

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Mohamed Khider Biskra

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Réf: .../.....

Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Master
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Biologie
Spécialité : Biochimie et Biologie Moléculaire

Thème

**Contribution à l'étude de l'activité
antioxydante des écorces des racines de
Capparis spinosa L.**

Présenté par : BOULIF Razika

Devant le jury :

Présidente : M^{me} SAIDI Asma

Promotrice : M^{me} MEDDOUR Asma

Examinatrice : M^{me} MOKRANI Djamilia

Année Universitaire 2013/ 2014

Remerciements

Louange au Allah le tout puissant qui m'a accordé la foi, le courage et la patience pour mener ce travail à terme.

Je tiens à remercier infiniment mon encadreur M_{me} MEDDOUR ASMA pour sa patience et ses conseils précieux qui m'ont été très utiles.

Permettez-moi M_{me} de vous exprimer ma reconnaissance et mes remerciements les plus sincères.

Mes sincères remerciements vont au M_{me} SAIDI ASMA pour avoir accepté de présider le jury de soutenance de ce mémoire, ainsi qu'aux M_{me} MOUKRANI DJAMILA pour avoir accepté d'examiner ce modeste travail.

Mes remerciements sont destinés à : M_{me} TRABSA HAYAT pour ses conseils.

Je remercie aussi tous mes collègues et amis et tous ce qui ont contribué à la réalisation de ce travail pour leur aide et leur soutien.

Dédicace

A l'aide d'Allah tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

*A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie **ma mère** qui m'a apporté son appui durant toutes mes années d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécurité.*

*A mon très cher **père** Que t'âme repose en paix.*

*A mes très chères **sœurs, frères** et ses **familles** pour leurs aides, encouragements*

*A mon **fiancé**, pour son amour, son soutien surtout spirituel et ses encouragements qui m'ont aidé à aller jusqu'au bout de cette mémoire.*

*A mes très cher **amies** et chacun par leur nom.*

A tous que m'aide de près ou de loin pour réaliser ce travail.

*Je n'oublierai mes très cher **collègues** du département de Biologie avec lequel(le)s j'ai partagé mes meilleurs moments de soucis de joie et de la saveur de la réussite.*

R. B

Sommaire

Remerciement

Dédicace

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction

Partie 1 : Synthèse bibliographiques

Chapitre 1. Généralités sur l'espèce de *Capparis spinosa* L.

1. Définition	01
2. Classification de <i>Capparis spinosa</i> L.	02
3. Répartition géographique dans le monde	02
4. Usage traditionnel de câprier	03
5. Composition chimique de la plante	03
6. Activité biologique de câprier	04

Chapitre 2. Généralités sur les radicaux libres, stress oxydatif et les antioxydants

1. Les radicaux libre	05
2. Le stress oxydatif	06
3. Les antioxydants	07

Chapitre 3. Rappel sur les métabolites secondaires

1. Définition	12
2. Classification des métabolites secondaires	12
2.1. Les polyphénols	12
→ Classification des polyphénols	12

2.1.1. Les acides phénols	12
2.1.2. Flavonoïdes	13
2.1.3. Les tannins	15
→ Biosynthèse des polyphénols	15
→ Activités biologiques des polyphénols	16
2.2. Les alcaloïdes	17
2.3. Les terpénoïdes.....	17

Partie 2 : Etudes expérimentaux

Chapitre 4. Matériel et méthodes

1. Matériel	18
1.1. Matériel végétal	18
1.2. Matériel techniques	18
1.3. Solvants et réactifs	19
2. Méthodes	19
2.1. Préparation des extraits à partir des écorces de racines de <i>C. spinosa</i>	19
2.2. Analyses qualitatif et quantitatif des extraits du <i>C. spinosa</i>	22
2.2.1. Analyse qualitative	22
2.2.1.1. Tests préliminaires	22
2.2.2. Analyse quantitatives	24
2.2.2.1. Dosage des polyphénols	24
2.2.2.2. Dosage des flavonoïdes	25
2.3. Mesure de l'activité antioxydant	25

2.3.1. Test DPPH	25
------------------------	----

Chapitre 5. Résultats et discussions

1. Préparation des extraits à partir des écorces de racines de <i>C. spinosa</i> L.	28
2. Analyse des extraits des <i>C. Spinosa</i> L.	28
2.1. Analyse qualitative des extraits du <i>Capparis spinosa</i>	28
2.2. Analyse quantitative des extraits du <i>Capparis spinosa</i>	30
2.2.1. Dosage des polyphénols et des flavonoïdes	30
2.2.2. Relation entre la teneur en polyphénols et la teneur en flavonoïdes	33
3. Tests des activités biologiques	34
3.1. Tests d'activité antioxydante	34

Conclusion

Références et bibliographiques

Liste des tableaux

Tableau 1.1. Usage traditionnel des différentes parties de câprier.....	03
Tableau 1.2. Compositions chimiques de différentes parties de l'espèce <i>Capparis spinosa</i> L.....	04
Tableau 3.1. Certaines activités biologiques des polyphénols.....	17
Tableau 4.1. Solvants et réactifs utilisés.....	19
Tableau 5.1. Résultats couleurs de l'extraction des écorces de racines de <i>C. spinosa</i>	28
Tableau 5.2. Résultats des tests phytochimiques des flavonoïdes, des tanins et des saponines sur les différents extraits de <i>C. spinosa</i>	29
Tableau 5.3. Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux dans les différents extraits de <i>C. spinosa</i>	32

Liste des figures

Figure 1.1.	Photographie de la plante de <i>Capparis spinosa</i> L.....	01
Figure 1.2.	<i>Capparis spinosa</i> (Capparidaceae).....	02
Figure 1.3.	Destruction naturel de <i>Capparis spinosa</i> L dans le monde.....	02
Figure 2.1.	Origine des différentes ERO impliquées en biologie.....	05
Figure 2.2.	Structure chimique de GSH.....	07
Figure 2.3.	Structure chimique de l'acide urique.....	08
Figure 2.4.	Structure chimique de vitamine C.....	09
Figure 2.5.	Structure chimique des tocophérols.....	09
Figure 2.6.	Structure des principaux caroténoïdes.....	10
Figure 3.1.	Exemple de quelque acides phénols.....	12
Figure 3.2.	Structure de base des flavonoïdes.....	14
Figure 3.3.	Les principales classes des flavonoïdes.....	14
Figure 3.4.	Biosynthèse des polyphénols.....	16
Figure 4.1.	Les écorces des racines de <i>C. spinosa</i>	18
Figure 4.2.	Protocole d'extraction de la poudre des écorces de racines de <i>C. spinosa</i> par des solvants à polarité croissante.....	21
Figure 4.3.	Structure chimique du radical libre DPPH° (2,2 Diphenyle-1-picryl- hydrazyle).....	26
Figure 5.1.	Droite d'étalonnage d'acide gallique.....	31
Figure 5.2.	Droite d'étalonnage de quercitine.....	32
Figure 5.3.	Teneur en polyphénols et en flavonoïdes.....	34
Figure 5.4.	Activité antioxydante des différents extraits des écorces des racines du <i>spinosa</i> , de la quercitine et de BHT.....	35

Liste des abréviations

$^1\text{O}_2$: Oxygène singulet

AAR% : Pourcentage de l'activité anti-radicalaire

Abs : Absorbance

AG : Acide gallique

AlCl_3 : Trichlorure d'aluminium

CAT : La catalase

Ch : Extrait de chloroforme

CoA : Acétyl coenzyme A

Cu : Cuivre

DPPH : 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl

e^- : Electron

Ep : Extrait d'Ether de pétrole

ERA : Espèces réactives d'azote

ERO : Espèces réactifs de l'oxygène

Fe : Fer

FeCl_3 : trichlorure de fer

GSH : Le glutathion

H^+ : Proton

H_2O_2 : Peroxyde d'hydrogène

HCl : Acide chlorhydrique

HOCl : Des oxydants chlorés

I %: pourcentage d'inhibition

MeOH : Extrait méthanolique

Mg: Magnesium

NO: Oxyde d'azote

NO₂: Dioxyde d'azote

O₂[°] : Anion superoxyde

OH[°]: Radical hydroxyl

RFC : Réactif de Folin Ciocalteu

RO[°] : Radical alkoxyde

ROO[°] : Radical peroxyde

SD : Standard Déviation (déviation standard).

SH : Groupements thiols

SOD : Superoxydes dismutases

UV : Ultra violet

Zn : Le zinc

µg EAG/166.67 mg de poudre : Microgramme d'équivalent d'acide gallique par 166.67 milligramme de poudre.

µg EQ/166.67 mg de poudre : microgramme d'équivalent de quercitine par 166.67 milligramme de poudre.

INTRODUCTION

Introduction

Les plantes médicinales constituent une partie moins précieuse pour l'humanité et plus particulièrement pour la majorité de communautés démunies des pays en voie de développement qui en dépendent pour assurer des soins de santé primaires de leurs substances. Elles utilisent la plupart des espèces végétales comme médicaments. (SALHI *et al.*, 2010)

Environ 20 000 espèces végétales sont utilisées dans le monde pour des fins alimentaires, cosmétiques, chimiques, pharmaceutiques, thérapeutiques et agro-alimentaires. (HMAMOUCI, 1997)

L'objectif de ce travail est de quantifier les polyphénols totaux et les flavonoïdes et d'évaluer l'activité antioxydante des extraits des écorces des racines de *Capparis spinosa* L., qui appartient à la famille de *Capparidaceae* (LIEUTAGHI, 1969) plus répandue dans le bassin Méditerranéen (TLILI *et al.*, 2010a). Cette plante est utilisée traditionnellement pour traiter quelques maladies tels que le rhumatisme, les maux de tête et des dents, la goutte, la toux et aussi elle est utilisée dans la cuisine méditerranéenne. (BELLAKHDAR, 1997 et TLILI *et al.*, 2010a).

Cette étude est constituée de deux parties.

Tout d'abord, une partie bibliographique qui comprend trois chapitres dont le premier traite l'espèce *Capparis spinosa* L., le deuxième chapitre détaille les radicaux libres, le stress oxydatif et les antioxydants et le troisième chapitre présente quelques types des métabolites secondaires.

Et une deuxième partie, étude expérimentale, qui comprend deux chapitres le premier présente le matériel et les méthodes utilisées, le deuxième est consacré à la présentation des résultats et à leur discussion.

PARTIE 1

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1

GENERALITES SUE L'ESPECE DE CAPPARIS SPINOSA L

Généralité sur l'espèce de *Capparis spinosa* L.

1. Définition

Capparis spinosa L. est une plante de la famille des *Capparidaceae* communément appelée le câprier, L'Kabbar en Algérie. C'est un petit arbuste épineux, prosterné, à : tiges annuelles, retombantes d'environ 1m ; feuilles alternes pétiolées ; fleurs très grandes (4,5 à 7cm), blanches ou rosées ; fruits charnus, vertes puis rougeâtres ; grains noirs en forme de rein de 3mm de longueur. (LIEUTAGHI ,1969) (Figure 1.1)



Figure 1.1. Photographie de la plante de *Capparis spinosa* L. (A) Aspect général de la plante. (B) Les feuilles et les fleurs. (C) Les câpres (bourgeons floraux). (D) Les fruits.

(KREMER, 2011).

2. Classification de la plante de *Capparis spinosa*

Selon KARNOUF(2008), la classification de la plante de *C. Spinosa* L. est : (figure 1.2)

Règne : Végétal

Sous-règne : Tracheobionta

Embranchement : Spermaphytes

Sous embranchement : Angiospermes

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Dilleniidae

Ordre : Capparales

Famille : *Capparidaceae*

Genre : *Capparis*

Espèce : *Capparis spinosa* L.

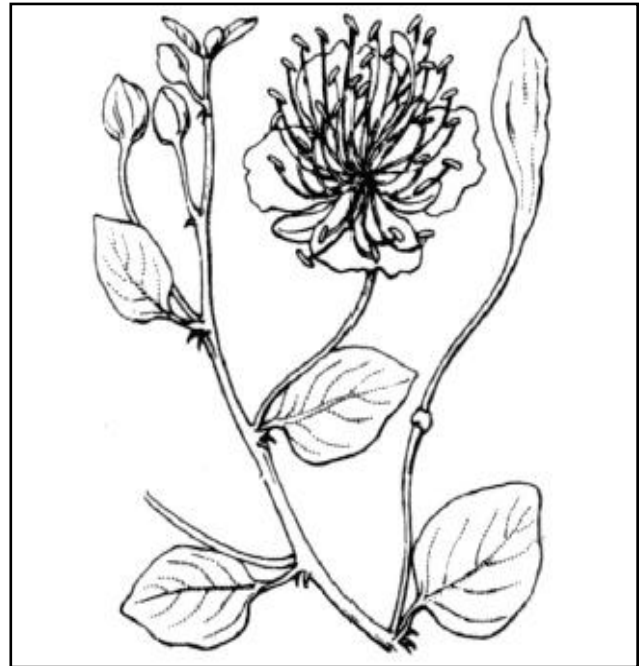


Figure 1.2. *Capparis spinosa* (*Capparidaceae*) (BELOUED A, 2009)

3. Répartition géographique dans le monde

Capparis spinosa L. est cultivée dans la région Méditerranéenne ; dans quelques pays par exemple Espagne, Italie, la Turquie, Maroc, Tunisie, Algérie, Iran et les régions à côtier de la Mer Noire. (TLILI et *al.*, 2010a). (Figure 1.3)

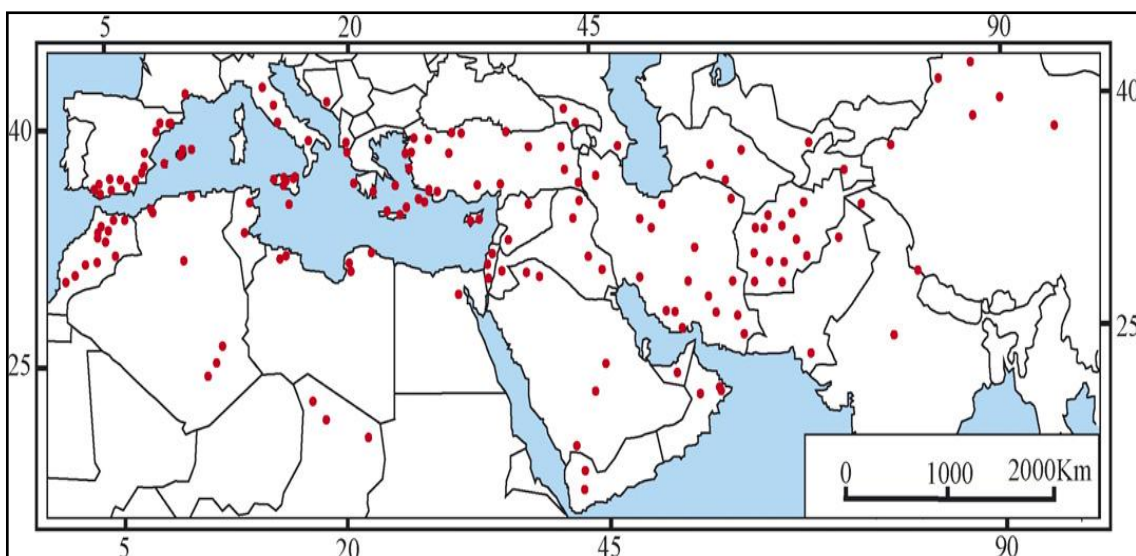


Figure 1.3. Destruction naturel de *Capparis spinosa* L. dans le monde (INOCENIO et *al.*, 2006).

4. Usage traductionnel de *Capparis spinosa*

Les racines, les feuilles, les bourgeons, les fruits, les écorces et les graines du câprier étaient utilisé traditionnellement pour traiter des maladies telles que le rhumatisme, problèmes d'estomac, maux de tête et maux des dents. (TLILI et *al.*, 2010a). L'utilisation de chaque une des parties de la plante est représenté dans le tableau 1.1.

Tableau 1.1. Usage traditionnel des déférentes parties de câprier

Parties de la plante	Utilisations	Références
Les racines	diurétiques, astringentes, tonique, fièvre, rhumatisme, la paralysie, maux des dents	BELLAKHDAR , 1997
Les feuilles	l'eczéma, maux de tête, maux des dents, mal d'oreille	BOULOS, 1998 TLILI et <i>al.</i> , 2010a
Les bourgeons	condiment ou légumes,	BATANOUNY ,1999
Les fruits	les convulsions, le diabète	TLILI et <i>al.</i> , 2010a.b
Les écorces	apéritif, astringent, tonique, anti-diarrhéique, les hémorroïdes, la goutte, le rhumatisme, la toux, l'asthme et l'inflammation	BELLAKHDAR ,1997 TLILI et <i>al.</i> , 2010a
Les graines	la stérilité, la dysménorrhée féminine, les ulcères, mélange des épices.	BOULOS ,1998

5. Composition chimique de la plante

Plusieurs études phytochimiques ont montré que *Capparis spinosa* comporte un amalgame de composés actifs dans ses diverses parties (Tableau 1.2)

Tableau 1.2. Compositions chimiques de différentes parties de l'espèce *Capparis spinosa* L.

Partie de la plante	Composants chimiques	Références
Bourgeons floraux	Polyphenols, flavonoïdes, glucosinolates, isothiocyanates	ENRICO et <i>al.</i> , 2008 BATANOUNY, 1999
Les racines	Alcaloïdes, glucosinolates, isothiocyanates, sucres	FU et <i>al.</i> , 2008 TLILI et <i>al.</i> , 2010a
Les graines	Alcaloïdes, protéines, lipides et des fibres	FU et <i>al.</i> , 2008 JIANG et <i>al.</i> , 2007
Les feuilles	Isothiocyanates, terpénoïdes, phenylpropanoïdes, aldéhydes, acides gras	TESORIERE et <i>al.</i> , 2007 STAYANARAYANA et <i>al.</i> , 2008

6. Activité biologique de *Capparis spinosa*

Le câprier est doué de plusieurs activités biologiques.

L'extrait méthanolique des bourgeons floraux du câprier représente :

- Un effet protecteur sur les chondrocytes via leur activité inhibitrice sur la production des prostaglandines. (PANICOA et *al.*, 2005)
- Une activité antioxydante et un grand pouvoir antiradicalaire et même une application locale de cet extrait protège la peau contre les érythèmes provoqués par les rayons Ultraviolets UV. (BONINA et *al.*, 2002).

L'extrait aqueux de la partie aérienne de la plante est largement utilisé pour déterminer l'activité anti-hépatotoxique de différents constituants de la plante. (GADGOLI et MISHRA, 1999).

L'extrait aqueux de la plante a révélé, *in vivo*, une activité anti-hyperglycémiant sans affecter la concentration sanguine de l'insuline. (EDDOUKS et *al.*, 2005 ; LEMHADRI et *al.*, 2007).

CHAPITRE 2

GENERALITES SUR LES RADICAUX LIBRES, LE STRESS OXYDATIF ET LES ANTIOXYDANTS

Généralités sur les radicaux libres, le stress oxydatif et les antioxydants

1. Les radicaux libres

→ Définition

Les radicaux libres sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) qui possèdent un électron non-apparié (célibataire) sur leur couche orbitale externe (DELATTRE *et al.*, 2005). Ils sont très instables et leur durée de vie très courte (environ 10^{-4} s). Ils peuvent être dérivés de l'oxygène (espèces réactives de l'oxygène ERO) ou d'autres atomes comme l'azote (espèces réactives d'azote ERA). (FAVIER, 2003).

→ Sources de production des radicaux libres

Les radicaux libres sont produits par un grand nombre de mécanismes biochimiques tant endogènes : la réduction de l'oxygène moléculaire en eau dans les mitochondries : la production de l'oxygène singulet ($^1\text{O}_2$) et de l'anion superoxyde ($\text{O}_2^{\circ-}$), la dismutation de ce dernier va donner naissance au peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) puis indirectement au radical hydroxyle (OH°) qu'il est très réactif. (Réaction 1) (DENES, 2006) ; qu'exogène : L'agression de l'organisme par des différents agents extérieurs : les rayonnements UV, les radiations ionisantes, l'oxyde d'azote (NO) et le dioxyde d'azote (NO_2), l'ingestion d'alcool et certains médicaments anticancéreux. (PASTRE, 2005). (Figure 2.1).

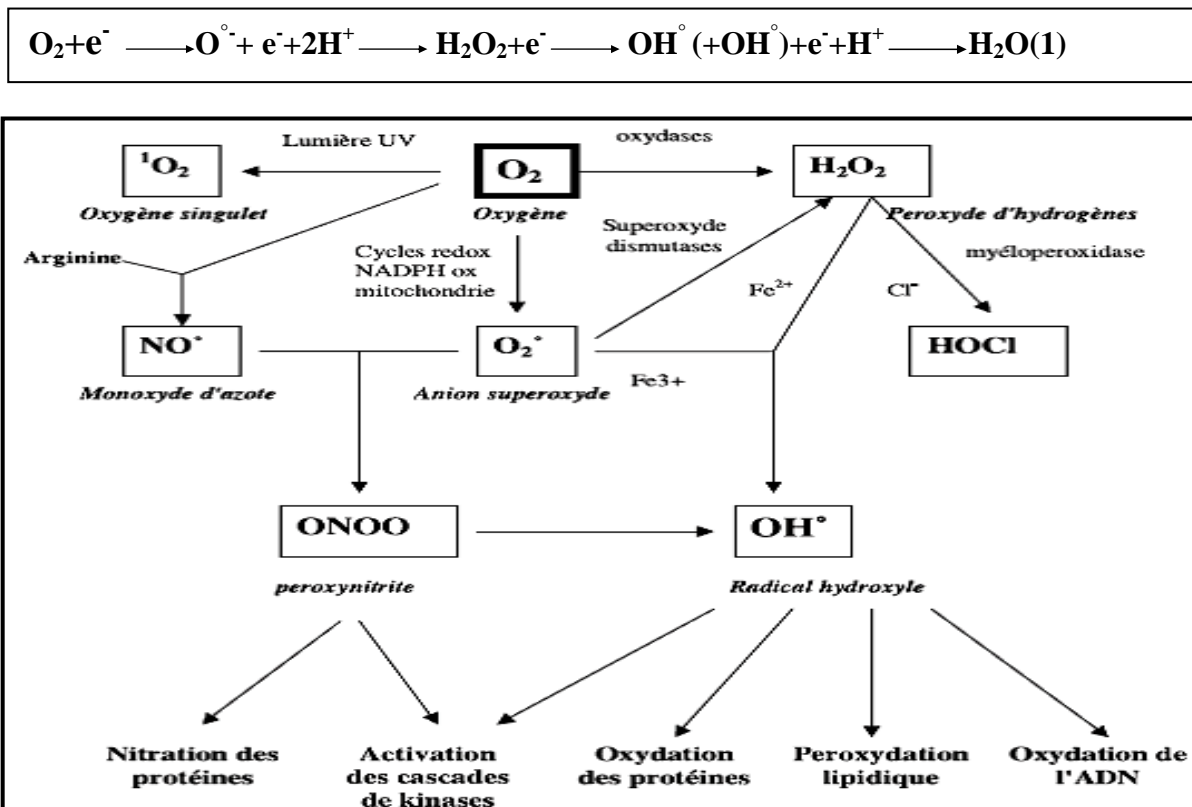


Figure 2.1. Origine des différentes ERO impliquées en biologie (FAVIER, 2003).

2. Le stress oxydatif

→ Définition

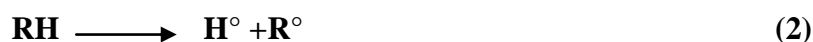
Le stress oxydatif est le résultat d'un déséquilibre entre pro-oxydants et antioxydants biologiques lorsque la production d'espèces radicalaires pro-oxydantes dépasse la capacité de l'organisme à les détoxifier. La réactivité de ces radicaux libres primaires (qui dérivent directement de l'oxygène) entraîne la formation d'autres radicaux, dits secondaires (Radical peroxy « ROO° », Radical alkoxy « RO° »), par réaction avec les molécules biologiques (lipides, protéines, glucides, acides nucléiques). Les produits engendrés peuvent modifier la structure des composants de la cellule et altérer son fonctionnement (M. FERRY et AM. ROUSSEL, 2007).

→ Mécanisme d'oxydation

L'oxydation des composés insaturés biologique (acides gras, caroténoïdes, polyphénols...) comporte trois étapes qui sont (DENS, 2006).

- **L'initiation**

Formation des radicaux libres, l'arrachement du proton est facilité tant par la chaleur que les rayonnements UV ou les catalyseurs (métaux tels que Cu, Fe, Mn...). (Réaction 2)



- **La propagation**

Une formation plus accélérée, ce qui se traduit par une forte consommation d'oxygène. (Réactions : 3 et 4)



- **La terminaison**

Combinaison des radicaux formés précédemment en composés non radicalaires. (Réactions : 5. 6. 7)



3. Les antioxydants

→ Définition

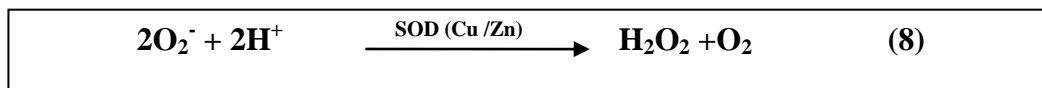
Le terme d'antioxydant désigne toute substance qui, présente à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retarde ou inhibe significativement l'oxydation de ce substrat. Cette définition fonctionnelle s'applique à un grand nombre de substances, comprenant des enzymes aux propriétés catalytiques spécifiques. Mais aussi à des petites molécules hydro- ou liposolubles (HALLIWELL ET GUTTERIDGE, 1990).

→ Les différents types des antioxydants

Parmi les différents antioxydants, les plus connus sont les vitamines A, C et E, et les enzymes SOD, catalase et glutathion peroxydase. D'autres antioxydants comme les caroténoïdes, le coenzyme Q10, les bioflavonoïdes, les antioxydants minéraux (cuivre, zinc, manganèse et le sélénium) et les cofacteurs (l'acide folique, les vitamines B1, B2, B6, B12) peuvent aussi défendre de façon synergique l'organisme contre le stress oxydant. (BELKHEIRI N, 2010)

• Les superoxydes dismutases (SOD)

Les SOD sont les premiers enzymes à intervenir dans la cascade des ERO. Ce sont des métalloprotéines qui catalysent la dismutation des ions superoxydes en peroxydes d'hydrogène et d'oxygène selon la réaction 8. (El Hassane A, 2011)



• Le glutathion

Le glutathion, agent antiradicalaire, est composé de 3 acides aminés : cystéine, acide glutamique et glycine (figure 2.2).

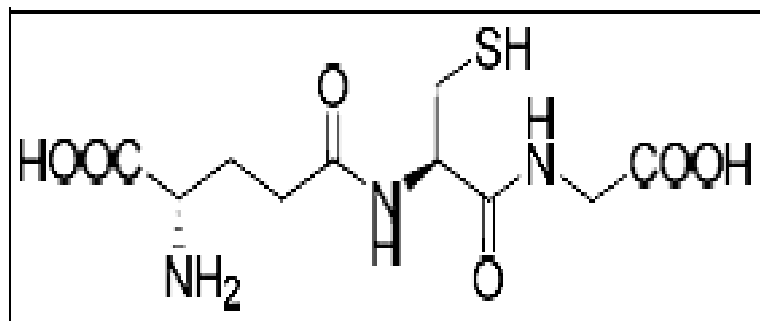
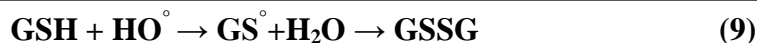


Figure 2.2. Structure chimique de GSH (BELKHEIRI N, 2010)

Le glutathion a, en plus de son rôle de cofacteur des peroxydases, le pouvoir de capter directement les radicaux libres (HO^\bullet), le produit de cette réaction rassemblée pour donner le glutathion oxydé (NAKAZAWA et *al.*, 1996). (Réaction 9).



- **L'acide urique**

L'acide urique est un piègeur de l'oxygène singlet ($^1\text{O}_2$), des radicaux peroxydes et hydroxydes (RO^\bullet et HO^\bullet), et de HClO . La réaction de l'acide urique avec les ERO génère des radicaux moins réactifs que HO^\bullet . (BELKHEIRI, 2010). (Figure 2.3)

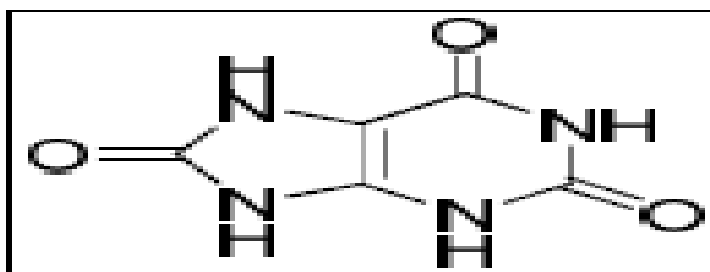
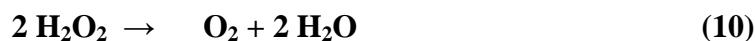


Figure 2.3. Structure chimique de l'acide urique (BELKHEIRI N, 2010)

- **La catalase (CAT)**

La catalase est une enzyme catalysant la dismutation de l'eau oxygénée (peroxyde d'hydrogène) (AUBERVAL, 2010).



- **La vitamine C**

L'acide L-ascorbique ou vitamine C est un piègeur très efficace des ions superoxydes, du peroxyde d'hydrogène, de l'hypochlorite, des radicaux hydroxydes et peroxydes, et de l'oxygène singlet. Le rôle antioxydant de la vitamine C est basé sur sa réaction avec les radicaux peroxydes aqueux, le produit formé étant le radical ascorbyle. En piégeant les radicaux peroxydes dans la phase aqueuse avant qu'ils initient la peroxydation lipidique, la vitamine C protège les biomembranes et les lipoprotéines (DELATTRE et *al.*, 2005). Il fait intervenir des réactions d'oxydoréduction entre la forme réduite de la vitamine C (l'acide ascorbique) et sa forme oxydée (dehydroascorbate) (PASTRE, 2005). (Figure 2.4)

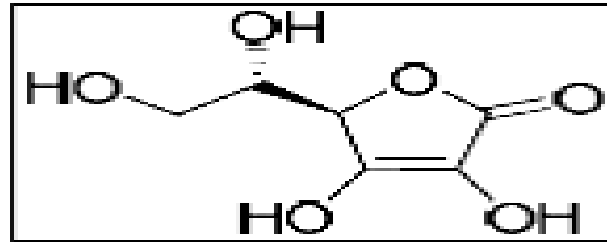


Figure 2.4. Structure chimique de vitamine C (El Hassane A, 2011)

- **La vitamine E**

Le terme générique de vitamine E désigne en fait une famille constituée des tocophérols et tocotriénols, la forme la plus active étant l' α -tocophérol (Figure II.8). L' α -tocophérol est capable, d'une part, de piéger chimiquement l'oxygène singulet (1O_2) en s'oxydant en quinone, d'autre part, de réagir avec le radical hydroxyle (OH^\bullet). Mais son principal rôle biologique est de réagir avec les radicaux peroxydes (ROO^\bullet) pour former un radical tocophéryle. (DELATTRE *et al.*, 2005).

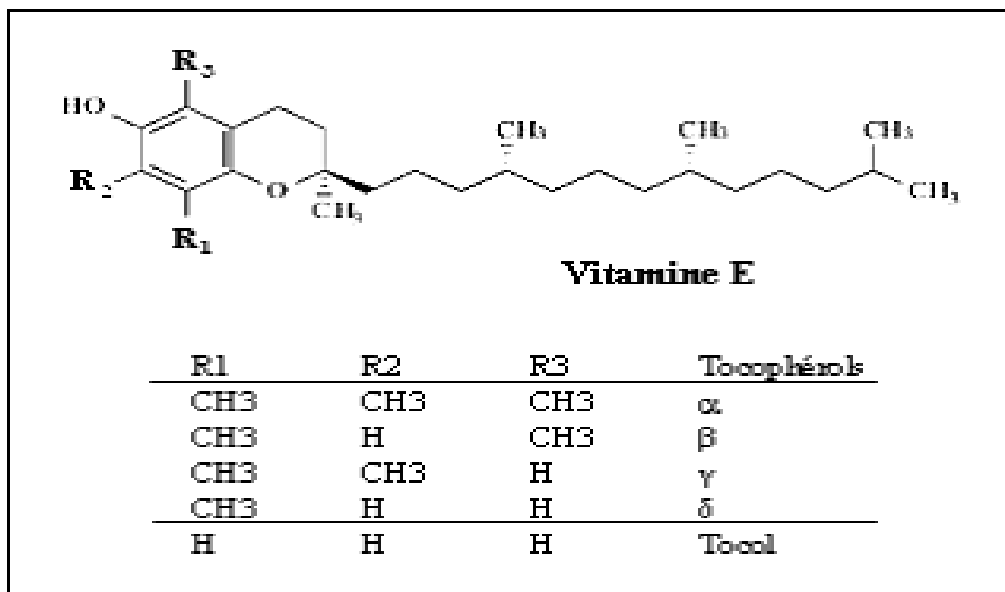


Figure 2.5. Structure chimique des tocophérols (COULON, 2004).

- **Les caroténoïdes**

Les caroténoïdes sont une classe polymorphe de substances apparentées à la vitamine A. Ce sont des composés hydrocarbonés (carotènes) et leurs dérivés hydrogènes (xanthophylles), tous issus d'arrangements isoprénoïdes. Ils sont une grande famille qui regroupe plus de 600 molécules (MARC *et al.*, 2004). (Figure 2.6)

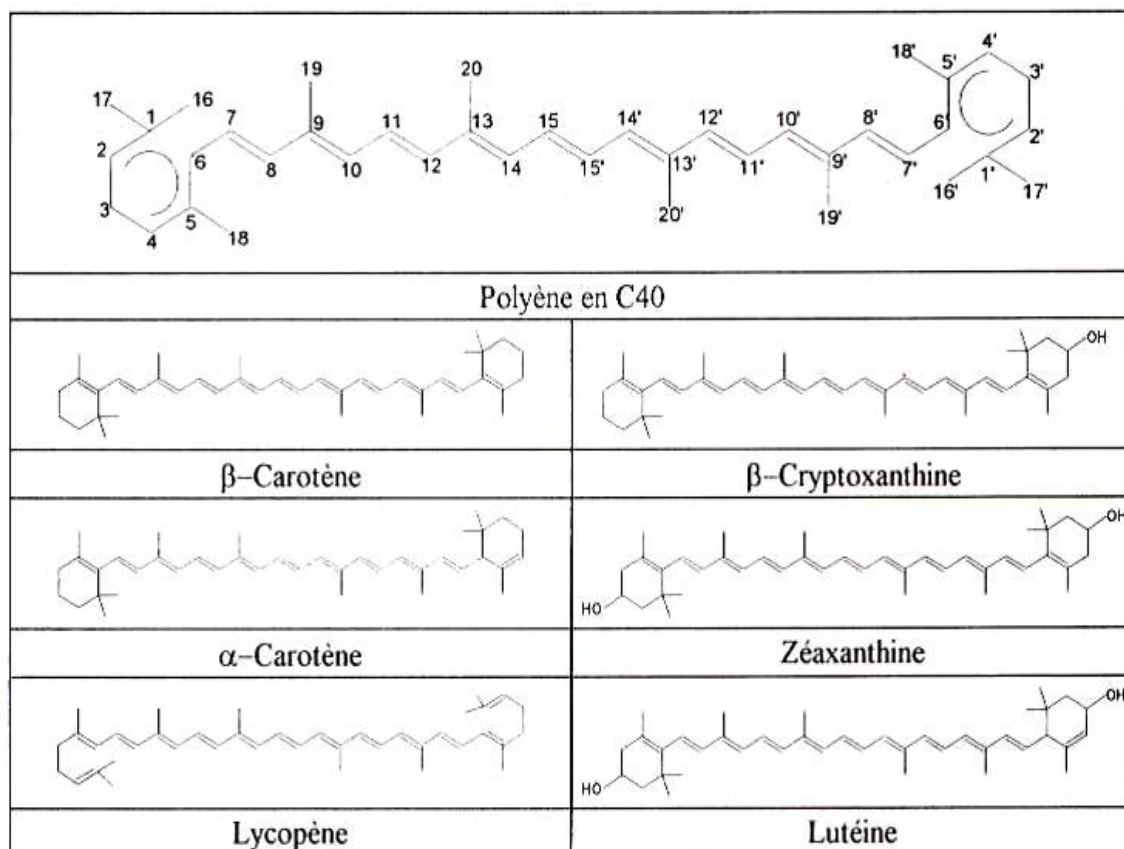


Figure 2.6. Structure des principaux caroténoïdes (PASTRE, 2005).

• Les oligoéléments

Le terme oligoélément, désigne : des matériaux présents en faible quantité dans l'organisme. Ils ont une valeur hautement protectrice du fait de leur présence dans de nombreuses métallo-enzymes à action antiradicalaire.

-Le sélénium

Le sélénium joue un rôle clé dans la protection des cellules et de leurs constituants contre l'attaque radicalaire. Cette fonction est due à sa présence dans le site actif des glutathions peroxydases sélénodépendantes, et à l'activité biologique antiradicalaire des scléroprotéines (BURK, 2002).

-Le zinc

Le zinc (Zn) joue un rôle antioxydant indirect en assurant la stabilisation du superoxyde dismutase à cuivre zinc (Cu Zn SOD). Cependant au-delà de cette fonction, le zinc possède d'autres propriétés antioxydantes pour lesquelles le mécanisme précis reste encore incomplètement connu (POWELL, 2000) :

-Le zinc inhibe la production des ERO par les métaux de transitions, en entrant en compétition avec le fer et le cuivre dans la réaction de fenton.

-Le zinc protège les groupements thiols (SH) des protéines contre l'oxydation induite par le fer, en empêchant la formation de ponts disulfure intramoléculaires.

-L'activité antioxydante du zinc pourrait également passer par l'induction de metallothionéines pouvant piéger les ERO (DELATTRE et *al.*, 2005).

- **Les polyphénols**

Les polyphénols végétaux regroupent une grande variété de composés comprenant entre autres les **flavonoïdes**, les **anthocyanes** et les **tanins**. Ce sont des composés ubiquistes que l'on retrouve dans les plantes. Ils sont capables de piéger des radicaux libres, d'inhiber la peroxydation lipidique en réduisant les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes. Ils sont aussi capables de piéger les ions métalliques, car ils ont des propriétés chélatrices (DELATTRE et *al.*, 2005).

CHAPITRE 3
RAPPEL SUR LES METABOLITES SECONDAIRES

Rappel sur les métabolites secondaires

1. Définition des métabolites secondaires

En plus des métabolites primaires, tels que les glucides, les acides aminés et les acides gras...etc., qui se produisent dans toutes les plantes. Les plantes contiennent également une grande variété de substances, appelées les métabolites secondaires qui sont présentés par A. Kossel en 1891. (BOULENOUAR et *al.*, 2011)

2. Classification des métabolites secondaires

Chez les végétaux, ces composés secondaires regroupent plusieurs dizaines de milliers de molécules différentes, généralement rassemblés en superfamilles chimiques tel que les polyphénols, les terpènes et stérols, les alcaloïdes, les polycétides, etc. (BOURGAUD, 2001)

2.1. Les polyphénols

• Définition des polyphénols

Les polyphénols sont des molécules synthétisées par les végétaux lors du métabolisme secondaire pour se défendre contre les agressions environnementales. Ils sont localisés dans différentes parties des plantes selon l'espèce végétale et le groupe polyphénolique considérés. Ces composés regroupent une multitude de molécules et représentent l'un des groupes les plus importants présents dans le règne végétal. (AKROUM, 2010)

• Classification des polyphénols

Les polyphénols possèdent plusieurs groupements phénoliques avec ou sans autres fonctions (alcooliques, carboxyles...), qui peuvent se classer selon leur structure en : (AKROUM, 2010).

2.1.1. Les acides phénols

Les acides phénols sont des dérivés de l'acide benzoïque tels que l'acide gallique et l'acide vanillique, ou de l'acide cinnamique comme l'acide caféique et l'acide ferulique. (KRIEF, 2003). (Figure 3.1)

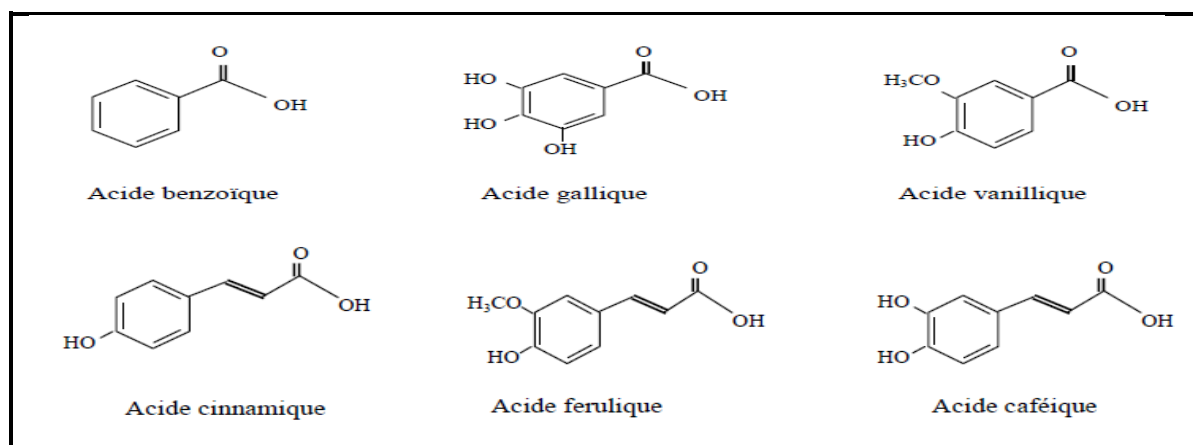


Figure. 3.1. Exemple de quelque acides phénols (AKROM, 2010)

2.1.2. Flavonoïdes

- **Définition**

C'est le groupe le plus représentatif des composés phénoliques. Elles sont omniprésentes presque dans toutes les parties de la plante. Elles sont considérées comme des pigments quasi universels des végétaux qui peuvent participer dans les processus photosynthétiques, dans la régulation de gènes et dans le métabolisme de croissance. Actuellement, environ de 4000 composés flavoniques sont connus et ont tous le même squelette de base à quinze atomes de carbones qui sont arrangés à une configuration C6-C3-C6 de type phényl-2-benzopyrane ce qui est synonyme avec la structure 2-phénylchromane (Figures. 3.2). (BENHAMMOU, 2011)

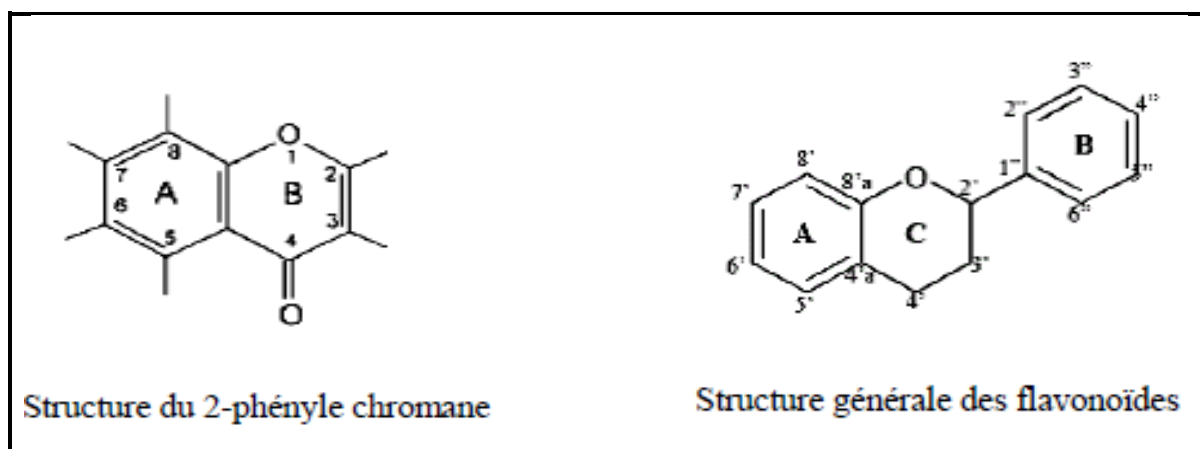


Figure.3.2. Structure de base des flavonoïdes (BENHAMMOU, 2011)

- **Classification des flavonoïdes**

La nature chimique des flavonoïdes dépend de leur classe structurale. D'après leur squelette, les flavonoïdes peuvent être divisés en différentes classe : anthocyanidines ; flavonoles ; isoflavonoles ; flavones ; isoflavanes ; flavanols ; isoflavonols ; flavanones ; isoflavanones ; auronnes (ISOREZ, 2007) (Figure 3.3)

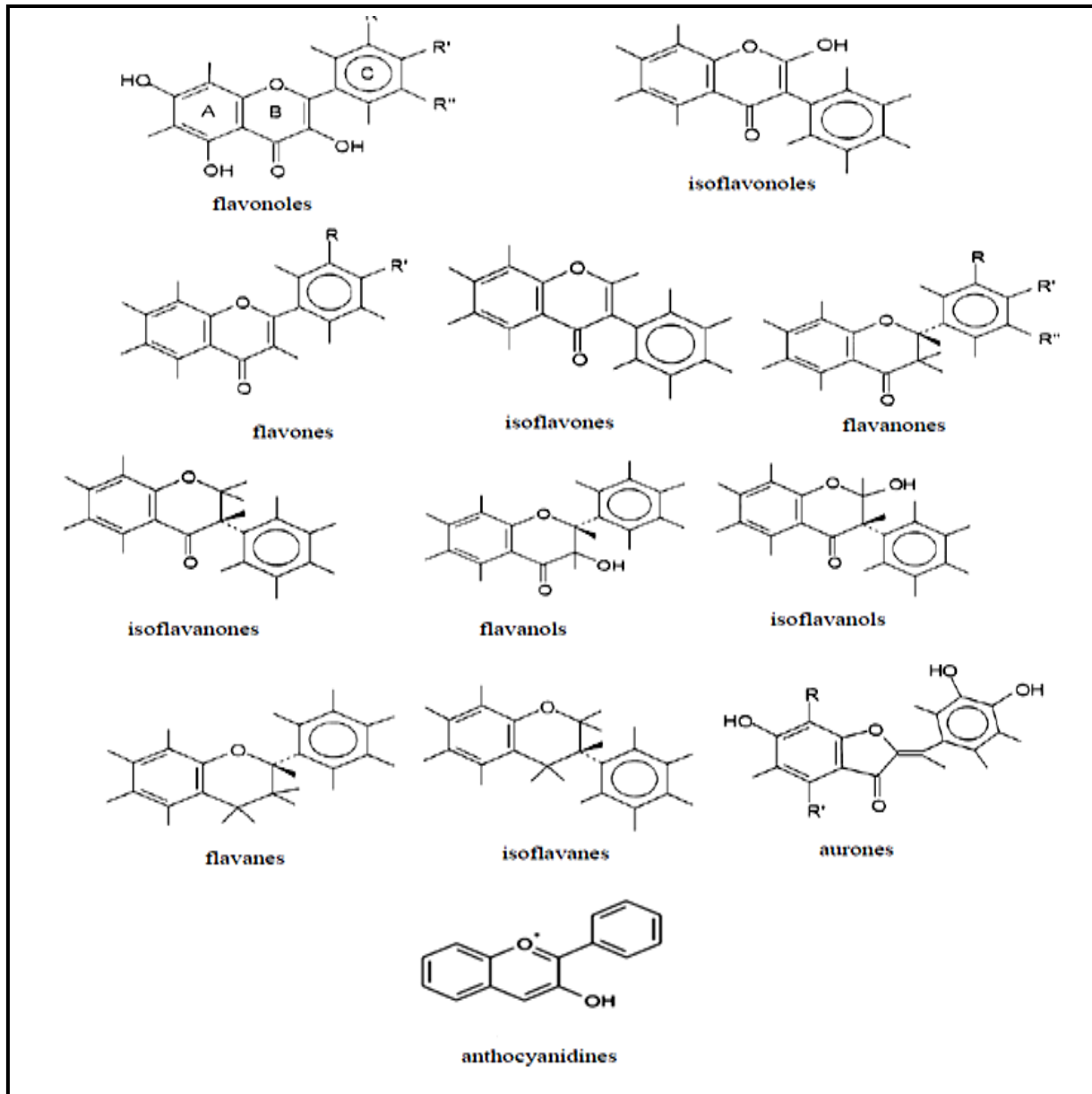


Figure 3.3. Les principales classes des flavonoïdes (Jean et *al.*, 2005)

- **Activités biologiques des flavonoïdes**

Les flavonoïdes présentent des nombreuses activités antioxydantes, anti-inflammatoires, inhibitrices d'enzyme, et prévention des maladies cardiovasculaires. La majorité des activités biologiques des flavonoïdes est due à leur pouvoir antioxydant et chélateur. (CHEBIL, 2006)

- **Activités antioxydantes des flavonoïdes**

Les flavonoïdes peuvent capter des radicaux, par chélation des métaux de transition et par inhibition de l'activité de certain enzyme responsables de la production des ERO. (PASTRE, 2005).

- **Activités anticancéreuses**

In vitro, les flavonoïdes sont considérés comme des agents antiprolifératifs et cytotoxiques vis-à-vis de plusieurs lignes cellulaires cancéreuses. Certain autres études menées sur des animaux ainsi que des études épidémiologiques se sont intéressées à évaluer le pouvoir anticancéreux des flavonoïdes in vivo. (HADJ SALEM, 2009)

2.1.3. Les tannins

Les tannins sont des macromolécules qui se divisent selon leur structure en deux groupes principaux :

- **Les tannins hydrolysables** sont des esters d'acide gallique qui se lient aux molécules de glucose.

- **Les tannins condensés** sont des composés phénoliques hétérogènes. (JEAN et *al.*, 2005)

→ **Biosynthèse des polyphénols**

La biosynthèse des polyphénols se fait par deux voies principales qui sont :

- **La voie de l'acide shikimique**

Dans cette voie, la dégradation des hydrates de carbone se fait par la voie des pentoses phosphate et la glycolyse. (AKROUM, 2010)

- **La voie de l'acide malonique**

La glycolyse et la β -oxydation aboutissent à la formation de l'acétyl CoA donnant le malonate. (AKROUM, 2010) (Figure 3.4)

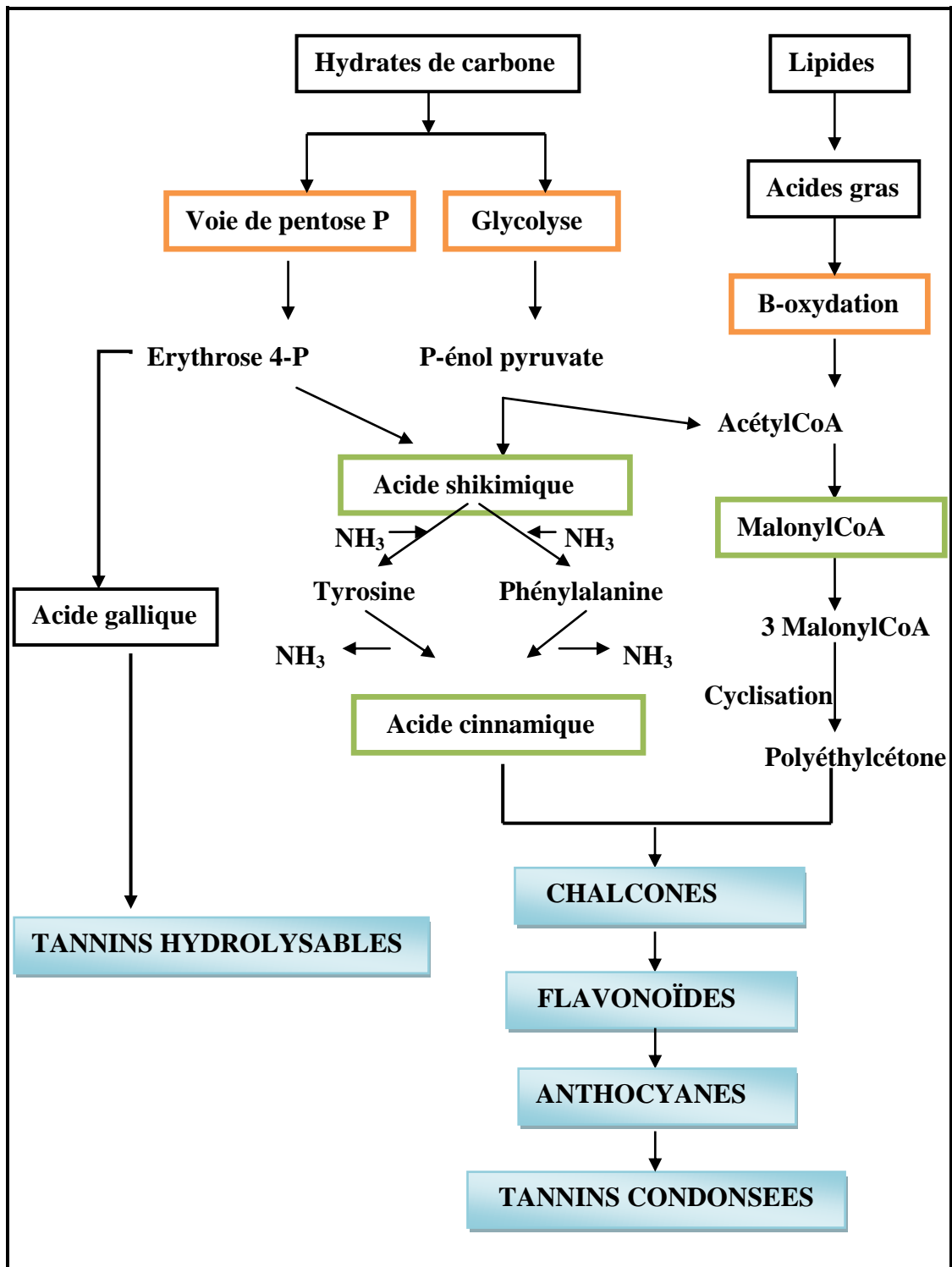


Figure. 3.4. Biosynthèse des polyphénols (AKROUM, 2010).

→ Activités biologiques des polyphénols

Les composés phénoliques sont largement utilisés dans les domaines thérapeutiques et pharmaceutiques. Parmi les nombreux intérêts qu'offrent les polyphénols à la santé, nous pouvons citer dans le tableau (3.1).

Tableau 3.1. Certaines activités biologiques des polyphénols

Activité biologique	Action des polyphénols	Références
Anticancéreuse	Activer les mécanismes naturels de la défense anticancéreuse	(PASTRE, 2005)
Maladies cardiovasculaires	Favorise la protection contre les altérations cardiaques et vasculaire	(AKROUM, 2010)
Maladies hormono-dépendantes	La prévention contre l'ostéoporose	(AKROUM, 2010)
Castro-protectrice	Réduire la surface des lésions gastriques produites par l'andométhacine chez les rates	(AKROUM, 2010)

2.2. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des molécules d'origine naturelle. On les trouve principalement chez les végétaux, mais aussi chez les animaux et chez certains micro-organismes. Leur structure chimique de base est un hétérocycle azoté sauf pour quelques substances dans lesquelles l'azote est extra-cyclique. (COSTA et *al.*, 2011)

2.3. Les terpénoïdes

Les terpénoïdes sont la plus grande famille des produits naturels, comportant des milliers des unités d'isoprène. Les terpénoïdes sont classifiés, par le nombre d'unités de cinq-carbone actuelles dans la structure de noyau, en monoterpènes, sesquiterpènes, diterpènes, triterpènes et tetraterpenes. (TANIA et *al.*, 2012)

PARTIE 2

ETUDES EXPERIMENTAUX

CHAPITRE 4

MATERIEL ET METHODES

Matériel et méthodes

1. Matériel

1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des racines de l'espèce *Capparis spinosa* récoltés de région d'Ain Zaàtout wilaya de Biskra en Octobre 2013.

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

Après séchage, le matériel végétal a été gratté, et les écorces ont été broyées pour obtenir une poudre fine, quia servi pour la préparation des différents extraits. (Figure 4.1)

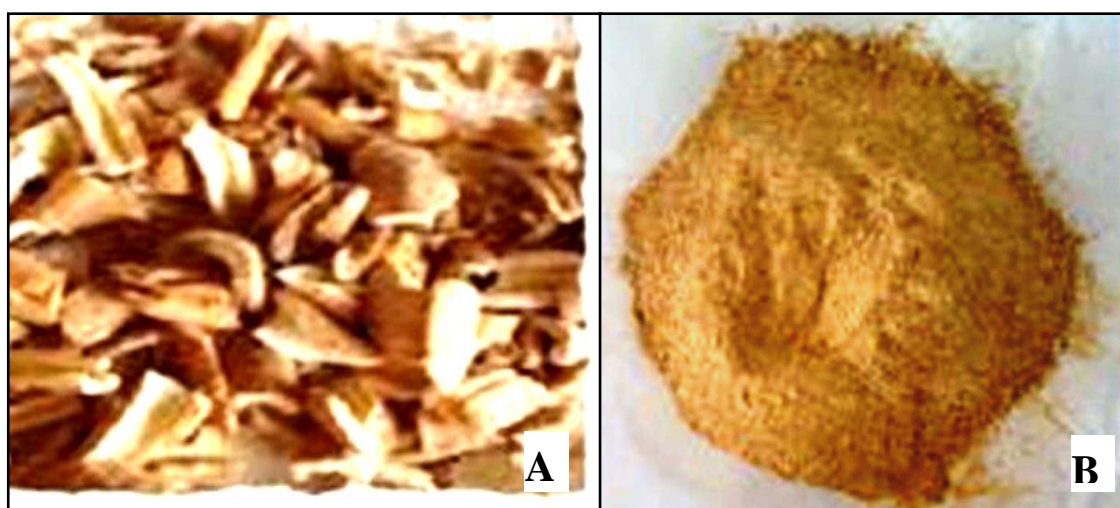


Figure 4.1. Les écorces des racines de *C. spinosa* : (A) avant le broyage, (B) le broyat

1.2. Matériel techniques

- Agitateurs magnétique
- Balance
- Broyeur électrique de type ENIEM (MS50)
- Papier filtre
- Pipette + poire et des micropipettes
- Spectrophotomètre de type JENWAY 6310.

- Verrerie de laboratoire : Entonnoirs, Eprouvettes graduées de 5, 25 et 200 ml, Erlenmeyers et béchers de différent volume (100, 200, 500 ml), Tubes à essaim, tubes à visse et Verre de montre.

1.3. Solvants et réactives

Tous les solvants et les réactifs utilisés sont présentés dans le tableau 4.1.

Tableau 4.1. Solvants et réactif utilisés

Solvants	Réactifs
- Chloroforme	- 2,2 Diphényle-1-picrylhydrazine (DPPH)
- Eau distillée	- Acétate de cuivre
- Ether de pétrole	- Acide chlorhydrique (HCl)
- Méthanol	- Acide gallique (AG)
	- Acide nitrique
	- Anhydride acétique
	- Butylhydroxytoluène (BHT)
	- Carbonate de sodium
	- Folin-Ciocaltau (RFC)
	- Magnésium (Mg)
	- Quercitine
	-Réactif de Dragendorff
	-Trichlorure d'aluminium (AlCl ₃)
	-Trichlorure du fer (FeCl ₃)

2. Méthodes

2.1. Préparation des extraits à partir des écorces de racines de *Capparis spinosa*

La préparation des extraits se fait par macération d'une broyat de matériel végétal.

- **Broyage**

Après la récolte, le nettoyage, le séchage, et le grattage des racines ; les écorces ont été broyé à l'aide d'un broyeur électrique ENIEM (MS 50).

- **Extraction par des solvants à polarité croissante**

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

40g de poudre des écorces de racine de *C. spinosa* ont été extrait avec 240 ml d'éther de pétrole sous agitation pendant 24 heures. Après filtration sur papier Wattman, le marc a été, après séchage, mis en agitation avec 240 ml de chloroforme pendant 24 heures, puis 240 ml de méthanol pendant 24 heures aussi, dans les mêmes conditions opératoires. Les étapes d'extraction sont résumées dans la figure 4.2.

A la fin d'extraction, les trois extraits : extrait d'éther de pétrole (Ep), extrait de chloroforme (Ch) et l'extrait méthanolique (MeOH) ont été conservé au réfrigérateur jusqu'à leur utilisation.

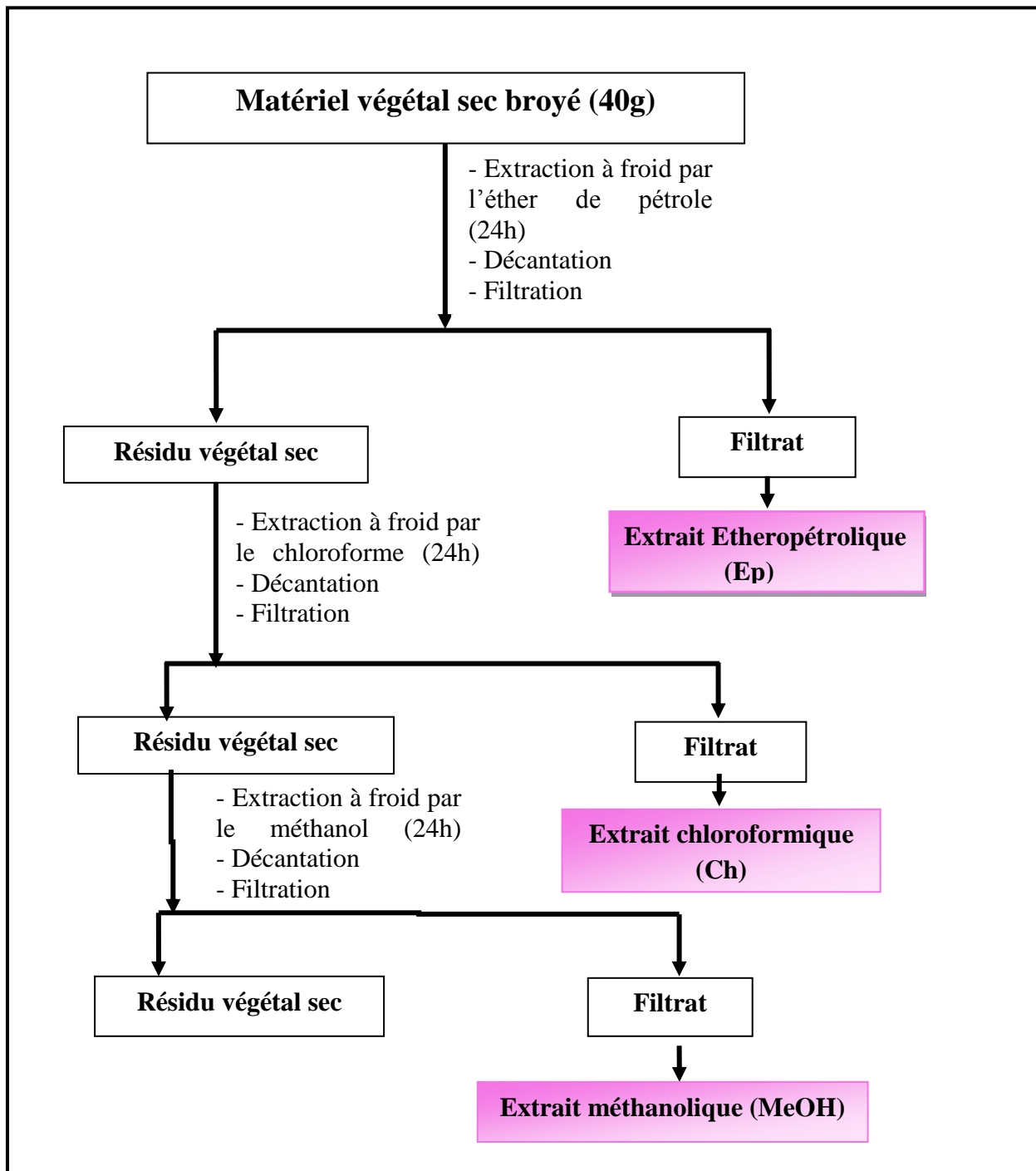


Figure 4.2. Protocol d'extraction de la poudre des écorces de racines de *C. spinosa* par des solvants à polarité croissante.

2.2. Analyses qualitatif et quantitatif des extraits du *C. spinosa*

2.2.1. Analyse qualitative

2.2.1.1. Tests préliminaires

- **Mise en évidence des flavonoïdes**

- **Principe**

La présence des flavonoïdes dans les différents extraits a été détectée par la réaction à la cyanidine selon la méthode de MOGODE (2005).

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

- **Expression des résultats**

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

- **Mise en évidence des tanins**

- **Principe**

L'ajout de trichlorure du fer (FeCl₃) permet de détecter la présence ou non des tanins.

- **Expression des résultats**

La couleur vire au bleu noire en présence des tanins galliques et au brun verdâtre en présence des tanins catéchiques (MOGODE, 2005).

- **Mise en évidence des saponines**

La mise en évidence des saponines a été faite selon la méthode décrite par BIDIE et *al.* (2010).

- Principe

Pour mettre en évidence les saponines, nous avons introduit 2 ml de chacun des extraits dans un tube à essai avec 2 ml d'eau distillée. Le tube est agité pendant 15 secondes puis laissé au repos pendant 15 min.

- Expression des résultats

Une hauteur de mousse persistante, supérieure à 1 cm indique la présence de saponines.

• Mise en évidence des alcaloïdes**-Principe**

La détection des alcaloïdes selon la méthode décrit par TIWARI et *al.* (2011), qui permet les détecter par l'utilisation de réactif de Dragendorff.

Les extraits ont été dissouts dans l'eau acidifiée par HCl à 1% avec agitation et après on ajoute quelques gouttes de Réactif de Dragendorff.

- Expression des résultats

La formation de précipité après l'ajout réactif de Dragendorff, indique la présence d'alcaloïdes.

• Mise en évidence des phytosterols**- Principe**

La mise en évidence des phytosterols par le test de Salkowski décrit par TIWARI et *al.* (2011).L'extrait de Ch a été traité avec quelques gouttes d'acide sulfurique concentré puis l'agitation.

- Expression des résultats

L'aspect de couleur jaune d'or indique la présence des triterpènes.

- **Mise en évidence des diterpènes**

La mise en évidence des diterpènes selon la méthode décrit par OBASI et *al.* (2010) cité par TIWARI et *al.* (2011).

- **Principe**

Les extraits ont été dissous dans l'eau distillée et traités avec 3-4 gouttes de la solution d'acétate de cuivre.

- **Expression des résultats**

La formation de couleur verte indique la présence des diterpènes.

- **Mise en évidence des protéines**

La détection des protéines s'affecte par le test xanthoprotéique décrit par TIWARI et *al.* (2011).

- **Principe**

Les extraits ont été traités avec quelques gouttes d'acide nitrique concentré.

- **Expression des résultats**

La formation de couleur jaune indique la présence des protéines.

2.2.2. Analyse quantitatives

2.2.2.1. Dosage des polyphénols

Le dosage des polyphénols est fait par l'utilisation de réactif de Folin-Ciocaltau selon la méthode décrite par GUORONG et *al.* (2009).

- **Principe**

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

- Expression des résultats

Après 2 heures d'incubation à l'obscurité, l'absorbance est lue au spectrophotomètre à 765 nm. La courbe d'étalonnage est obtenue dans les mêmes conditions que précédemment en utilisant une gamme de concentrations (0- 200 µg/ml) de solution d'acide gallique. Les teneurs en phénols totaux des extraits de plantes sont déterminées graphiquement et exprimées en termes d'équivalent d'acide gallique.

2.2.2.2. Dosage des flavonoïdes

- Principe

La teneur en flavonoïdes a été obtenue par la méthode qui consiste à ajouter 1 ml de solution AlCl₃ (2% dans Méthanol) à 1 ml de chaque extrait. (KSOURI *et al.*, 2008)

- Expression des résultats

Après une incubation pendant 10 min, l'absorbance a été mesurée à 430 nm. La courbe d'étalonnage est obtenue dans les mêmes conditions en utilisant une gamme de concentrations (0- 100 mg/ml) de solution de quercitine. Les teneurs en flavonoïdes des extraits de plante sont déterminées graphiquement et exprimées en termes d'équivalent de quercitrine.

2.3. Mesure de l'activité antioxydant

Pour étudier l'activité anti-radicalaire des différents extraits, nous avons utilisé le test au 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine (DPPH) selon le protocole décrit par VELAZQUEZ *et al.* (2003) cité par ZERBO *et al.* (2010).

2.3.1. Test DPPH

Cette méthode est basée sur la dégradation du radical DPPH°. La réduction de ce radical par un donneur d'atome H venant de l'antioxydant à tester AH conduit à la formation de la 2,2- diphényl-1-picrylhydrazine incolore DPPH-H et au A°. (POPOVICI *et al.*, 2009)



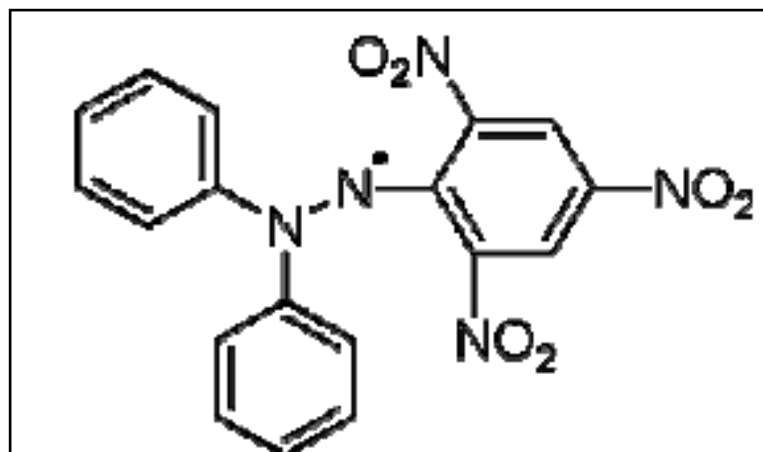


Figure 4.3: structure chimique du radical libre DPPH° (2,2 Diphenyle-1-picryl-hydrazyle). (POPOVICI et *al.*, 2009)

- **Préparation de la solution de DPPH**

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

- **Principe**

A 0.75ml de chaque extrait ou référence positif (BHT et la quercitrine), on a ajouté 1.5ml de la solution méthanolique au DPPH. Après agitation, les tubes ont été placés à l'obscurité à température ambiante pendant 30 minutes. La lecture était effectuée par la mesure de l'absorbance à 517nm.

Le contrôle négatif est composé d'1.5 ml de la solution méthanolique au DPPH et de 0.75ml de méthanol. Les contrôles positifs sont représentés par deux solutions : l'une de la BHT et l'autre de la quercitrine.

- **Expression des résultats**

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

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

Où

-**Inhibition %**: Pourcentage de l'activité anti-radicalaire (**AAR%**) ;

-**Abs Echantillon** : Absorbance de l'échantillon ;

-**Abs Control négatif** : Absorbance du control négatif ;

CHAPITRE 5

RESULTATS ET DISCUSSIONS

Résultats et discussions

1. Préparation des extraits à partir des écorces des racines de *C. spinosa* L.

La préparation des extraits à partir des écorces des racines de *C. spinosa* a été faite selon la méthode de DOHOU et *al.* (2005). La poudre des écorces a été extraite par macération dans des solvants à polarité croissante pour obtenir trois extraits : extrait d'éther de pétrole « Ep », extrait de chloroforme « Ch » et extrait méthanolique « MeOH ».

L'intérêt d'extraction par des solvants à polarité croissante est d'obtenir trois extraits différents selon le degré de solubilisation des molécules actives.

Chacun des extraits est considéré avec un couleur significatif, les résultats de l'extraction sont présentés dans le tableau 5.1.

Tableau 5.1. Résultats couleurs de l'extraction des écorces de racines de *C. spinosa*

Extraits	Couleurs
Ep	Vert très claire
Ch	Vert foncé
MeOH	Marron très claire

2. Analyses des extraits de *C. spinosa*

2.1. Analyses qualitatives des extraits de *C. spinosa*

- Tests préliminaires

La qualification de nos extraits par des tests phytochimiques désignent la présence ou l'absence de quelques types des métabolites. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 5.2.

Tableau 5.2. Résultats des tests phytochimiques des quelque métabolites secondaires sur les différents extraits de *C. Spinosa*

Extraits	Tests	Métabolites	Couleurs	Résultats
Ep	Réaction à la cyanidine	Flavonoïdes	Vert clair	~
Ch			Vert	~
MeOH			Orange claire	+
Ep	Trichlorure du fer(FeCl ₃)	Tanins	Vert très claire	-
Ch			Vert foncé	~
MeOH			Marron claire	~
Ep	Eau distillée	Saponines		~
Ch			Formation d'une mousse	~
MeOH				+
Ep	Dragendorff	Alcaloïdes	Précipité rouge brique	+
Ch			Précipité rouge brique	+
MeOH			Précipité rouge brique	+
Ep	xanthoprotéique	Protéines	Couleur jaune	+
Ch			Couleur jaune	+
MeOH			Couleur jaune	+
Ep	Acétate de cuivre	Diterpènes	Emeraude vert très clair	~
Ch			Emeraude vert clair	+
MeOH			Emeraude vert clair	+
Ch	Salkowski	Phytosterols	Vert clair	~

« ~ » : Signifier réaction douteuse, « - » : réaction négative explique l'absence des métabolites et « + » : réaction positive explique la présence des métabolites.

Nos résultats montrent que les extraits des écorces des racines de *C. spinosa* sont riches en flavonoïdes, saponines, alcaloïdes, protéines, diterpènes, phytosterols et tanins.

La présence des flavonoïdes et des phytosterols est conforme les résultats de MUSALLAM *et al.* (2012) qui disent que les différentes parties de *C. spinosa* contient des phytosterols, des tocophérols, des caroténoïdes, des flavonoïdes et des glucosinolates ; et celui des saponines en accord avec les résultats de TESORIERE *et al.* (2007) qui sont avéré la présence des saponines dans la plante.

L'apparition des protéines dans nos extraits est en accord avec les résultats de POLAT (2004) et ceux de Tlili *et al.* (2010) qui sont détectés la présence des protéines dans les grains de câprier.

La présence des tanins est en accord avec les résultats de SHER et ALYEMENI (2010), F. MUSTAFA (2012) a été révéler la présence des tanins dans la plante. Par contre MOGHADDASIAN *et al.* (2012), MUSALLAM *et al.* (2012) ne discutent pas la présence des tanins dans la plante.

2.2. Analyses quantitatives des extraits de *C. Spinosa*

Vu l'importance biologique des polyphénols et des flavonoïdes on les quantifier par la méthode de dosage.

2.2.1. Dosage des polyphénols et flavonoïdes

L'estimation de teneurs en polyphénols se fait selon la méthode de GUORONG *et al.* (2009) par l'utilisation de Réactif de Folin-Ciocaltau.

La courbe d'étalonnage a été tracée en utilisant l'acide gallique comme standard (0 à 200µg/ml) (Figure 5.1).

Tous les essais ont été réalisés en triple et la concentration des composés phénoliques totaux était déterminés à partir de droite d'étalonnage ($y = 0.005x + 0.016$, $R^2 = 0.988$) et exprimé en microgramme d'équivalent d'acide gallique par 166.67 milligramme de la poudre (µg EAG/166.67 mg de poudre).

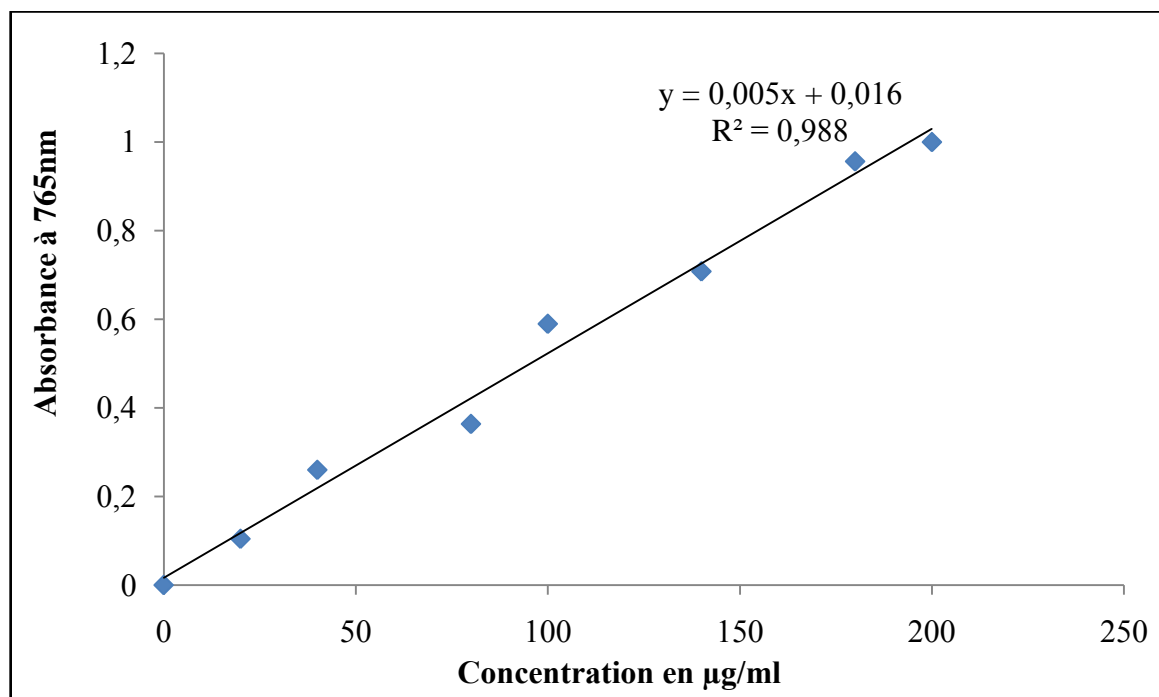


Figure 5.1. Droite d'étalonnage d'acide gallique (moyenne de trois mesures \pm SD).

Le dosage des flavonoïdes totaux a été réalisé avec $AlCl_3$ selon la méthode de KSOURI et *al.* (2008), la quercétine a été utilisée comme standard (0 à 35 μ g/ml).

Tous les tests ont été réalisés en triple et les résultats étaient déterminés à partir de droite d'étalonnage ($y = 0.031x + 0.015$, $R^2 = 0.963$) et exprimé en microgramme d'équivalent de quercitine par 166.67 milligramme de poudre (μ g EQ/166.67 mg de poudre). (Figure 5.2)

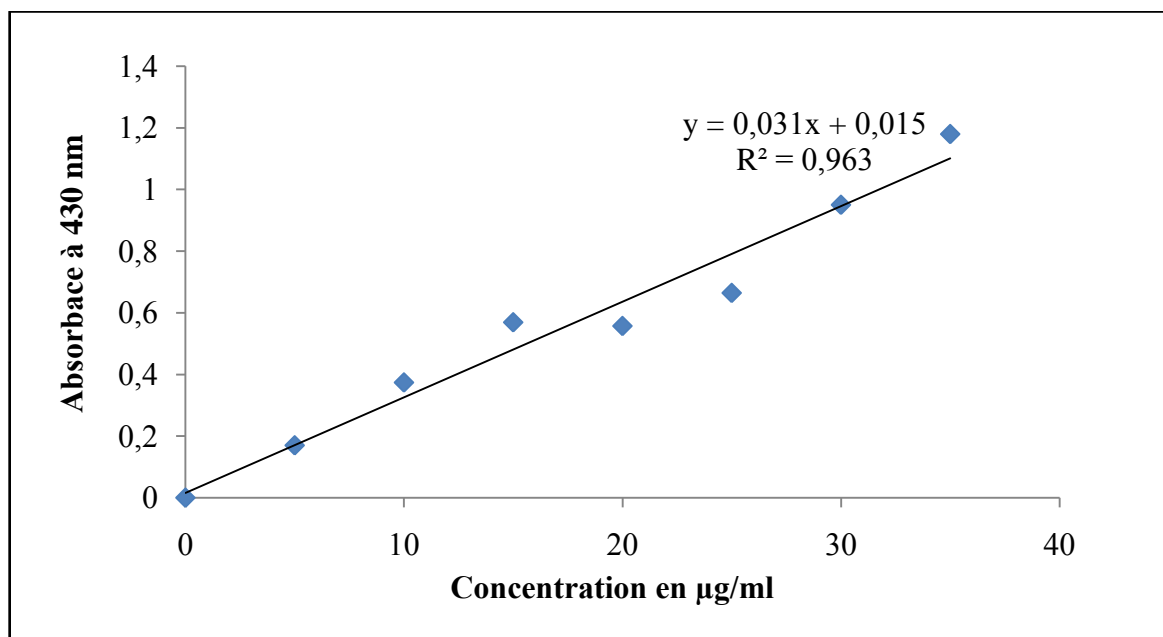


Figure 5.2. Droite d'étalonnage de quercitine (Moyenne de trois mesures \pm SD).

Nos résultats quantitatifs des polyphénols et des flavonoïdes des trois extraits sont résumés dans le tableau 5.3.

Tableau 5.3. Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux dans les différents extraits de *C. spinosa*

Extraits	Teneur en polyphénols	Teneur en flavonoïdes
	($\mu\text{g AG}/166.67\text{mg}$ de poudre)	($\mu\text{g Q}/166.67\text{mg}$ de poudre)
Ep	$6.80 \pm 2,828$	$5.01 \pm 1,847$
Ch	$5.80 \pm 0,848$	$5.11 \pm 0,388$
MeOH	$87.80 \pm 7,071$	$1.24 \pm 0,341$

La teneur en polyphénols est significativement plus réponde dans l'extrait de MeOH, puis dans l'extrait d'Ep et enfin dans l'extrait de Ch par contre, la teneur en flavonoïdes est réponde dans l'extrait de Ch puis l'extrait d'Ep et MeOH.

Ces résultats sont en désaccord avec les résultats de BAGHIANI *et al.* (2012), qui ont montré que la teneur en polyphénols est plus élevée dans l'extrait de chloroforme des racines de *C. spinosa* ($58.66 \pm 2.14 \mu\text{g EAG}/100 \text{ mg d'extrait}$) et l'extrait de chloroforme de la partie aérienne représente ($25.01 \pm 1.64 \mu\text{g EAG}/100 \text{ mg d'extrait}$). La teneur en flavonoïdes dans le même extrait des racines et de la partie aérienne est (2.16 ± 0.71), (31.37 ± 4.27) $\mu\text{g EQ}/100 \text{ mg d'extrait}$ respectivement. Cette différence peut expliquer par l'étude des différentes parties de la plante et aussi le temps et lieu de récolte qui joue une grande importance dans la teneur en ces métabolites.

D'après les résultats de BONINA *et al.* (2002), l'estimation des phénols totaux dans l'extrait méthanolique lyophilisé du bourgeon floraux de *C. Spinosa* L. est de ($65.13 \pm 5.53 \text{ mg/g}$) et les résultats de MEDDOUR *et al.* (2011), la teneur en polyphénols de l'extrait MeOH ($29,01 \pm 0,84(\mu\text{g EAG}/\text{mg d'extrait de bourgeons à fleur, fleurs et fruits})$), et celui de flavonoïdes ($5,97 \pm 0,42 (\mu\text{g ER}/\text{mg d'extrait})$). Nos résultats sont en désaccord, ça est expliqué par l'étude des parties différents et des standards (rutine) aussi.

TLILI *et al.* (2010) ont prouvé que les feuilles et les bourgeon floraux de *C. Spinosa* sont très riches en composés phénoliques totaux (($3,643.29 \pm 403.68$), ($2,621.14 \pm 643.62$) $\text{mg}/100 \text{ g de poids à l'état frais respectivement}$) y compris la rutine (avec une moyenne de ($1,352.71 \pm 254.93$) et (693.14 ± 281.63) $\text{mg}/100 \text{ g de poids à l'état frais, respectivement}$).

En générale, on peut dire que cette plante est riche en polyphénols y compris les flavonoïdes et cette richesse est différente selon plusieurs paramètres tels que : le temps et le lieu de récolte, partie étudiée, méthodes d'extraction,...etc.

2.2.2. Relation entre la teneur en polyphénols et la teneur en flavonoïdes

Les flavonoïdes sont le groupe principal des polyphénols mais ce caractère ne confère pas la relation entre l'absence ou la présence des flavonoïdes avec celui des polyphénols.

Dans nos extraits, on remarque que la teneur en flavonoïdes est plus proche en celui des polyphénols dans les extraits d'Ep et de Ch. Ces résultats représentent que la totalité des composés phénoliques dans ces deux extraits sont des flavonoïdes (73.67% des polyphénols dans l'extrait d'Ep et 88.10% dans l'extrait de Ch).

Par contre, dans l'extrait de MeOH les flavonoïdes ne représentent que 1.41% du total des polyphénols de cet extrait.

Les résultats de relation entre teneur en polyphénols et en flavonoïdes sont présentés dans la figure.5.3.

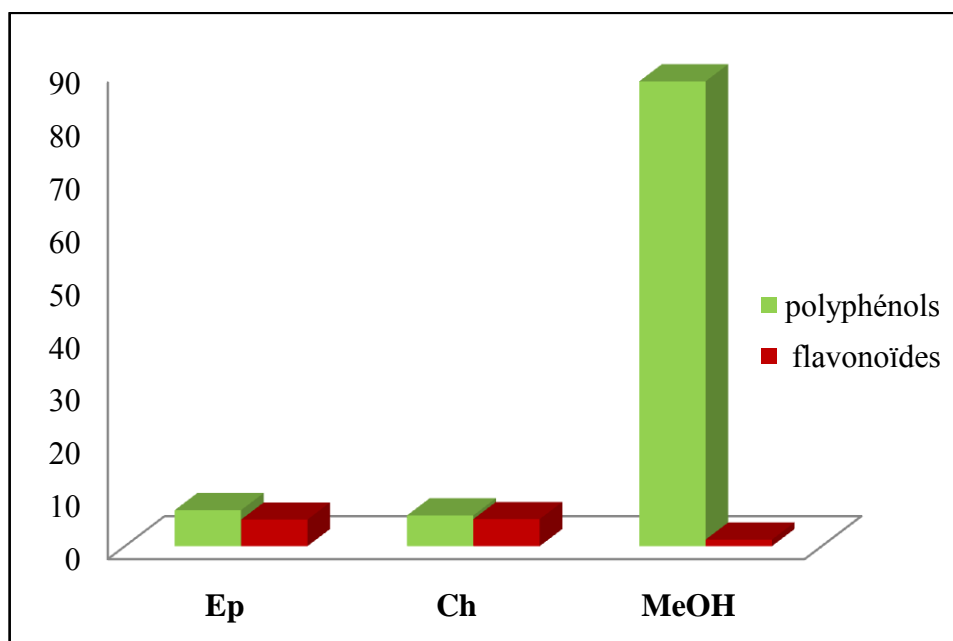


Figure.5.3. Teneur en polyphénols et en flavonoïdes

Ces résultats indiquent qu'on n'a pas une relation significative entre la teneur en polyphénols et la teneur en flavonoïdes, donc on peut expliquer ces résultats par la présence d'autres groupes des composés phénoliques comme les chalcones, les anthocyanes, les tannins....

2.3. Tests des activités biologiques

2.3.1. Test d'activité antioxydante

- **Effet scavenger du radical DPPH**

DPPH est un radical libre stable à la température ambiante et accepte un électron de radical d'hydrogène pour devenir une molécule stable. La capacité de réduction du radical de DPPH est déterminée par la diminution de son absorbance à 517 nm, induits par des antioxydants. La diminution de l'absorbance du radical de DPPH provoquée par des

antioxydants, en raison de la réaction entre les molécules d'antioxydants et radical. Elle est visuellement apparente comme changement de couleur de violet au jaune. Par conséquent, DPPH est habituellement employé comme substrat pour évaluer l'activité antioxydante. (ATHAMNA et al., 2010).

Les résultats exprimés en tant que pourcentage de l'activité anti-radicalaire (Figure.5.4), révèlent que tous les extraits testés ainsi que le BHT et la Quercétine utilisés comme références sont des antiradicalaires.

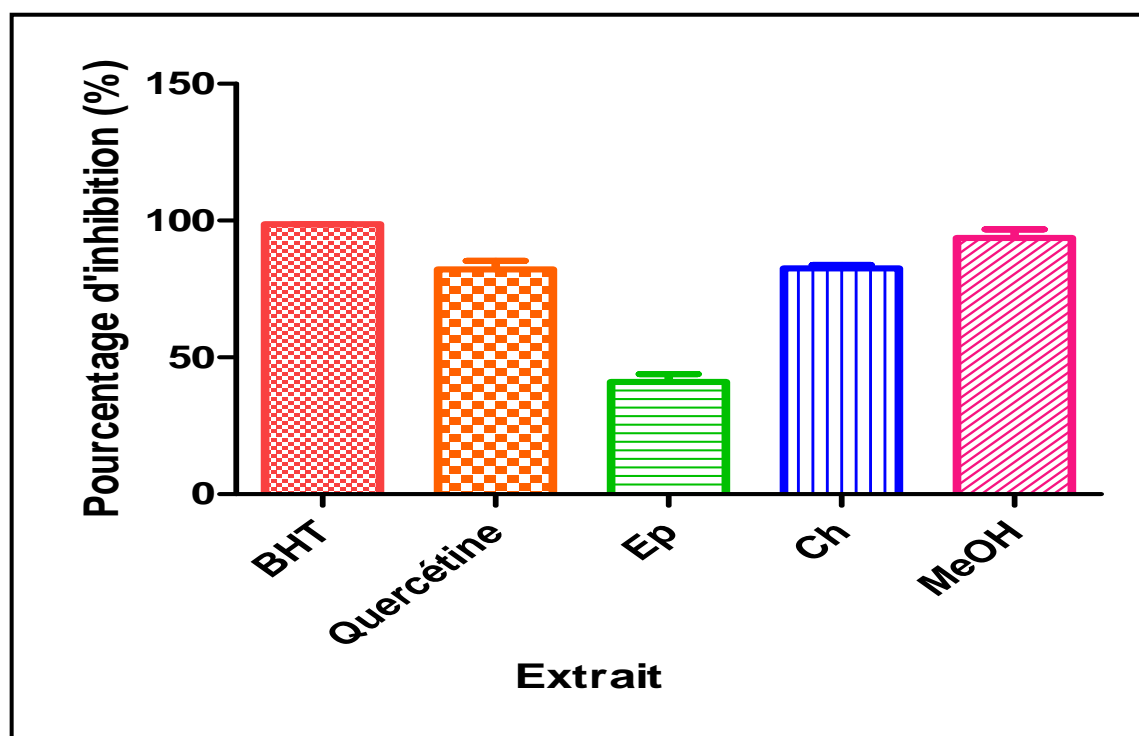


Figure 5.4. Activité antioxydante des différents extraits des écorces des racines du *C. spinosa*, de la quercitine et de BHT.

L'extrait MeOH des écorces des racines de *C. spinosa* a présenté l'activité antiradicalaire la plus élevée (93.63%), suivie par l'extrait Ch (82.57%) et en dernier l'extrait Ep par une activité antiradicalaire de 41.10%.

L'activité antiradicalaire de l'extrait MeOH ne présente pas une différence significative avec la référence BHT ($p < 0.05$) considéré comme il a l'effet antioxydant le plus puissant ici.

En comparaison avec la quercétine qui est un flavonoïde doté d'activité antioxydante, notre extrait a été révélé le plus puissant avec une différence significative ($p < 0.05$).

L'activité antiradicalaire de l'extrait Ch a un effet antioxydant mais avec une différence significative ($p < 0.05$) avec la quercitine et le BHT.

On constate que l'extrait MeOH a présenté une activité plus élevée. Cette activité pourrait être liée à sa richesse en polyphénols et en vitamine surtout vitamine E (TLILI et al., 2010).

Nos résultats sont en accord avec les résultats de MEDDOUR et al. (2011) malgré qu'ils ont évalués l'activité antioxydante de l'extrait MeOH des bourgeons à fleurs, fleurs et des fruits immatures du *C. spinosa* ; sont dépistés d'une activité antiradicalaire plus élevée (78,34%) par l'utilisation comme référence la rutine et l'acide gallique. L'ajustement des résultats peuvent l'expliquer par la présence des antioxydants doués d'une activité antiradicalaire principalement les polyphénols et les flavonoïdes.

Nos résultats sont en confirmés également par ceux de BONINA et al. (2002) malgré l'utilisation d'autre partie de la plante, ils démontraient la forte efficacité de l'activité antiradicalaire d'extrait méthanolique des bourgeons floraux de *C. spinosa*.

L'étude de l'activité antiradicalaire des extraits de la partie aérienne et des racines de *C. spinosa* d'après BAGHIANI et al. (2012) est déclaré la détection d'une activité antioxydante puissante dans l'extrait de la partie aérienne, peut être due aux groupes d'hydroxyle existant dans les composés phénoliques.

Donc d'après notre étude et en comparaison avec d'autres recherches, on confirme la capacité anti-radicalaire de *Capparis spinosa* mais toujours reste d'approfondir ce résultat avec d'autres études.

CONCLUSION

Conclusion

La découverte de ressources naturelles du règne végétal reste capitale pour la mise au point de nouveaux remèdes thérapeutiques.

La présente étude a porté sur l'espèce de *Capparis spinosa* L. de la famille de *Capparidaceae* permis de mettre en évidence à travers des tests phytochimiques la présence des tanins, des flavonoïdes, des phytosterols, des saponosides, des alcaloïdes, des protéines, et des diterpènes.

Le dosage des phénols totaux a révélé la richesse de l'extrait de MeOH par rapport les autres extraits.

Le dosage des flavonoïdes a révélé la richesse de l'extrait de Ch par rapport les autres extraits.

L'étude de l'activité antioxydante par la méthode du piégeage de radical libre DPPH a montré que tous nos extraits possèdent un pouvoir antioxydant puissant surtout pour l'extrait méthanolique (93.63%).

Cette étude reste préliminaire d'autres études sont nécessaires pour confirmer nos résultats et les approfondir au niveau moléculaire.

Références et bibliographies

AKROUM S. 2010. Études analytique et biologique des flavonoïdes naturels : physiotoxicologie et biologie. Thèse de doctorat, Université Mentouri, Constantine, pp (4-5, 10-11).

ATHAMENA. S., CHALGHEM. I., KASSAH-LAOUAR. A., LAROUI. S ET KHEBRI. S. 2010. Activité anti-oxydante et antimicrobienne d'extraits de *cuminum cyminum* L. Lebanese Science Journal 11 : (1) 69 – 81.

AUBERVAL N. 2010. Prévention du stress oxydant dans le diabète et ses complications par des antioxydants d'origine naturelle : école doctorales des sciences et de la vie et de la santé. Thèse de doctorat, Université de Strasbourg, p 69.

BATANOUNY K.H., 1999. *Capparis spinosa* L. in: A guide of Medicinal plants in North Africa. IUCN, Malaga (Spain). pp 63-65.

BEL OUED A. 2001. Plantes médicinales d'Algérie. 5^{ème} édition, Office des publications Universitaires. pp 56-57.

BELKHEIRI N. 2010. Derives phénoliques a activités antiathérogènes : école doctorale Sciences de la Matière. Thèse de doctorat, Université de Toulouse III Paul Sabatier, p 32.

BELLAKHDAR J, 1997. *Capparis spinosa* L. in Pharmacopée traditionnelle du Maroc : La Médecine arabe ancienne et savoirs populaires.

BENHAMMOU N. 2011. Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-ouest Algérien. Thèse de doctorat, Université Aboubakr belkaïd, Tlemcen. pp 8-14.

BIDIE. A-PH., BANGA B.N., ADOU F. Y., JEAN D.N., ALLICO J DJ. 2010. Activités antioxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne. Sciences et Nature 8 (1) : 1 – 11.

BOULENOUAR. N., MAROUF. A., CHERITI. A. 2011. Phytopathologie fongique et métabolites secondaires Annales de l'Université de Bechar.

BOULOS L. 1998. *Capparis spinosa* L. in Medicinal plants of North Africa *Capparis spinosa* L. Inc. Algonac, Michigan, pp 40, 42.

BOURGAUD F. 2001. Les questions et travaux de recherche nécessaires au développement de la filière , exemple de l'apport des sciences cognitives à la production/valorisation des métabolites secondaires d'intérêt. Plantes à parfum, aromatiques et médicinales. Université de Lorraine – INRA, Nancy-Colmar, pp 1-4.

BURK .RF, 2002. Selenium, an antioxidant nutrient. *Nutr Clin Care* 5: 47-49.

CHEBIL L. 2006. Acylation des flavonoïdes par les lipases de *Candida antarctica* et de *Pseudomonas cepacia* : études cinétique, structurale et conformationnelle : Ecole Doctorale Ressources Procédés Produits Environnement Laboratoire Biocatalyse Bioprocédés. Thèse de doctorat, Lorraine. P 15.

COULON L. 2004. Effet d'un hydroperoxyde lipidique et des LDL oxydées sur les enzymes impliquées dans la libération de l'acide arachidonique des phospholipides plaquettaires : Ecole doctorale Institut national des sciences appliquées. Thèse de doctorat, LYON, p 71.

DELATTRE J., BEAUDEUX JL., BONNEFONT-ROUSSELOT. 2005. Radicaux libres et stress oxydant : aspects biologiques et pathologiques. Lavoisier édition TEC et DOC éditions médicales internationales, Paris, pp 1 – 405.

DENES A. 2006. Etude comparée de l'effet de deux protéases sur la production d'hydrolysats dotés d'activités antioxydante et antiradicalaire : Ecole pratique des hautes études. Mémoire. pp 12-13.

DOHOU. N., YAMNI. K., BADOUC. A., DOUIRA. A. 2004. Activité antifongique d'extraits de *thymelaea lythroides* sur trois champignons pathogènes du riz. *bull. soc. pharm. bordeaux* 143 : 31-38.

EDDOUKS. M., LEMHADRI. A., MICHEL. J-B. 2005. Hypolipidemic activity of aqueous extract of *Capparis spinosa* L. in normal and diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology* 98: 345–350.

EI HASSANE A. 2011. Theoretical investigations of the antioxidant, optical and electronic properties of polyphenols: Ecole doctorale biologie santé. Thèse de doctorat, Université de Limoges. p 22.

ENRICO SANJUST., GIUSEPPE MOCCI., PAOLO ZUCCA., ANTONIO RESCIGNO. 2008. Mediterranean shrubs as potential antioxidant sources. *Natural Product Research* 22 (8, 20): 689–708.

FATIN A.A.MUSTAFA. 2012. In vitro evaluation of *Capparis spinosa* against *Lumbricus terrestris* (Annelida). Biology Departement, college of Education, University of Basrah, Iraq, ISSN 5 (2): 0258-3216.

FAVIER A. 2003. Le stress oxydant ; Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Mécanismes biochimiques* : 109-115.

FUS PU XIAO., TAO WU., MIRIBAN ABDURAHIM., ZHEN SU., XUE LING HOU., HAJI AKBER AISA., HANKUI WU. 2008. New spermidine alkaloids from *Capparis spinosa* roots. *Phytochemistry Letters* 1: 59–62.

GADGOLI CH ET MISHRA S.H. 1999. Antihepatotoxic activity of *p*-methoxy benzoic acid from *Capparis spinosa*. *Journal of Ethnopharmacology* 66:187–192.

GUORONG DU., MINGJUN LI., FENGWANG MA., DONG LIANG. 2009. Antioxidant capacity and the relationship with polyphenol and Vitamin C in *Actinidia* fruits. *Food Chemistry* 113: 557–562.

HADJ SALEM J, 2009. Extraction, identification, caractérisation des activités biologiques des flavonoïdes de *Nitraria rétusa* et synthèse de dérivés acyles de ces molécules par voie enzymatique. Thèse de doctorat Université Nancy. p 43.

HALLIWELL, B., GUTTERIDGE, J. M. C., 1990. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods Enzymol* 186: 1-85.

HMAMOUCHE M. 1997. Plantes alimentaires, aromatiques, condimentaires, médicinales et toxiques au Maroc. Chania : CIHEAM Cahiers Options Méditerranéennes, 23 : pp 89- 108.

INOCENIO C., DIEGO R., MA CONCEPCION OBON., FRANCISCO A., JOSE-ANTONIO., BARRENA. 2006. A systematic revision of *Capparis* section *Capparis* (*capparaceae*). *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 93: 122–149.

ISOREZ G. 2007. Contribution à la chimie des flavonoïdes, Accès à des analogues des pigments du vin rouge : école doctorale de chimie. Thèse de doctorat, université louis pasteur, Strasbourg, pp 5-6.

JEAN-JM, ANNIE F, CHRISTIAN J-A. 2005. Les composés phénoliques des végétaux : Presses polytechniques et universitaires romandes, CH-1015 Lausanne, Italie, p 7.

JIANG HONG-EN., XIAO LI., DAVID K. FERGUSON., YU-FEI WANG., CHANG-JIANG LIU., CHENG-SEN LI. 2007. The discovery of *Capparis spinosa* L. (Capparidaceae) in the Yanghai Tombs (2800 years b.p.), NW China, and its medicinal implications. *Journal of Ethnopharmacology* 113 : 409–420

KRIEF S. 2003. Métabolites secondaires des plantes et comportement animal : surveillance sanitaire et observations de l'alimentation de chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthi*) en Ouganda, activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. Muséum national d'histoire naturelle. Thèse de doctorat, p 18.

KSOURI R., MEGDICHE W., FALLEH H., TRABELSI N., BOULAABA M., SMAOUI A., ABDELLY CH. 2008. Influence of biological, environmental and technical factors on phenolic content and antioxidant activities of Tunisian halophytes. *C. R. Biologies* 331: 865–873.

LEMHADRI A., EDDOUKS M., SULPICE T., BURCELIN R. 2007. Anti-hyperglycaemic and Anti-obesity Effects of *Capparis spinosa* and *Chamaemelum nobile* Aqueous Extracts in HFD Mice. *American Journal of Pharmacology and Toxicology* 2: 106-110.

LIEUTAGHI. P. 1969. Le Livre des arbres, arbustes et arbrisseaux. 1^{er} édition. p 291.

MARC F., ANDRE D., LAURENCE D-B., CARINE F., MICHEL B., PIERRE F. 2004. Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *Médecine sciences*, 20 (4) : 458-463.

MEDDOUR. A., YAHIA. M., BENKIKI. N., AYACHI. A. 2011. Étude de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'un ensemble des parties de la fleur du *Capparis spinosa* L. Lebanese Science Journal 14(1) : 49-60.

MOGHADDASIAN., BEHNAZ., ERADATMAND A., DAVOOD., EGHdami A. 2012. Caper the Mystique of the recent century. International Journal of Agriculture and Crop Sciences : 4-10/604-608.

MOGODE D-J. 2005. Etude phytochimique et pharmacologique de *Cassia nigricans* Vahl (*Caesalpinaceae*) utilisé dans le traitement des dermatoses au Tchad, Médecine de Pharmacie et D'Odonto-Stomatologie. Thèse de doctorat diplôme d'état université de BAMAKO, p 136.

MONIQUE F et ROUSSEL AM. 2002. Micronutriments et déclin cognitif. La Revue de Gériatrie, Tome 32 (4) : 295-304.

MUSALLAM. I., DUWAYRI. M., SHIBLI. R., ALALI. F. 2012. Investigation of Rutin content in different plant parts of wil caper (*Capparis spinosa* L.) populations from Jordan, Research Journal of Medicinal plant 6 (1): 27-36.

NAKAZAWA. H and C. GENKA. 1996. Pathological aspects of active oxygens / free radicals. Japanese journal of physiology 46 (1): 15-32.

OBASI NL., EGBUONU ACC., UKOHA PO., EJIKEME PM. 2010. Comparative phytochemical and antimicrobial screening of some solvent extracts of *Samanea saman* pods. African journal of pure and applied chemistry 4(9): 206-212.

PANICO AM., CARDILE TV., GARUFI F., PUGLIA C., BONINA F., RONSISVALLE G. 2005. Protective effect of *Capparis spinosa* on chondrocytes. *Life sciences*, **77**, 2479-2488.

PASTRE. J.O. C. 2005. Intérêt de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques : école nationale vétérinaire. Thèse de doctorat diplôme d'état, université Paul-Sabatier, Toulouse. pp 24 - 26.

POLAT MERVE. 2004. *Capparis spinosa* L. (*Capparidaceae*): A review Afyon Kocatepe University, Journal of science 7(1):35-48.

POPOVICI C., ILONKA S., BARTEK T. 2009. Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel* 4 : 25-39.

POWELL SR. 2000. The antioxidant properties of zinc, *J. Nutr* 130.

SALHI S., MOHAMED F., LAHCEN Z., ALLAL D. 2010. Etudes floristique et ethnobotanique des plantes médicinales de la ville de Kénitra, Maroc. *LAZAROA* 31: 133-146.

SATYANARAYANA T., MATHEWS AA., VIJETHA P. 2008. Phytochemical and pharmacological Review of Some Indian *Capparis* Species. *Pharmacognosy Reviews* 2: 36-45.

SHER. H AND M-N. ALYEMENI. 2010. Ethnobotanical and pharmaceutical evaluation of *Capparis spinosa* L, validity of local folk and Unani system of medicine. *Journal of Medicinal Plants Research* 4(17): 1751-1756.

Tânia da S. Agostini-Costa., Roberto F. Vieira., Humberto R. Bizzo., Dâmaris S and Marcos A. Gimenes. 2012. Secondary Metabolites, Chromatography and Its Applications, edition, ISBN: 978-953-51-0357-8.

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

TIWARI P., BIMLESH K., MANDEEP K., GURPREET K., HARLEEN K. 2011. Phytochemical screening and Extraction: A Review. *INTERNATIONALE PHARMACEUTICA SCIENCIA*, Jan-March 2011. Vol. 1. Issue 1.

TLILI N., ELFALLEH W., SAADAOU E., KHALDI A., TRIKI S., NASRI N. 2010a. The caper (*Capparis* L.): Ethnopharmacology, phytochemical and pharmacological properties. *Fitoterapia* 82: 93–101.

TLILI N., NASRI N., SAADAOU E., KHALDI A., TRIKI S. 2010b. Sterol composition of caper (*Capparis spinosa*) seeds. *African Journal of Biotechnology* 9(22): 3328-3333.

Thli N., SAADAoui E., SAKOUHI F., ELFALLEH W., EL GAZZAH M., TRIKI S., KHALDI A. 2010c. Morphology and chemical composition of Tunisian caper seeds: variability and population profiling. *African Journal of Biotechnology* 10(10): pp 2112-2118.

TROMBETTA D., OCCHIUTO F., PERRI D., PUGLIA C., SANTAGATI NA., PASQUALE AD., SAIJA A., BONINA F. 2005. Antiallergic and antihistaminic effect of two extracts of *Capparis spinosa* L. flowering buds. *Phytotherapy Research* 19: 29–33.

VELAZQUEZ E., YOURNIER HA., MORDUJOVITCHOLE BP., SAAVEDRA G., SCINELLA GR. 2003. Antioxidant activity of Paraguayan plant extracts. *Fitoterapia* 74: 91-97.

ZERBO A., JEAN K., NOUFOU O., RASMATA O., INNOCENT P. G. 2010. Antioxidant and antibacterial activities of *Piliostigma reticulatum* (DC.) Hochst extracts. *African Journal of Biotechnology* 9(33): 5407-5411.

REFERENCES ET BIBLIOGRAPHIES

Résumé

L'activité antioxydante des extraits d'Ether de pétrole (Ep), de chloroforme (Ch) et l'extrait méthanolique (MeOH) des écorces des racines de *Capparis spinosa* L. a été étudiée *in vitro* dans la présente étude.

Les tests phytochimiques ont montré la présence des flavonoïdes, des alcaloïdes, des tanins, des saponines, des protéines, des diterpènes et des phytosterols. La présence des flavonoïdes et des polyphénols est confirmée par des tests quantitatifs basés sur le dosage des polyphénols et flavonoïdes, où les teneurs en ses derniers ont été plus élevées dans l'extrait MeOH ($87.80 \pm 7,071 \mu\text{g AG}/166.67\text{mg}$ de poudre) pour les polyphénols et dans l'extrait Ch ($5.11 \pm 0,388 \mu\text{g AG}/166.67\text{mg}$ de poudre) pour les flavonoïdes.

L'évaluation de l'activité antioxydante par le test de DPPH a révélé une corrélation avec le contenu en polyphénols. L'extrait MeOH a été le plus actif avec une activité antioxydante relative de 93.63%.

Mots clés : *Capparis spinosa*, Polyphénols, Flavonoïdes, Dosage, Activité Antioxydante.

Abstract

The antioxidant activity of petroleum Ether extract (Ep), chloroform extract (Ch) and methanolic extract (MeOH) of the roots barks of *Capparis spinosa* L. was studied *in vitro* in the present study.

The phytochemical tests showed the presence of the flavonoids, alkaloids, tannins, saponins, proteins, diterpènes and phytosterols. The presence of flavonoids and polyphenols is confirmed by quantitative analyzes based on the spectral dosage of polyphenols and flavonoids, where the highest content was revealed in the MeOH extract for the polyphenols ($87.80 \pm 7,071 \mu\text{g AG}/166.67\text{mg}$ of powder) and in the Ch extract for the flavonoids ($5.11 \pm 0,388 \mu\text{g AG}/166.67\text{mg}$ of powder).

The evaluation of the antioxidant activity by the test of DPPH revealed a correlation with the polyphenol contents. The MeOH extract was the most active with a relative antioxidant activity of 93.63%.

Key words: *Capparis spinosa*, Polyphenols, Flavonoïdes, Dosage, Antioxidant Activity.

المخلص

تم تقديري الفعالية المضاد للأكسدة في هذه الدراسة لمستخلصات أثير البترول (Ep) و الكلوروفورم (Ch) و المستخلص الميثانولي (MeOH) قشور جذور نبات الكبار.

بينت نتائج فحص هذه الم ستخلصات احتواءها على كل من الفلافونويدات و الألكلويدات و التنينات و الصابونينات و الفيتوستيرولات و البروتينات و الديتريبان. من اجل تأكيد وجود الفلافونويدات و متعددات الفينول قمنا بمعايرتهما في هذه المستخلصات حيث بينت أن المستخلص الميثانولي أكثر غنى بمتعددات الفينول ($87.80 \pm 7,071$) و مركب Ch بالفلافونويدات ($5.11 \pm 0,388$).

تقدير النشاطية ضد الأكسدة عن طريق اختبار DPPH أظهرت فعالية المستخلصات MeOH و Ch مقارنة بالمستخلص Ep، هذه الفعالية مرتبطة بمحتوى المركبات الفينولية . المستخلص MeOH أكثر نشاطا حيث أبدى نشاطية ضد أكسدة مقدرة ب 93.63% .

الكلمات المفتاحية : الكبار، متعددات الفينول، الفلافونويدات، المعايير، النشاطية ضد الأكسدة.