	10.50	0.27	2.61	0.82	2.74
Routine	8.87	0.84	9.43	2.51	8.36
p-Coumaric acid	10.28	0.90	8.76	2.70	9.00
Ferulic acid	8.96	0.47	5.29	1.42	4.74
hesperidin	7.49	0.65	8.73	1.96	6.54
Apigenin 7-O glycoside	11.12	0.55	4.91	1.64	5.46
Quercetin	10.51	0.26	2.46	0.77	2.58
naringenin	10.46	0.68	6.53	2.05	6.83
kamempferol	10.27	1.16	11.30	3.48	11.60
protocatechuic acid	10.21	0.58	5.65	1.73	5.77
gallic acid	11.27	0.56	4.98	1.68	5.61
4-OH benzoic acid	11.35	0.31	2.74	0.93	3.11
4-OH benzaldehyde	10.84	0.51	4.71	1.53	5.10
Taxifolin	10.62	0.56	5.25	1.67	5.58
diosmet	10.68	0.79	7.41	2.37	7.92
diosmin	6.69	0.64	9.63	1.93	6.45
naringin	11.53	0.32	2.74	0.95	3.16
polydatin	9.79	1.07	10.92	3.21	10.69
Fisetin	9.35	1.19	12.75	3,58	11.93
galangin	11.19	0.60	5.40	1.81	6.04
Quercetin-3-glycoside	10.03	0.53	5.26	1.58	5.27
neohesperidin	7.76	0.54	6.96	1.62	5.41
apigenin	10.37	0.69	6.69	2.08	6.94
Biochanin A	11.34	0.39	3.47	1.18	3.93
salicylic acid	11.10	0.59	5.29	1.76	5.87
wogonin	9.15	0.33	3.59	0.98	3.28
Sinapic acid	9.48	1.00	10.56	3.00	10.01
Resveratrol	10.15	1.19	11.75	3,58	11.92
Cinnamic acid	9.22	1.38	15.01	4.15	13.83
vanilla acid	10.63	0.84	7.87	2.51	8.36

Tableau 5. La reproductibilité ; % de récupération moyenne, déviation standard, % de déviation standard relative (%RSD) valeurs.

phenolic substance	Fortification level, µg/kg					
	10			50		
	% average repurchase	SD	RSD%	% average repurchase	SD	RSD%
Tangeretin	98.95	0.55	5.59	103.02	0.96	1.86
Gardenin-B	99.12	1.48	14.89	85.62	3.96	9.24
Gentisic acid	104.76	0.88	8.39	107.37	3.49	6.50
chlorogenic acid	105.15	0.75	7.16	90.87	3.80	8.37
cafic acid	83.59	4.66	55.76	98.74	4.48	9.08
Routine	95.73	0.85	8.88	96.59	2.40	4.97
p-Coumaric acid	97.65	0.58	5.94	98.49	1.13	2.29
Ferulic acid	86.70	1.24	14.28	92.76	5.63	12.14
hesperidin	82.14	1.00	12.19	91.66	2.97	6.48
Apigenin 7-O glycoside	106.10	0.55	5.19	105.64	0.50	0.94
Quercetin	106.58	1.20	11.25	85.93	2.49	5.79
naringenin	102.32	0.59	5.76	115.19	2.19	3.80
kamempferol	93.99	1.74	18.56	94.46	2.87	6.08
protocatechuic acid	107.93	0.99	9.14	103.03	3.02	5.87
gallic acid	107.74	0.55	5.15	85.69	1.63	3.80
4-OH benzoic acid	112.35	0.41	3.61	106.99	1.34	2.50
4-OH benzaldehyde	109.20	0.75	6.84	104.36	2.76	5.29
Taxifolin	110.16	0.82	7.46	107.68	3.82	7.09
diosmet	102.05	1.00	9.78	102.99	5.81	11.28
diosmin	75.43	3,54	46.88	85.86	1.48	3.44
naringin	113.37	0.35	3.11	109.84	1.95	3,55
polydatin	100.07	0.59	5.92	111.17	1.86	3.35
Fisetin	97.19	0.75	7.71	89.65	1.17	2.62
galangin	110.61	0.52	4.71	99.16	1.82	3.68
Quercetin-3-glycoside	98.54	0.70	7.07	74.53	1.54	4.13
neohesperidin	79.10	0.43	5.46	74.43	1.12	3.02
apigenin	102.60	4.42	43.12	101.36	0.67	1.32
Biochanin A	116.13	0.37	3.18	115.58	0.94	1.63
salicylic acid	106.32	0.59	5.56	98.37	0.54	1.10
wogonin	92.02	0.35	3.82	93.20	0.74	1.59
Sinapic acid	95.37	1.15	12.01	78.91	3,54	8.98
Resveratrol	104.04	1.11	10.68	107.14	6.05	11.30
Cinnamic acid	75.09	0.22	2.86	76.90	0.77	1.99

Tableau 6. Temps de rétention et rapports m/z des molécules.

1	rt	m/z	ref ions	calibrasyon noktaları						ion mode		
2	9.088	372,6000>297,1000	372,5000>211,1000-372,5000>271,1000-372,6000>325,1000-	0	10	25	50	75	100	150	300	2:MRM(+)
3	9.46	358,6000>133,1000	358,7000>169,1000-358,6000>286,1000-358,6000>311,1000-	0	10	25	50	75	100	150	300	3:MRM(+)
4	2.895	153,0000>108,1000	TIC\r\n0.00\r\n0\r\n0\r\n0\r\n0\r\n200	0	10	25	50	75	100	150	300	9:MRM(-)
5	3.658	352,9000>191,1000	352,9000>127,1000\r\n0,00\r\n0\r\n0\r\n0\r\n0\r\n0\r\n0	0	10	25	50	75	100	150	300	11:MRM(-)
6	4.583	289,0000>159,1000	289,0000>123,1000-288,9000>109,1000\r\n0,00-0,00\r\n0\r\n0	0	10	25	50	75	100	150	300	19:MRM(-)
7	2.776	179,0000>134,1000	179,0000>117,1000-179,0000>109,0000\r\n0,00-0,00\r\n0\r\n0	0	10	25	50	75	100	150	300	6:MRM(-)
8	6.512	608,9000>300,0000	TIC\r\n0.00\r\n0\r\n0\r\n0\r\n0\r\n200	0	10	25	50	75	100	150	300	30:MRM(-)
9	4.747	163,0000>119,1000	163,0000>117,0000\r\n0,00\r\n0\r\n0\r\n0\r\n0\r\n0	0	10	25	50	75	100	150	300	21:MRM(-)
10	3.884	193,0000>133,1000	193,0000>105,1000\r\n0,00\r\n0\r\n0\r\n0\r\n0\r\n0	0	10	25	50	75	100	150	300	12:MRM(-)
11	6.392	609,0000>286,1000	609,0000>301,5000-609,0000>325,5000-609,0000>242,5000	0	10	25	50	75	100	150	300	27:MRM(-)
12	6.796	430,9000>268,1000	TIC\r\n0.00\r\n0\r\n0\r\n0\r\n0\r\n200	0	10	25	50	75	100	150	300	34:MRM(-)
13	7.441	270,9000>119,1000	270,9000>187,1000-270,9000>107,1000\r\n0,00-0,00\r\n0\r\n0	0	10	25	50	75	100	150	300	36:MRM(-)
14	7.943	284,9000>117,1000	284,9000>227,1000-284,8000>211,1000-284,9000>239,1000	0	10	25	50	75	100	150	300	38:MRM(-)
15	2.855	153,0000>108,9000	153,1000>108,9000\r\n0,00\r\n0\r\n0\r\n0\r\n0\r\n0	0	10	25	50	75	100	150	300	7:MRM(-)
16	1.149	169,1000>125,2000	169,1000>79,0000\r\n0,00\r\n0\r\n0\r\n0\r\n0\r\n0	0	10	25	50	75	100	150	300	4:MRM(-)
17	4.403	137,2000>93,0000	137,2000>65,1000\r\n0,00\r\n0\r\n0\r\n0\r\n0\r\n0	0	10	25	50	75	100	150	300	16:MRM(-)
18	5.429	121,2000>92,0000	121,2000>65,0000\r\n0,00\r\n0\r\n0\r\n0\r\n0\r\n0	0	10	25	50	75	100	150	300	22:MRM(-)
19	5.993	303,1000>125,1000	303,1000>151,1000-303,1000>217,1000-303,1000>199,2000-	0	10	25	50	75	100	150	300	25:MRM(-)
20	8.084	299,1000>227,1000	299,1000>83,0000-299,1000>151,1000-299,1000>63,1000-29	0	10	25	50	75	100	150	300	41:MRM(-)
21	6.734	607,3000>284,0000	607,3000>299,1000\r\n0,00\r\n0\r\n0\r\n0\r\n0\r\n0	0	10	25	50	75	100	150	300	33:MRM(-)
22	6.292	579,3000>151,1000	579,3000>271,2000\r\n0,00\r\n0\r\n0\r\n0\r\n0\r\n0	0	10	25	50	75	100	150	300	26:MRM(-)
23	5.851	389,3000>227,2000	389,3000>143,2000\r\n0,00\r\n0\r\n0\r\n0\r\n0\r\n0	0	10	25	50	75	100	150	300	24:MRM(-)
24	7.078	285,1000>135,1000	285,1000>163,1000\r\n0,00\r\n0\r\n0\r\n0\r\n0\r\n0	0	10	25	50	75	100	150	300	35:MRM(-)
25	8.808	269,1000>119,1000	TIC\r\n0.00\r\n0\r\n0\r\n0\r\n0\r\n200	0	10	25	50	75	100	150	300	45:MRM(-)
26	6.573	463,2000>300,1000	463,2000>271,1000-463,2000>255,1000-463,2000>151,1000-	0	10	25	50	75	100	150	300	31:MRM(-)
27	6.453	609,3000>301,2000	609,3000>164,1000\r\n0,00\r\n0\r\n0\r\n0\r\n0\r\n0	0	10	25	50	75	100	150	300	29:MRM(-)
28	8.023	269,1000>117,1000	269,1000>151,1000\r\n0,00\r\n0\r\n0\r\n0\r\n0\r\n0	0	10	25	50	75	100	150	300	39:MRM(-)
29	2.855	197,1000>121,1000	TIC\r\n0.00\r\n0\r\n0\r\n0\r\n0\r\n200	0	10	25	50	75	100	150	300	8:MRM(-)
30	8.628	282,7000>211,1000	282,7000>195,1000-282,7000>132,1000-282,7000>223,5000	0	10	25	50	75	100	150	300	43:MRM(-)
31	4.384	137,2000>93,0000	TIC\r\n0.00\r\n0\r\n0\r\n0\r\n0\r\n200	0	10	25	50	75	100	150	300	15:MRM(-)
32	8.627	283,1000>163,1000	283,1000>268,1000\r\n0,00\r\n0\r\n0\r\n0\r\n0\r\n0	0	10	25	50	75	100	150	300	42:MRM(-)
33	4.145	223,1000>163,5000	TIC\r\n0.00\r\n0\r\n0\r\n0\r\n0\r\n200	0	10	25	50	75	100	150	300	13:MRM(-)
34	6.655	227,2000>185,2000	226,8000>115,1000-226,8000>143,2000\r\n0,00-0,00\r\n0\r\n0	0	10	25	50	75	100	150	300	32:MRM(-)
35	5.469	147,1000>103,3000	147,1000>77,0000\r\n0,00\r\n0\r\n0\r\n0\r\n0\r\n0	0	10	25	50	75	100	150	300	23:MRM(-)
36	2.223	167,0000>152,0000	167,0000>108,0000\r\n0,00\r\n0\r\n0\r\n0\r\n0\r\n0	0	10	25	50	75	100	150	300	5:MRM(-)
37												

