

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2021

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biotechnologie microbienne

Présenté par : *BAL Naouel & BELKACEMI Nahed*

Thème

**Etude phytochimique et l'évaluation de l'activité antioxydante
de *Berberis vulgaris L.***

Soutenu le: 11/07/2021

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
REKAB DJABRI Hamza	MCA	Univ. de Bouira	Président
NOURI Allaoua	MAA	Univ. de Bouira	Promoteur
IAZZOURENE Ghania	MCB	Univ. de Bouira	Examinatrice

Année Universitaire : 2020/2021

REMERCIEMENTS

*Au nom de Dieu le tout puissant, et le salut sur le prophète Mohamed
messager de Dieu, que la paix soit sur lui.*

*Avant tout, nous remercions Dieu de nous avoir donné la force, le courage et
la persistance pour accomplir ce modeste travail, Car l'homme propose mais
Dieu dispose, seigneur, veuille toujours diriger nos pas.*

*Ce mémoire n'aurait jamais été entrepris ni achevé sans la patiente
assistance et les conseils et orientations, les méticuleux contrôles et suivis de
notre promoteur, **Monsieur Nourí Allaoua**, Nous lui témoignons ici, de notre
gratitude et notre reconnaissance.*

*Nous tenons à remercier les membres de jury **Mr Rekab Djabri Hamza** et **M^{me}
Iazzourene Ghanía.**, pour L'honneur qu'ils nous ont fait en
acceptant d'être présents et de consacrer de leur temps à la lecture et
l'appréciation de ce document.*

*Nos remerciements particuliers à l'équipe de laboratoire de département
SNV, leurs encouragement, leurs aides scientifique et le temps précieux qu'il
nous a accordé pour mener à bien notre travail.*

Nahed et Naouel

Dédicaces

Merci Allah de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire et la patience d'aller jusqu'au bout du rêve...

*À celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, **ma mère***

*À l'école de mon enfance, qui a été mon ombre durant Toutes les années de mes études, et qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager, à me donner de l'aide et à me protéger, **mon père***

Aucune dédicace, ne saurait exprimer à sa juste valeur le profond amour que je vous porte, Je vous dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester votre fierté et ne jamais vous décevoir, Puisse Dieu, vous procure santé, bonheur et longue vie

À mes adorables sœurs Kahina, Hadjira et Samira, À mes deux frères

Fouad et Slimane

À tout(es) mes amis(es), en particulier Nahed, Houda, Mohamed, Rabie et Yacine

À tous ceux qui m'aiment

À tous ceux que j'aime, Je dédie ce modeste travail.

Naouel

Dédicaces

Merci Allah de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire et la patience d'aller jusqu'au bout du rêve...

*À celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, **ma mère***

*À l'école de mon enfance, qui a été mon ombre durant Toutes les années de mes études, et qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager, à me donner de l'aide et à me protéger, **mon père***

Aucune dédicace, ne saurait exprimer à sa juste valeur le profond amour que je vous porte, Je vous dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester votre fierté et ne jamais vous décevoir, Puisse Dieu, vous procure santé, bonheur et longue vie

À mon adorable sœur Romaïssa, À mon seul et unique frère Fahed

*À **ma** grand-mère maternelle et ma grand-mère paternelle*

À mes oncles et mes tantes

À tout(es) mes amis(es) en particulière Naouel, Houda, Mohamed, Rabie et Yacine

À tous ceux qui m'aiment

*À tous ceux que j'aime, **Je** dédie ce modeste travail.*

Nahed

Liste des abréviations

BHT : Hydroxytoluène Butylé.

DMAPP: Diphosphate dediméthylallyle.

DO : Densité Optique.

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl.

EBV : extrait de *Berberis vulgaris*.

Eq : Equivalent.

ERO : Espèces réactives de l'oxygène.

GPP: Transgéranyldiphosphate.

GSH –Px : La glutathion peroxydase.

IC₅₀ : Concentration permettant d'inhiber 50% du radical DPPH.

IPP: Diphosphate d'isopentényle.

NADPH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate.

NORA: Éléonore.

Rdt : Rendement.

SOD : Superoxyde dismutase.

µg CEQ/mg : µg équivalent catéchine par milligramme de matière sèche.

µg GAE/mg : µg équivalent acide gallique par milligramme de matière sèche.

µg QEQ/mg : µg équivalent quercétine par milligramme de matière sèche.

VC : Vitamine C.

Liste des figures

Figure n°01 : Exemple de quelques acides phénols de la série benzoïque.....	07
Figure n°02 : Exemple de quelques acides phénols de la série cinnamique.....	07
Figure n°03 : Structure de quinones.....	09
Figure n°04 : Structure de coumarine.....	09
Figure n°05 : Photo de <i>Berberis vulgaris</i> avant la maturation des fruits.....	13
Figure n°06 : Répartition géographique de <i>Berberis vulgaris</i>	14
Figure n°07 : Structure de Berberine.....	18
Figure n°08 : Carte géographique de la wilaya de Bouira.....	20
Figure n°09 : Les racines de <i>Berberis vulgaris</i>	21
Figure n°10 : Schéma de l'extraction aqueuse de <i>Berberis vulgaris</i>	21
Figure n°11 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	23
Figure n°12 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.....	24
Figure n°13 : Courbe d'étalonnage de la catéchine.....	26
Figure n°14 : Forme libre et réduite du DPPH.....	27
Figure n°15 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations utilisé pour le BHT.....	28
Figure n°16 : Répartition des familles des plantes médicinales selon la citation.....	33
Figure n°17 : Répartition des plantes médicinales selon la partie utilisée.....	33
Figure n°18 : Répartition des plantes médicinales selon les maladies.....	34
Figure n°19 : Répartition des plantes médicinales selon les modes de préparations.....	34
Figure n°20 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Berberis vulgaris</i>	38

Figure n°21 : Histogramme des valeurs d'IC₅₀ de le BHT et de l'extrait de *Berberis vulgaris* en µg/ml.....39

Liste des tableaux

Tableau n°01 : Listes des plantes médicinales utilisées à Bouira (Algérie).....	30
Tableau n°02: Quelques caractéristiques de l'extrait préparé.....	34
Tableau n°03 : Résultat d'analyse phytochimique.....	35
Tableau n°04 : IC ₅₀ de l'extrait de <i>Berberis vulgaris</i>	37

Résumé

Les substances naturelles portées par les végétaux tels que les métabolites secondaires, sont illustrées dans plusieurs domaines et même en thérapie. Dans ce contexte, nous avons recherché les effets biologiques de *Berberis vulgaris*, une plante utilisée dans la région de Bouira pour traiter le diabète sucré et beaucoup plus le cancer. Dans la première partie de notre travail expérimentale on a réalisé une enquête ethnobotanique dans des régions de la wilaya de Bouira. Au niveau de laboratoire de biochimie, on a réalisé en suite une extraction aqueuse sur la plante étudiée, puis une analyse quantitative a été effectuée pour doser les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins condensés. L'activité antioxydante de l'extrait a été évaluée par la méthode de piégeage du radical libre DPPH. Les résultats obtenus ont montré une teneur de 104.15 µg GAE/mg de polyphénols totaux, 23.75 µg QEQ/mg de flavonoïdes et une teneur de 94.25 µg CEQ/mg pour les tanins condensés. Les résultats du test DPPH réaliser sur notre extrait a montré une activité élevée avec un IC₅₀ de 17µg/ml et une activité antiradicalaire de (80%). Les résultats que nous avons obtenus dans notre expérience, montre la richesse de *Berberis vulgaris* en substances chimiques et qui pourraient représenter une nouvelle source potentielle de molécules bioactives en thérapeutique.

Les mots clés : *Berberis vulgaris*, extraction aqueuse, activité antioxydante, polyphénols, flavonoïdes, tanins condensés.

Abstract

The natural substances carried by plants, such as secondary metabolites, are illustrated in several fields and even in therapy. In this context, we researched the biological effects of *Berberis vulgaris*, a plant used in the Bouira region to treat diabetes mellitus and much more cancer. In the first part of our experimental work, we carried out an ethnobotanical survey in regions of the wilaya of Bouira. At the biochemical laboratory level, an aqueous extraction was then carried out on the studied plant, and then a quantitative analysis was carried out to measure the polyphenols, the flavonoids and the condensed tannins. In the first part of our experimental work we carried out an ethnobotanical survey in areas of the wilaya of Bouira, with the aim of improving our knowledge on the importance of medicinal plants in the daily life of the population. After statistical analyses it was chosen to make an aqueous extraction on the plant of *Berberis vulgaris*, then a quantitative analysis of polyphenols, flavonoids tannins were made. The antioxidant activity of the extract was evaluated by the DPPH free radical capture method. The results obtained showed a total polyphenols content of 104.15 µg GAE/mg, 23.75 µg QEQ/mg flavonoids and a content of 94.25 µg CEQ/mg for condensed tannins. The results of the DPPH test carried out on our extract showed a high activity with an IC₅₀ of 17µg / ml and an anti-free radical activity of (80%). The results we obtained in our experiment show the richness of *Berberis vulgaris* in chemical substances which could represent a new potential source of bioactive molecules in therapy.

Keywords: *Berberis vulgaris*, aqueous extraction, antioxidant activity, polyphenols, flavonoids, condensed tannins.

ملخص

يتم توضيح المواد الطبيعية التي تحملها النباتات، مثل المستقبلات الثانوية، في عدة مجالات وحتى في العلاج. في هذا السياق، بحثنا في الآثار البيولوجية لـ *Berberis vulgaris*، وهو نبات يستخدم في منطقة البويرة لعلاج مرض السكري و السرطان. في الجزء الأول من عملنا التجريبي، أجرينا مسحاً عرقياً نباتياً في مناطق من ولاية البويرة، على مستوى المختبر البيوكيميائي، تم بعد ذلك إجراء استخلاص مائي من النبات المدروس، ثم تم إجراء تحليل كمي لقياس البوليفينول والفلافونويد والعصم المكثف. تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة في المستخلص بطريقة إزالة الجذور الحرة DPPH. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها محتوى 104.15 ميكروغرام معادل حمض الغاليك / ملغ من البوليفينول الكلي، 23.75 ميكروغرام معادل الكرسيتين / ملغ من الفلافونويد ومحتوى 94.25 ميكروغرام الكاتشين / ملغ للعصم المكثف. أظهرت نتائج اختبار DPPH التي أجريت على مستخلصنا نشاطاً عالياً مع تركيز IC₅₀ بنسبة 17 ميكروغرام / مل ونشاط مضاد للجذور الحرة بنسبة (80%). تظهر النتائج التي تم الحصول عليها في هذه التجربة ثراء البربريس الشائع بالمواد الكيميائية التي يمكن أن تمثل مصدرًا محتملاً جديداً للجزيئات النشطة بيولوجياً في العلاج.

الكلمات المفتاحية: *Berberis vulgaris*، مستخلص مائي، نشاط مضاد للأكسدة، بوليفينول، فلافونويد، تانينات مكثفة.

Table de matière

Remerciements

Dédicaces

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale.....01

1ère partie : Synthèse bibliographique

Chapitre 1 : Le stress oxydatif, l'activité antioxydant et les métabolites secondaires

1. Stress oxydatif.....	03
1.1. Introduction.....	03
1.2. Définition du stress oxydatif.....	03
1.3. Origine du stress oxydatif.....	04
2. Radicaux libres.....	04
2.1. Définition.....	04
2.2. Nature des radicaux libres.....	04
3. Les antioxydants.....	05
3.1. Définition.....	05
3.2. Antioxydants enzymatiques.....	05
3.3. Antioxydants non enzymatiques.....	06
4. Les métabolites secondaires.....	06
4.1. Introduction.....	06
4.2. Les composés phénoliques.....	07
4.2.1. Acide phénolique.....	07
4.2.2. Flavonoïdes.....	08
4.2.3. Tanins.....	08
4.2.4. Quinones.....	08
4.2.5. Coumarines.....	09
4.3. Les terpénoïdes et stéroïdes.....	09
4.4. Les caroténoïdes.....	10
4.5. Les alcaloïdes.....	10

Chapitre 2: Plante étudiée

I. <i>Berberis vulgaris</i>	12
1. Taxonomie.....	12
2. Description botanique.....	13
3. Répartition géographique.....	13
4. Composition chimique.....	14
5. Propriétés biologiques.....	15
5.1. Activité antioxydante.....	15
6. Intérêt et usage traditionnelle.....	16
7. Travaux antérieurs sur <i>Berberis vulgaris</i>	16
8. Berberine.....	17

2ème partie : Partie expérimentale

1) Description et choix des localités de l'enquête.....	20
➤ Etude ethnobotanique.....	20
2) Etude phytochimique.....	21
1. Matériel végétal.....	21
2. Préparation de l'extrait aqueux.....	21
3. Dosage des polyphénols totaux.....	22
4. Dosage des flavonoïdes.....	24
5. Dosage des tanins condensés.....	25
3) Activité antioxydante.....	26
1. Piégeage du radical libre DPPH.....	26
2. Expression des résultats.....	28
Résultats et discussion	29
1. Etude ethnobotanique.....	29
2. Etude phytochimique.....	35
2.1 Caractérisation de l'extrait.....	35
2.2. Tests phytochimiques.....	36
3. Etude de l'activité antioxydante.....	37

Conclusion	41
Références bibliographiques.....	42
Annexes.....	49

Introduction générale

La médecine par les plantes, au bien la phytothérapie, est considérée comme la plus ancienne façon au monde de se soigner, on la retrouve dans toutes les civilisations. L'usage des simples pour remédier à un mal remonte à l'aube de l'humanité. Il apparaît que l'homme a compris très tôt tout ce que le monde végétal pouvait lui apporter, non seulement pour se nourrir et se vêtir mais aussi pour se soigner ou se concilier les forces de la nature (Sylvie, 2015).

Selon certains auteurs, les composés d'origine naturelle présentent l'avantage d'une grande variété de structures chimiques et ils ont également une très large gamme d'activités biologiques (Bérubé-Gagnon, 2006).

Les propriétés antimicrobiennes des plantes aromatiques et médicinales sont connues depuis l'antiquité. Cependant, ce n'est qu'au début du 20ème siècle que les scientifiques commencent à s'y intéresser (Yano et *al.*, 2006).

Récemment, l'attention des gens s'est portée sur les herbes et les épices comme source d'antioxydants, qui peuvent être utilisés pour prévenir les effets du stress oxydatif (Mata et *al.*, 2007).

La recherche de nouvelles molécules pharmacologiquement actives par criblage de sources naturelles a conduit à la découverte d'un grand nombre de médicaments utiles, qui ont commencé à jouer un rôle important dans le traitement de nombreuses maladies humaines (Belaidi, 2012).

En effet, sur les 300 000 espèces végétales recensées sur la planète, plus de 200 000 espèces vivent dans les pays tropicaux d'Afrique ont des vertus médicinales (Millogo et *al.*, 2005). A l'image des autres pays de monde, les plantes en Algérie adoptent une place importante en médecine traditionnelle, et la médecine traditionnelle elle-même est largement utilisée dans divers domaines de la santé (Ben Merabet, 1982).

Le travail entrepris dans ce mémoire s'inscrit dans le cadre de la valorisation de *Berberis vulgaris* de la famille des *Berberidaceae*, une plante utilisée dans plusieurs régions du monde.

Plusieurs études ont été menées sur ses activités biologiques et plus spécifiquement sur berberine, un alcaloïde isoquinoléinique, considéré comme molécule active pour diverses

maladies dont les maladies infectieuses, le diabète sucré, et le cancer (Tan, 2006 ; Kosalec, 2009 ; Yin, 2012).

Le travail expérimental réalisé dans ce mémoire consiste en premier lieu de réaliser une enquête ethnobotanique dans des différentes régions à la wilaya de Bouira, et en deuxième lieu à faire une extraction aqueuse à partir des racines de *Berberis vulgaris*.

L'extrait qui résulte va subir en suite à une étude de la teneur en composés phénoliques par dosage spectrophotométrique, avec un test DPPH pour évaluer le pouvoir antioxydant de cette plante.

Synthèse bibliographique

Chapitre I

Chapitre 1 : Le stress oxydatif, l'activité antioxydant et les métabolites secondaires

1. Stress oxydatif

1.1.Introduction

La source principale des Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO ou ROS en anglais pour ReactiveOxygeneSpecies) dans les cellules des mammifères est d'origine enzymatique. La NADPH oxydase, les peroxysomes, la xanthine oxydase, les cydooxgénases et les lipoxygénases sont parmi les sources endogènes d'ERO les plus importantes. Les mitochondries, éléments nécessaires au mouvement cellulaire puisqu'elles métabolisent le dioxygène, produisent également en permanence des ERO. Ces ERO sont particulièrement réactives et sont dotées de propriétés oxydantes qui les amènent à réagir avec toute une série de substrats biologiques (lipides, protéines, ADN...).Au niveau moléculaire, les ERO peuvent aussi agir comme messagers secondaires et activer différents facteurs ou gènes impliqués dans le développement de divers pathologies. Les ERO sont également générées sous l'effet de stress environnementaux comme la pollution, l'absorption d'alcool ou de médicaments, l'exposition prolongée au soleil, l'effort intense et prolongé ainsi que le tabagisme.

Toutes ces situations provoquent une surproduction d'ERO dans notre organisme.

Pour se protéger contre les effets toxiques de l'oxygène, l'organisme a développé des systèmes de défense qui permettent de contrôler et parfois réguler la production des vitaminesA, C et E, etc.), des oligoéléments (cuivre, zinc, sélénium, etc.) ainsi que des protéines (superoxydedismutase, catalase, glutathion transférase, etc.) qui régulent la concentration de ERO (Fiorucci, 2006).

1.2.Stress oxydatif

La perturbation de l'équilibre endogène entre les radicaux libres et les antioxydants à court terme provoque des effets néfastes en raison d'une défense antioxydant défectueuse ou d'un état pro-oxydatif, appelé stress oxydatif (Mezouar, 2012).

Les facteurs pro-oxydants sont tous ceux qui contribuent à une formation radicale libre ou à d'autres réactifs de composés d'oxygène. L'objectif principal de l'équilibre oxydatif est de réduire les facteurs prooxydants et l'objectif secondaire est une contribution adéquate des antioxydants(Biesalski,1997).

1.3. Origine de stress oxydatif

La découverte d'espèces chimiques radicalaires présentes normalement dans l'organisme a bouleversé notre compréhension des mécanismes biologiques. Ces radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques car ils sont utiles pour l'organisme à dose raisonnable ; mais la production peut devenir excessive ou résulter de phénomènes toxiques exogènes et l'organisme va devoir se protéger de ces excès par différents systèmes antioxydants (Favier, 2003).

Normalement, la production des radicaux libres est permanente mais faible. Une telle production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense, lesquels sont adaptatifs par rapport au niveau des radicaux présents (Favier, 2006).

Dans ces circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/prooxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé « stress oxydant ». Le stress oxydant peut résulter d'une défaillance des systèmes antioxydants protégeant notre organisme d'un effet néfaste des radicaux libres. Ces antioxydants sont de nature diverse et agissent en synergie soit en se sacrifiant pour piéger l'électron célibataire d'un radical libre et le neutraliser en le délocalisant soit en réduisant enzymatiquement les espèces réactives de l'oxygène (Favier, 2006).

2. Radicaux libres

2.1. Définition

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules portant un électron non apparié. Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se ré-apparier, déstabilisant ainsi d'autres molécules. Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour d'autres radicaux libres et initient ainsi une réaction en chaîne (Dacosta et Baenziger, 2003).

2.2. Nature des radicaux libre

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle

particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux primaires. Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires, se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule (Favier., 2003).

Il ne faut pas penser que tous les radicaux d'oxygène sont extrêmement réactifs, cette réactivité étant très variable selon la nature du radical. Ainsi parmi les radicaux formés chez les êtres vivants, l'anion radicalaire superoxyde comme le monoxyde d'azote ne sont pas très réactifs, mais constituent des précurseurs d'autres espèces plus réactives (Favier, 2003).

3. Les antioxydants

3.1.Définition

Notre organisme est équipé d'un système complexe de défenses antioxydants enzymatiques et non enzymatiques situées dans des compartiments intra-et extracellulaires (Berger, 2003).

Un antioxydant est toute substance qui, lorsqu'elle est présente à de faibles concentrations relatives à celles d'un substrat oxydable, retarde ou inhibe de manière significative l'oxydation de ce substrat (Halliwell et Gutteridge, 1990).

Les antioxydants agissent de nombreuses façons. Leur mécanisme d'action peut être direct ou indirect, en tant que partie de la structure d'enzymes et/ou cofacteurs d'enzymes antioxydants, Les défenses antioxydants de notre organisme peuvent se diviser en deux catégories : enzymatiques et non enzymatiques.

3.2.Antioxydant enzymatique

L'un des systèmes de défense antioxydants enzymatiques est constitué de trois enzymes : le superoxyde dismutase SOD, la glutathion peroxydase GSH-Px et la catalase. Ces enzymes ont une action complémentaire sur la cascade radicalaire au niveau du superoxyde et du peroxyde d'hydrogène, conduisant finalement à la formation d'eau et d'oxygène moléculaire (Mezouar, 2012).

Il existe de nombreuses autres enzymes antioxydants telles que les peroxyredoxines, l'hème oxygénase, le glutathion transférase, les thiorédoxines réductases ou les thiorédoxines peroxydases. La plupart de ces enzymes, de même que les enzymes de réparation des

dommages oxydants utilisent un donneur équivalent réducteur, le NADPH, qui constitue avec le glutathion les plaques tournantes de la défense antioxydante (Favier, 2003).

3.3. Antioxydant non enzymatique

Ce groupe d'antioxydants est composé de plusieurs composés capables de réagir directement ou indirectement avec les ERO. Le mécanisme indirect comprend une transition qui empêche la production du radical hydroxyle, hautement toxique (Kohen et Nyska, 2002).

Certains composés antioxydants, tels que les vitamines E (tocophérol), C (acide ascorbique), Q (ubiquinone), ou les caroténoïdes apportés par les aliments, agissent en piégeant les radicaux et en captant l'électron célibataire, les transformant en molécules ou ions stables. La vitamine piégeuse va devenir un radical, puis sera soit détruite, soit régénérée par un autre système. Par conséquent, la vitamine E est régénérée par la vitamine C qui est elle-même régénérée par des enzymes, les ascorbates réductases. Ce type d'antioxydant s'appelle "Scavenger" pour les Anglo-saxons. De très nombreux composés alimentaires peuvent également avoir ce comportement : polyphénols, alcaloïdes Il existe de plus des composés endogènes synthétisés par les cellules et jouant le même rôle ; le plus important est le glutathion réduit qui protège non seulement contre les radicaux oxygénés, mais également contre les peroxydes ou le NO (Favier, 2003, Flora, 2009).

4. Les métabolites secondaires

4.1. Introduction

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires classiques (glucides, protéines, lipides, acides nucléiques), ils accumulent fréquemment des métabolites dits secondaires dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais qui représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire (Macheix, 2005). Sur la base de leurs origines biosynthétiques, les métabolites secondaires des plantes peuvent être divisés en plusieurs groupes : les composés polyphénoliques, les terpénoïdes et les stéroïdes, les caroténoïdes et les alcaloïdes (Koné, 2018).

4.2. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques regroupent plus de 8 000 molécules en dix catégories chimiques, qui ont toutes un point commun : il y a au moins un cycle aromatique à 6 atomes de carbone dans leur structure, qui est elle-même un nombre variable de fonctions hydroxyles porteurs OH.

Les polyphénols peuvent être divisés en différents groupes en fonction du nombre de cycles phénoliques et des éléments structurels qui lient leurs cycles les uns aux autres (Mezouar, 2012).

4.2.1. Acide phénolique

Les acides phénols, ou les acides phénoliques, ont une fonction acide et plusieurs fonctions phénols. Ils sont incolores et rare dans la nature. Ils se divisent en deux catégories :

Les acides phénols dérivés de l'acide benzoïque sont très courants, que se soit sous forme libre ou une combinaison d'ester ou d'hétérosides. Exemple : l'acide gallique qui est un élément principal de la structure des tanins hydrolysables.

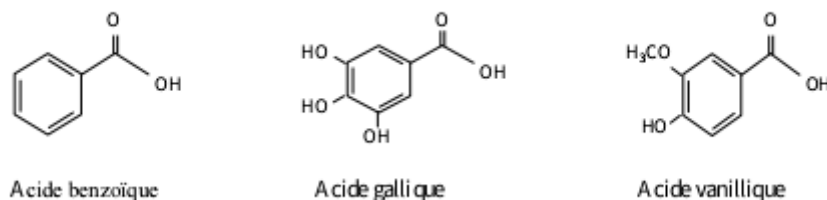


Figure 01 : exemple de quelques acides phénols de la série benzoïque (Koné, 2018).

Les acides phénols dérivés de l'acide cinnamique sont généralement estérifiés. Les plus courants sont l'acide cinnamique, l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide ρ -coumarique et l'acide sinaptique (Akroum, 2011).

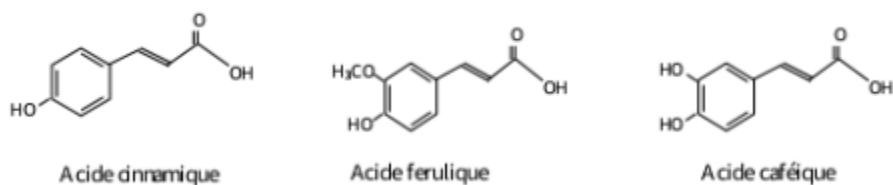


Figure 02 : exemple de quelques acides phénols de la série cinnamique (Koné, 2018).

4.2.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés polyphénols contenant quinze atomes de carbone et deux cycles aromatiques sont reliés par trois ponts de carbone. Ce sont le plus grand nombre de composés phénoliques que l'on trouve dans tout le règne végétal. Ils existent en fortes concentrations dans l'épiderme des feuilles et des fruits et jouent des rôles importants et divers en tant que métabolites secondaires. Chez les plantes, les flavonoïdes sont impliqués dans divers processus, tels que la protection UV, la pigmentation, les stimuli de fixation de l'azote et la résistance aux maladies. Les principales sous-classes de flavonoïdes sont les flavonoïdes, les flavonols, les flavan-3-ols, les isoflavones, les flavanones et les anthocyanes (Crozier, 2006).

4.2.3. Les tanins

Les tanins sont des oligomères hydrosolubles qui sont riches en groupes phénoliques et peuvent se lier ou précipiter des protéines hydrosolubles. Les tanins sont communs aux plantes vasculaires, se trouvent principalement dans les tissus ligneux, mais peuvent également être trouvés dans les feuilles, les fleurs ou les graines. Les tissus végétaux riches en tanins ont un goût très amer et la plupart des animaux évitent de les manger. Les tanins peuvent être divisés en deux catégories: les tanins condensés et les tanins hydrolysables. Les tanins condensés sont biosynthétisés par condensation de flavanols pour former un réseau polymère. Les tanins hydrolysables sont des esters de sucre (généralement du glucose) et d'un ou plusieurs acides trihydroxybenzène carboxyliques (acide gallique). La réaction avec les protéines est utilisée dans l'industrie pour transformer les peaux d'animaux en cuir (Koné, 2018).

4.2.4. Les quinones

Les quinones sont une série de diènes plutôt que des composés aromatiques avec un cycle benzène. Les deux atomes d'hydrogène sur le cycle benzène sont remplacés par deux atomes d'oxygène pour former deux liaisons carbonyle. Les quinones sont des composés phénoliques qui forment généralement des pigments fortement colorés. Couvrent tout le visible spectre. Ils sont situés dans la zone intérieure de la plante. Ils jouent un rôle important dans la respiration des plantes (Koné, 2018).

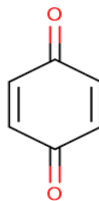


Figure 03 : structure de quinones (Koné, 2018).

4.2.5. Les coumarines

Différents types de coumarines se trouvent dans de nombreuses espèces végétales, et ils ont des propriétés très différentes (Botrel, 2001). La coumarine est également un dérivé de C6-C3, qui appartient aux composés connus de la benzo- α -pyrone, et est substituée en C7 par un hydroxyle. Elles se trouvent dans la nature à l'état libre ou bien combiné avec les sucres. Elles sont responsables de l'odeur caractéristique de foin (Himiani, 2018).

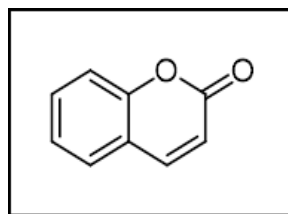


Figure 04 : Structure de coumarine (Cowan, 1999).

4.3. Les terpénoïdes et stéroïdes

Les terpénoïdes représentent la plus grande classe de métabolites secondaires et ne contiennent généralement ni azote ni soufre dans leurs structures. De nombreux terpénoïdes servent de composés de défense contre les microbes et les herbivores et / ou sont des molécules signal pour attirer les insectes pollinisateurs, les animaux disperseurs de fruits ou les prédateurs qui peut détruire les insectes herbivores. En conséquence, de nombreux terpénoïdes ont des activités pharmacologiques prononcées et sont donc intéressants pour la médecine et biotechnologie. La première partie de la biosynthèse est la génération d'une unité C5, telle sous forme de diphosphate d'isopentényle (IPP) ou de diphosphate dediméthylallyle (DMAPP) (Wink, 2010).

Les stéroïdes sont dérivés de triterpènes tétracycliques et possèdent un squelette cyclopentaperhydrophénanthrène. La disponibilité, la cristallinité et la conformation bien définie des stéroïdes signifient qu'ils sont devenus des substrats appropriés pour étudier l'influence des facteurs stériques sur les taux de réaction et les mécanismes. Beaucoup de

stérols se produisent sous forme de glycosides caractérisés par les saponines stéroïdiens. Ceux-ci sont responsables de la formation de mousse produite par de nombreuses plantes.

Un certain nombre de stéroïdes végétaux possèdent une activité pharmacologique intéressante. Il s'agit notamment des glycosides digitaliques (cardénolides) de la digitale *Digitalis lanata*. Ceux-ci sont utilisés dans le traitement de l'insuffisance cardiaque (Hanson, 2003).

4.4. Les caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments rouges ou jaunes que l'on retrouve dans de nombreuses plantes. Ainsi, le β -carotène offre la coloration rouge de carottes et le lycopène est le pigment rouge foncé des tomates. Les caroténoïdes sont importants en tant que précurseurs de la vitamine A, qui joue un rôle central dans la vision. Ils sont de bons antioxydants et contribuent à des effets bénéfiques à de nombreux aliments (Hanson, 2003).

4.5. Les alcaloïdes

Parmi les premiers produits naturels isolés de plantes médicinales sont les alcaloïdes. Quand ils ont d'abord été obtenus à partir de la matière végétale durant les premières années du 19^{ème} siècle, il a été constaté qu'ils contiennent des bases azotées qui forment des sels avec les acides. Le nom d'alcaloïde date du pharmacien allemand Meissner. Ils sont chimiquement des matières organiques composés de carbone, d'hydrogène, d'azote et d'oxygène (Hanson, 2003).

Les alcaloïdes sont un groupe de molécules avec une occurrence relativement importante dans la nature autour du globe. Ce sont des produits chimiques et des biomolécules très divers, mais ce sont tous des composés secondaires et ils sont dérivés d'acides aminés ou du processus de transamination. Les alcaloïdes sont classés selon l'acide aminé qui fournit leur atome d'azote et une partie de leur squelette. Alcaloïdes similaires peuvent avoir des voies de biosynthèse et des bioimpacts très différents. Les alcaloïdes sont dérivés de la l-lysine, de la l-ornithine, de la l-tyrosine, du l-tryptophane, de la l-histidine, L-phénylalanine, acide nicotinique, acide anthranilique ou acétate. Le terpénoïde, stéroïde et les alcaloïdes puriques sont également importants. Les alcaloïdes sont également présents dans le règne animal. Contrairement aux plantes, la source de ces molécules dans le corps d'un animal peut être endogène ou exogène. Les alcaloïdes sont des molécules participant à la fois au

producteur et les chaînes de consommation dans la nature. Ils sont vitaux pour se nourrir et apprécient les portions, agressivité et défense de l'espèce (Tadeusz Aniszewski, 2006).

Du point de vue biologique, l'alcaloïde est tout composé chimique biologiquement actif et hétérocyclique qui contient de l'azote et peut avoir une certaine activité pharmacologique et dans de nombreux cas, un usage médicinal ou écologique (Tadeusz Aniszewski, 2006).

Les chimistes soulignent que les alcaloïdes sont n'importe quel groupe d'azote hétérocyclique complexe composés, qui ont une forte activité physiologique, sont souvent toxiques et retiennent leurs propres propriétés chimiques de base (Tadeusz Aniszewski, 2006). On distingue trois types d'alcaloïdes :

- Alcaloïdes vrais : d'après certains auteurs, ils sont issus du seul règne végétal. Ils existent à l'état de sels et l'on peut ajouter qu'ils sont biosynthétiquement formés à partir d'un acide aminé.
- Pseudo-alcaloïdes : ils représentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas dérivés des acides aminés.
- Proto-alcaloïdes : se sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique ; ils ont une réaction basique et sont élaborés in vivo à partir d'acides aminés (Mezouar, 2012).

Chapitre II

Chapitre II : plante étudiée

Les plantes médicinales ont servi à l'homme pour le guérir contre les maladies qui l'affecte, elles étaient l'une des sources de guérison des maladies agissant par l'ensemble de ses composants « principes actifs » (Kouadri Boudjelthia, 2019).

I. *Berberis vulgaris*

Le genre *Berberis* est un membre d'une grande variété des plantes appartenant à la famille des *Berberaceae* (plantes dicotylédones). Plus de 600 différentes espèces de ce genre se trouvent principalement dans les zones de l'hémisphère nord (régions tempérées et subtropicales).

Il comprend l'épine-vinette et des espèces ornementales au feuillage rouge utilisées pour la réalisation de haies résistantes (épineuses). L'épine vinette a longtemps été systématiquement détruite car elle est un réservoir naturel de la rouille du blé (un champignon pathogène des céréales).

Ce sont des arbustes aux tissus colorés en jaune par la berbérine ou des plantes plus ou moins herbacées, à feuilles fréquemment transformées en épines (SaeedArayne et *al.*, 2007 ; Azzi et *al.*, 2012).

1. Taxonomie

Règne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Ranunculales

Famille : Berberidaceae

Genre : *Berberis*

Nom binomial : *Berberis vulgaris*

Noms communs : Epine-vinette, Barberry, EuropeanBarberry, *Berberis*, Ghriss (SaeedArayne et *al.*, 2007).

2. Description botanique

Berberis vulgaris apostrophé localement Ghriss, est un arbuste de 2 à 3 mètres de hauteur. A tige ramifiée, lisse et rainurée. Les feuilles sont alternées et épineux en revanche les secondaires sont en fascicules à l'aisselle de ces épines et sont simples, ovales, se rétrécissant à la base en un pétiole court (Kouadri Boudjelthia et *al.*, 2017).

Les fleurs sont disposées en grappes pendantes, elles sont de petite taille, jaune pâle à la stigmatisation large. Les pétales sont entiers, les étamines irritables, jaillissant violemment contre la stigmatisation quand on les touche (Kouadri Boudjelthia et *al.*, 2017).

Le fruit de *Berberis* a de longues baies de couleur écarlate. Les baies sont oblongues, légèrement courbés, qui deviennent rouges à la maturation (Kouadri Boudjelthia et *al.*, 2017).

Les racines sont caduques et sont de couleur grise ou brune avec une écorce à un goût amer et une odeur légère. La floraison apparaît entre Mai et Juin, et la récolte des fruits se fait en Automne (Chevallier, 2001 ; SaeedArayne et *al.*, 2007 ; Schauenberg, 2005).



Figure 05 : *Berberis vulgaris* avant la maturation des fruits.

3. Répartition géographique

La plante est répandue sur les terrains calcaires, et pentes rocailleuses, elle pousse préférentiellement dans les sols acides mais également dans les sols neutres et basiques (alcalines). Du même elle est répandue dans les zones mi- ombres ou sans ombre où nécessitant un sol sec ou humide (SaeedArayne et *al.*, 2007 ;Schawenberg, 2005).

Répartissant dans la plupart des régions d'Europe Centrale et d'Europe du Sud et dans les régions du NordEst des États-Unis, l'Afrique du Nord et l'Asie tempérée (Chevallier, 2001 ; SaeedArayne et *al.*, 2007).

En Algérie, *Berberis* se trouve sur les hautes montagnes, au-dessus de 1500 m, à Djurdjura-Babors, Atlas de Blida, Aurès, montagnes du Hodna et Atlas saharien (Kouadri Boudjelthia et *al.*, 2017).

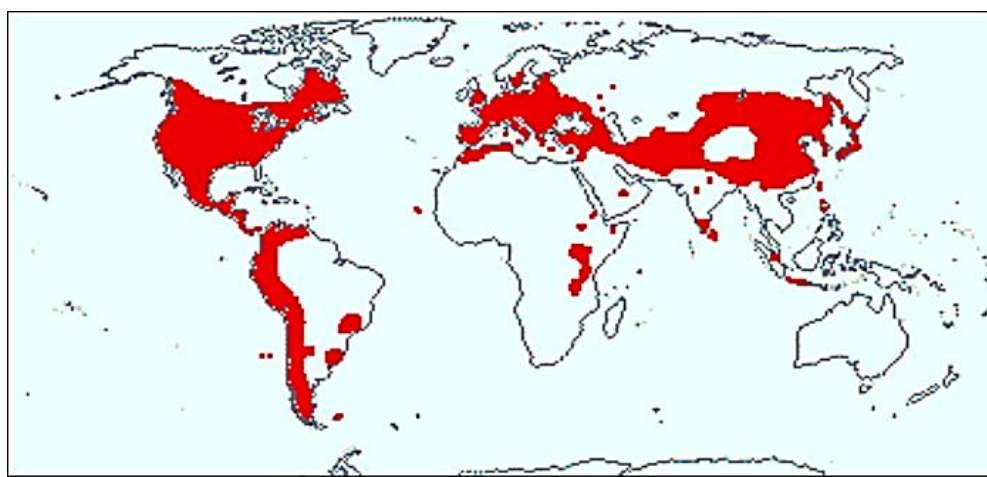


Figure 06 : répartition géographique de *Berberis vulgaris* (Kouadri Boudjelthia et *al.*, 2017).

4. Compositions chimiques

La tige, l'écorce de racine, et les fruits de *Berberis vulgaris* contiennent des alcaloïdes isoquinoléiniques (comme exemple, berberine), qui sont les principaux principes actifs de la plante (Dounia, 2012). Les racines sont riches en berberine (1.424%) par rapport aux autres parties de la plante (Kosalec et *al.*, 2009).

Berberine, est l'alcaloïde qui a reçu le plus de recherche et la plus large renommée comme le composant actif de *Berberis*. C'est un alcaloïde cristallin jaune et amer. Autres composants sont l'oxycanthine, et berbamine, un peu de tanin, de cire, de résine, de graisse, de l'albumine, de la gomme et de l'amidon.

Les feuilles comprennent une fraction de polysaccharide faible mais variée, ce qui donne un α -glucane, un β -xylane, et deux acides galacturoniques contenant le glucoxylane. Les fleurs contiennent du sucre et une huile essentielle tandis que l'acide malique est présent dans les baies (SaeedArayne et *al.*, 2007).

D'autres molécules sont isolées des fruits, dont le lupéol, un terpénoïde, l'acide oléanolique, le stigmastérol, le stigmastérol glucoside (Saied et Begum, 2004), l'acide ascorbique, l'acide malique et les tanins (Hanachi et Golkho, 2009).

5. Propriétés biologiques

Plusieurs recherches ont mis en évidence les différents effets pharmacologiques et thérapeutiques de *Berberis vulgaris* et de ses alcaloïdes isoquinoléiniques (en particulier berberine). Les études menées sur la composition chimique de la plante montrent que les constituants les plus importants de cette plante sont les alcaloïdes isoquinoléiniques tels que berberine, berbamine et palmatine, dont la berbérine représente un des alcaloïdes naturels les plus étudiés pour ses effets vis-à-vis de plusieurs maladies tel que le cancer et le diabète sucré (Imanshahidi et Hosseinzadeh, 2008 ; Wang et al., 2012 ; Yin et al., 2012).

Les racines de *Berberis vulgaris* ont été utilisées en médecine traditionnelle européenne pour traiter les troubles rhumatismaux et inflammatoires. Ceci est confirmé par l'étude d'Ivanovska et Philipov en 1996. Les chercheurs ont testé l'extrait éthanolique à 95 % et trois extraits d'alcaloïdes purifiés à partir de l'extrait éthanolique : Bv1, Bv2 et Bv3. L'extrait éthanolique a montré la meilleure activité dans un modèle d'inflammation chronique chez des souris mâles. En plus, les fractions Bv2, Bv3 et berbérine ont supprimé la réaction de type hypersensibilité retardée.

5.1. Activité anti-oxydante

Plusieurs chercheurs sont intéressés à l'activité antioxydante des fruits (Motalleb et al., 2005 ; Hanachi et Golkho, 2009) et des racines, feuilles et brindilles de *Berberis vulgaris* (Zovko Končić et al., 2010). (Motalleb et al en 2005), ont utilisé deux techniques : la décoloration de ² -carotène et le test DPPH pour déterminer le pouvoir antioxydant des extraits aqueux, éthanolique et méthanolique 80 % des fruits.

L'extrait aqueux a montré la meilleure activité dans le piégeage des radicaux libres avec 82.52 % et un IC₅₀ (concentrations effectives pour obtenir 50% de réduction des radicaux libres) de 0.64 mg/ml, et dans le test de décoloration de ² -carotène, l'extrait méthanolique 80 % a montré une activité significative de 60.15 %. (Hanachi et Golkho en 2009), ont obtenu une bonne activité antioxydante avec l'extrait éthanolique 27.26 %, suivi de l'extrait méthanolique 16.80 %, et l'extrait aqueux 6.53 % dans la technique TBA utilisant l'acide Thio barbiturique.

L'étude de (Hanachi et *al.*, 2006) a montré une activité antioxydante de 59.91 % de l'extrait hydrométhanolique des fruits de *Berberis vulgaris* avec la technique de décoloration de ²-carotène. Les auteurs ont obtenu un IC50 de 106 µg/ml au test de DPPH.

Zovko Končić et *al* en 2010, ont étudiés l'activité antioxydante de l'extrait éthanolique 96 % des parties racines, brindilles et feuilles de *Berberis vulgaris*. Les extraits des feuilles ont montré la meilleure activité antioxydante avec un IC50 de 65.09 µg/ml et l'activité antioxydante totale dans le dosage d'acide ²-carotène-linoléique de 89.26 %, suivi des extraits de brindilles et des racines.

6. Intérêt et usage traditionnelle

Dans l'Egypte ancienne, les baies de *Berberis vulgaris*, macérées avec des graines de fenouil *Foeniculum vulgare*, faisaient baisser la fièvre. Dans l'est des Etats-Unis, les Catawbas utilisent la plante pour soigner les ulcères d'estomac (Chevallier, 2001).

Toutes les parties de la plante peuvent être utilisés, et l'écorce de la racine jaune est la source la plus concentrée en principes actifs. Des extraits obtenus à partir des racines ont été utilisés dans la médecine traditionnelle orientale et bulgare pour traiter les rhumatismes et autres affections inflammatoires chroniques (Chevallier, 2001).

C'est une excellente herbe utilisée contre la soif, la nausée, les névralgies périodiques, la fièvre, les vomissements de la grossesse, les ulcères gastriques et duodénaux. Elle est prescrite pour les calculs rénaux, la congestion abdominale et pelvienne et agit comme un stimulant gastro-intestinal. *Berberis* a aussi tendance à dilater les vaisseaux sanguins, ce qui diminue la pression sanguine (Saeed Arayne et *al.*, 2007).

Un thé fait à partir de l'écorce de *Berberis vulgaris* est pris pendant les mois de printemps comme un purificateur de sang. Une forte décoction est utilisée comme une application sur les plaies (Saeed Arayne et *al.*, 2007).

En Algérie, la décoction et l'infusion des racines et feuilles de *Berberis vulgaris* sont utilisées pour traiter le diabète sucré (Meliani et *al.*, 2011 ; Azzi et *al.*, 2012).

7. Travaux antérieurs sur *Berberis vulgaris*

D'après les études ethnobotaniques réalisées par Allali et *al* et Azzi et *al*, *Berberis vulgaris*, appelé communément Ghriss est utilisé par la population locale de Tlemcen, pour traiter le diabète sucré (Allali et *al.*, 2008 ; Azzi et *al.*, 2012).

À l'université Abou Bekr Belkaïd – Tlemcen, trois études ont été réalisées sur cette plante, afin de vérifier ses effets antidiabétiques.

Meliani en 2003 a testé l'effet des extraits aqueux et de saponosides sur la glycémie, la cholestérolémie, la triglycéridémie et le poids corporel, chez des rats Wistar normaux et diabétiques. Les résultats montrent une diminution très significative de la glycémie chez les rats diabétiques traités par injection intrapéritonéale des extraits aqueux et saponosides avec des pourcentages de 78.79 % et 76.03 % respectivement, après trois semaines du traitement, et une amélioration des paramètres lipidiques (Meliani, 2003 ; Meliani et *al.*, 2011).

Merah et Boukenadel en 2007, ont recherché les effets antidiabétiques des alcaloïdes totaux des écorces de racine de *Berberis vulgaris*, un extrait riche en berberine d'après la littérature (Kosalec et *al.*, 2009). L'activité de l'extrait a été testée chez des rats normaux et diabétiques, soumis à l'hyperglycémie provoquée par voie orale. Les alcaloïdes injectés par voie intrapéritonéale à la dose de 60 mg/kg, ont montrés une activité antihyperglycémiant, où la glycémie a diminué de 71.12 % 48 h après l'administration de l'extrait.

Dans une autre étude, l'extrait des saponosides a été testé *in vitro*, sur des cellules d'hépatocytes isolées du foie des rats Wistar. Les résultats montrent une amélioration de la captation du glucose chez les hépatocytes à la concentration de 2 g/l de glucose avec les concentrations de 0.2 et 0.3 mg/ml des saponosides (Mezouar, 2012).

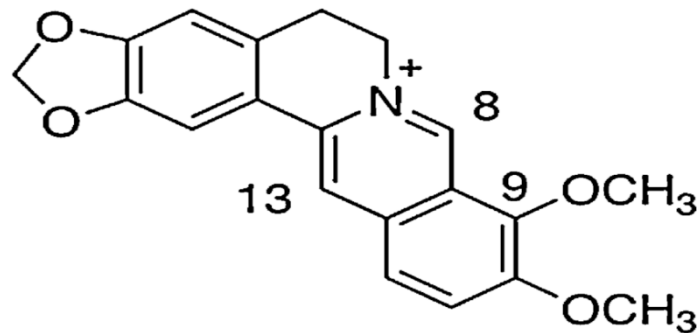
8. Berberine

Berberine est un alcaloïde quaternaire isoquinoléinique (ou un dérivé 5,6 dihydrodibenzo [a, g] quinolizinium) isolé à partir de nombreux types de plantes médicinales telles que *Hydrastis canadensis*, *Berberis aristata*, *Coptis chinensis*, *Coptis rhizome*, *Coptis japonica*, *Phellondendron amurense*, *Phellondendron chinense* Schneid, *Berberis vulgaris* et *Berberis croatica* Horvat (Tillhon et *al.*, 2012 ; Kosalec et *al.*, 2009).

Ce constituant phytochimique peut être trouvé dans la racine, l'écorce de la tige et les feuilles (Kosalec et *al.*, 2009 ; Vuddanda et *al.*, 2010).

Les propriétés pharmacologiques diverses présentées par la berberine indiquent que l'alcaloïde a un potentiel certain en tant que médicament dans un large éventail d'applications cliniques. À cet égard, la structure de la berberine (Fig. 6) représente un squelette d'une importance biologique et un composé naturel attrayant pour l'introduction de diverses

modifications chimiques dans des positions appropriées, à la recherche plus sélective des indications médicales (Tillhon et *al.*, 2012).



Berberine

Figure 07 : structure de berberine (Tillhon et al, 2012).

La molécule se retrouve donc telle quelle dans la nature mais dans le cadre d'un usage clinique, on l'obtient principalement par synthèse chimique totale.

Berberine affiche un large éventail d'effets pharmacologiques, en étant efficace contre la gastro-entérite, les douleurs abdominales et la diarrhée, et ayant des propriétés antimicrobiennes, anti-diabétique et anti-inflammatoire (Imanshahidi et Hosseinzadeh, 2008 ; Kulkarni et Dhir, 2010 ; Vuddanda et *al.*, 2010).

Berberine exerce des effets antimicrobiens en étant un substrat NorA capable de s'accumuler dans les cellules bactériennes et de se lier à la fois à l'ADN simple et double brin, ce qui conduit à la mort des bactéries par lésions de l'ADN (Boberek et *al.*, 2010). Il a une faible activité contre les bactéries Gram-négatives, et une plus forte activité contre les bactéries Gram-positives, y compris *Mycobacterium tuberculosis* et le SARM (*Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline)(Boberek et *al.*, 2010). Il présente également une activité antifongique sur *Aspergillus*, *Penicillium*, *Candida*, et *Cryptococcus* (Imanshahidi et Hosseinzadeh, 2008 ; Vuddanda et *al.*, 2010). Berberine possède aussi une activité antiinflammatoire en inhibant la production des facteurs de nécrose tumorale- α (TNF- α), l'interleukine-6 (IL-6) et des protéines monocytes chimio-attractif 1 (MCP-1) (Remppis et *al.*, 2010).

Un effet bénéfique de la berberine dans le traitement du diabète de type II ont été rapporté (Yin et *al.*, 2008 ; Hui et *al.*, 2009).Berberine a également montré des effets anti-

tumoraux et inhibiteurs sur l'hépatome (Tan et *al.*, 2006), le cancer de l'œsophage (Iizuka et *al.*, 2000), le cancer du côlon (Wu et *al.*, 2012), le cancer du sein (Kim et *al.*, 2008) et le cancer de la prostate (Meeran et *al.*, 2008) par blocage du cycle cellulaire, l'inhibition de la synthèse d'ADN, l'activation des caspases et l'induction de l'apoptose. Il a également été démontré que berberine agit comme un médicament anti-métastatique dans le cancer du poumon chez l'homme par l'intermédiaire de la diminution de la production des urokinases activateur de plasminogène (urokinaseplasminogenactivator) et la matrice métalloprotéinase-2 (Peng et *al.*, 2006).

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

Cette étude expérimentale comporte trois parties : une enquête ethnobotanique dans la wilaya de Bouira, ensuite une extraction du matériel végétal à partir de racines de la plante sélectionnée qui est *Berberis vulgaris*, puis une analyse phytochimique et dosages des polyphénols, des flavonoïdes totaux et des tanins condensés, et enfin une évaluation de l'activité antioxydante de la plante.

I. Description et choix des localités de l'enquête

L'enquête ethnobotanique a été effectuée dans la wilaya de Bouira qui se situe au centre de l'Algérie, elle est limitée au Nord par les deux wilayas de Boumerdes et de Tizi Ouzou, au Sud par la wilaya de M'Sila, à l'Est par les deux wilayas de Béjaïa et de Bordj Bou Arréridj et à l'Ouest par la wilaya de Médéa (Bouabida et *al.*, 2012).

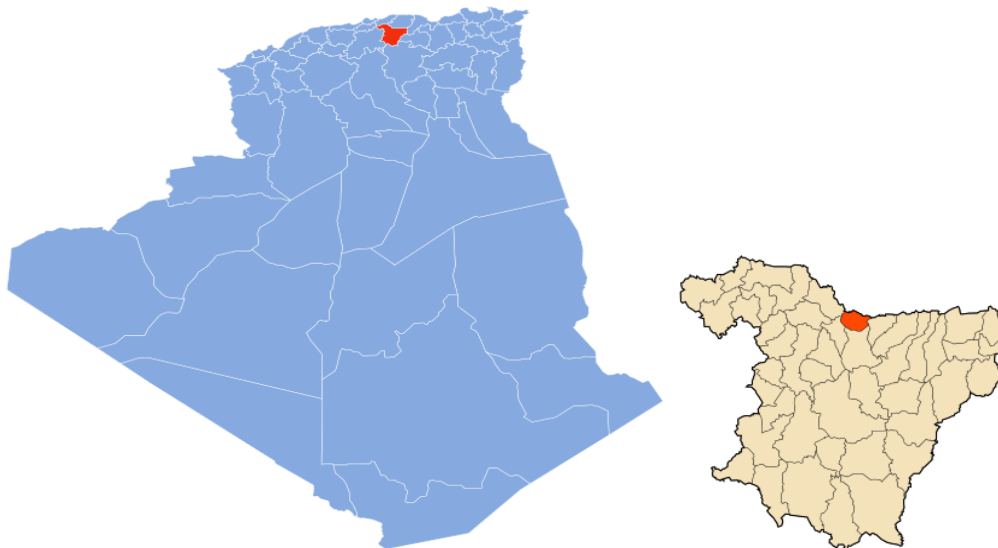


Figure 08 : carte géographique de la wilaya de Bouira (Bouabida et *al.*, 2012).

• Enquête ethnobotanique

L'enquête ethnobotanique sur les plantes médicinales a été réalisée de Janvier à Mars 2021 à l'aide de questionnaire touchant une population de 60 personnes ayant entre 22 et 63 ans (40 hommes et 20 femmes). Les informations sur les utilisations des plantes dans la pharmacopée traditionnelle ont été collectées à l'aide d'un questionnaire semi structuré à travers des conversations avec les gens qui ont la connaissance sur l'usage thérapeutique des plantes et aux vendeurs de plantes médicinales (herboristes). Les informations demandées portent sur les noms locaux de toutes les plantes à usage médicinale, les parties utilisées, les modes de préparations et d'utilisations.

II. Etude phytochimique

1. Matériel végétal

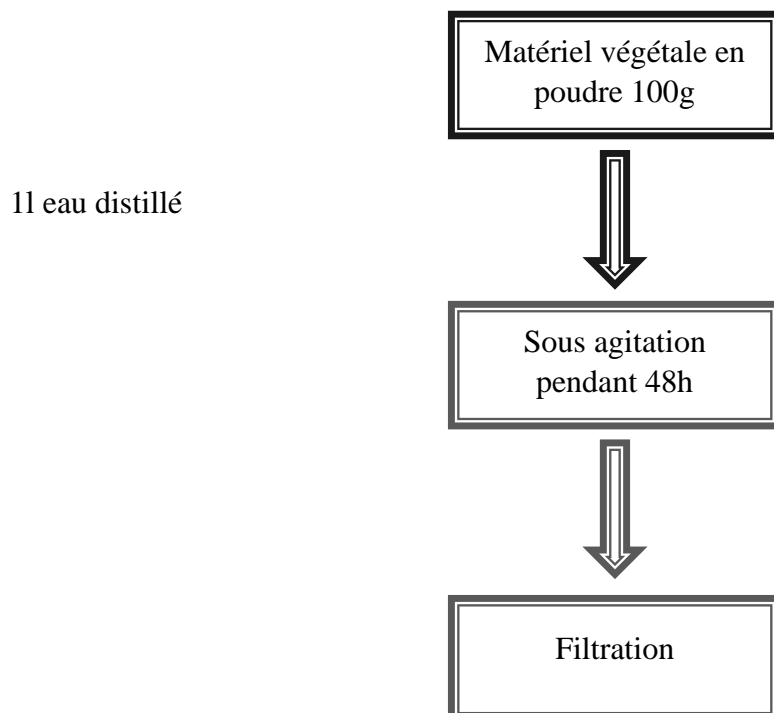
Berberis vulgaris, a été récolter auprès de la région de Ait laaziz – Bouira en mai 2021. Les racines de cette plante ont été découpées, séchées à température ambiante à l’abri de la lumière, ensuite réduite en poudre.



Figure 09 : les racines de *Berberis vulgaris*.

2. Préparation de l’extrait aqueux

100g de poudre a été macérée dans 1l de l’eau distillée sous agitation pendant 48 h, filtré à travers un papier filtre, puis sécher dans une étuve à 45°C. L’extrait obtenu a été conservés à 4°C.



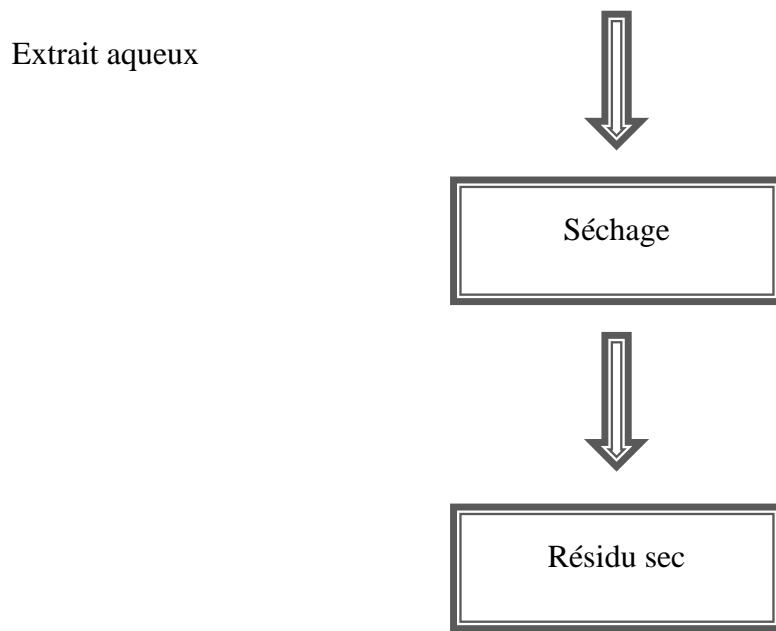


Figure 10 : schéma de l'extraction aqueuse de *Berberis vulgaris*.

- **Calcul de rendement :**

Le rendement en extrait sec a été déterminé par la formule suivante :

$$\text{Rdm\%} = (m/M) * 100$$

m : poids de l'extrait après évaporation.

M : poids de la matière végétale de départ.

3. Dosage des polyphénols totaux

La quantité polyphénols totaux est déterminée par spectrophotométrie, et le réactif de Folin-Ciocalteu est utilisé selon la méthode colorimétrique (Rachedi et *al.*, 2018).

En milieu alcalin, le réactif de Folin-Ciocalteu, oxyde les phénols en ions phénolates et réduit partiellement ses hétéropolyacides, d'où la formation d'un complexe bleu (Daels-rakotoarison, 1999).

• Mode opératoire

Les composés phénoliques totaux sont quantifiés de la manière suivante :

- ✓ Préparation de la solution d'extrait dans l'eau distillé à différentes concentrations ;
- ✓ 100 µl de l'extrait aqueux est mélangé avec 500 µl de réactif Folin-Ciocalteu ;
- ✓ Après incubation pendant 4 minutes, la solution de carbonate de sodium à 75% est ajouté ;
- ✓ Le mélange obtenu est incubé à la température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 2h ;
- ✓ L'absorbance est lue à 765nm contre le blanc ;
- ✓ Un courbe étalon est réalisé en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif à différentes concentrations (Singleton et Rossi, 1965).

Cette quantification est réalisée à partir d'une courbe d'étalonnage représentant les absorbances des différentes concentrations de l'acide gallique considéré comme un standard (25-200 µg/ml), et déterminé par l'équation de type : $y = 0,0034x + 0,1044$ sachant que le coefficient de corrélation est : $R^2 = 0,9972$ (Fig. 11). Les résultats obtenus pour le dosage des polyphénols sont exprimés en µg équivalent acide gallique par milligramme de matière sèche (µg GAE/mg),

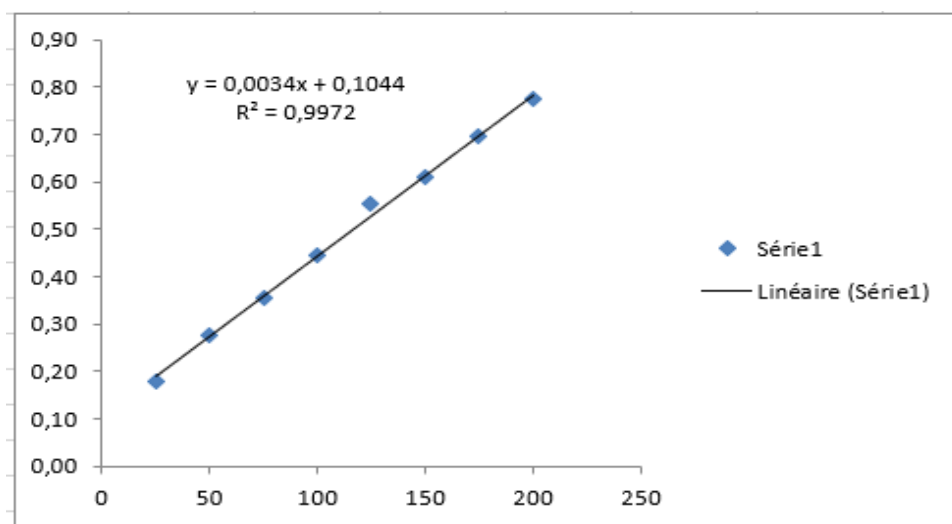


Figure 11 : courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Les résultats sont exprimés en µg équivalent acide gallique par milligramme de la matière végétale sèche (µg GAE /mg). Calculée selon la formule suivante :

$$\text{Quantité de polyphénols} = y-b/a$$

Avec y : la moyenne des DO de l'extrait.

4. Dosage des flavonoïdes totaux

La méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans nos extraits.

- ✓ Préparation de la solution d'extrait dans l'eau distillé à différentes concentrations ;
- ✓ Addition de 500 μl de trichlorure d'aluminium AlCl_3 à 500 μl d'extrait ;
- ✓ Chaque concentration est répétée deux fois ;
- ✓ Préparation en parallèle la gamme de quercétine (standard) à différentes concentrations ;
- ✓ Incubation pendant 30 min à température ambiante, à l'obscurité ;
- ✓ La lecture des absorbances est effectuée à 430 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (Bahorun et *al.*, 1996).

La teneur de flavonoïde de l'extrait a été obtenue à partir de la courbe d'étalonnage représentant les absorbances des différentes concentrations de la quercétine considéré comme un standard (25-200 $\mu\text{g}/\text{ml}$), et déterminé par l'équation de type : $y = 0,0048x$ sachant que le coefficient de corrélation est : $R^2 = 0,997$. Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait (μg QEQ/mg).

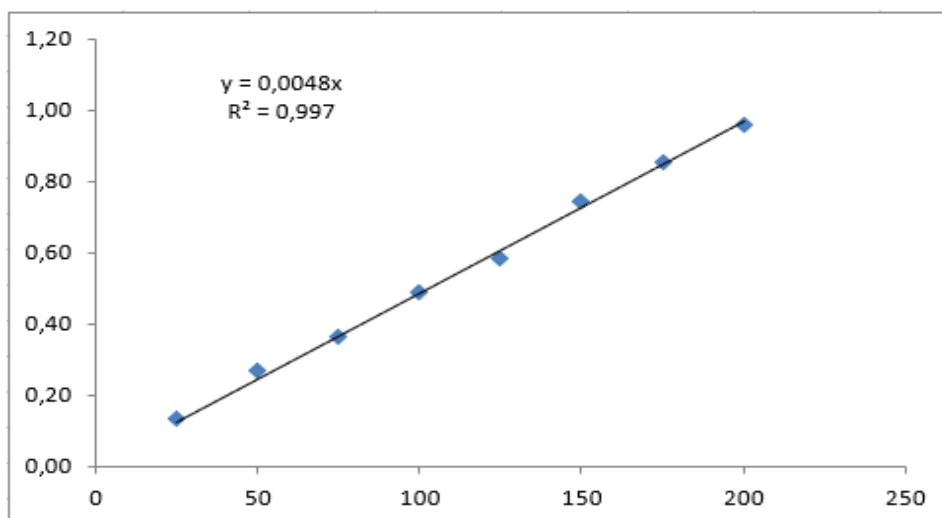


Figure 12 : courbe d'étalonnage de la quercétine.

Les résultats obtenus sont exprimés en μg équivalent quercétine/mg de la matière végétale sèche (μg QEQ / mg). Calculée selon la formule suivante :

$$\text{Quantité de flavonoïdes} = y - b/a$$

Avec y : la moyenne des DO de l'extrait.

5. Dosage des tanins condensés

Les méthodes de dosage à la vanilline basées sur la réaction des TC avec la vanilline, produisant un complexe coloré. Elles sont spécifiques de manière générale aux flavonols. Les points clés de cette méthode concernent : le type de solvant utilisé (eau ou alcool), la nature et la concentration de l'acide (Sulfurique ou chlorhydrique), le temps de réaction, la température (travail basse température) et le type de standards utilisés (Permal, 2017).

- **Mode opératoire**

- ✓ Un volume de 50 μl de chaque extrait est ajouté à 1500 μl de la solution vanilline/méthanol (4 %, m/v).
- ✓ Après, agitation à l'aide d'un vortex, 750 μl d'acide chlorhydrique concentré (HCl) est additionné.
- ✓ Le mélange est laissé réagir à température ambiante pendant 20 min.
- ✓ La lecture de l'absorbance est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre contre un blanc à 550 nm (Sun et *al.*, 1998).

La teneur de tanins condensés de l'extrait a été obtenu à partir de la courbe d'étalonnage représentant les absorbances des différentes concentrations de la catéchine considéré comme un standard (25-500 $\mu\text{g}/\text{ml}$), et déterminé par l'équation de type : $y = 0,0016x + 0,0332$ sachant que le coefficient de corrélation est : $R^2 = 0,9913$. Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalent de catéchine par milligramme d'extrait (μg CEQ/mg).

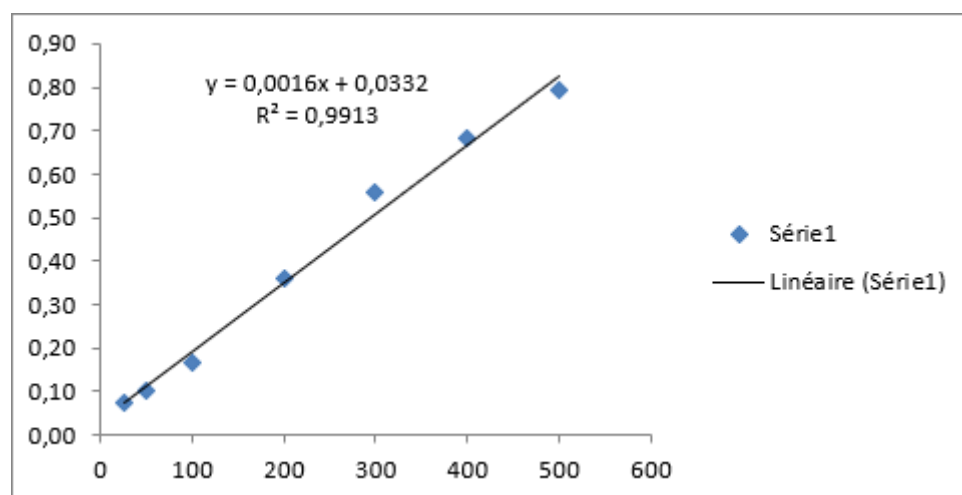


Figure 13 : courbe d'étalonnage de la catéchine.

Les résultats sont exprimés en μg équivalent catéchine par milligramme de la matière végétale sèche (μg CEQ /mg). Calculée selon la formule suivante :

$$\text{Quantité de tanins} = y - b/a$$

Avec y : la moyenne des DO de l'extrait.

iii. Evaluation de l'activité antioxydante

1. (Piégeage du radical libre DPPH (2,2diphényl-1-picrylhydrazyl))

Pour évaluer l'activité antioxydante, nous avons utilisé la méthode du DPPH (2,2diphényl-1-picrylhydrazyl).

La présence de ces radicaux DPPH donne lieu à une coloration violette foncée de la solution, avec une absorption d'environ 517 nm (Mezouar, 2012). En présence des composés anti-radicalaires, le radical DPPH est réduit et change de couleur en virant au jaune (Zirar, 2014).

La réaction anti-radicalaire peut être résumée selon l'équation :

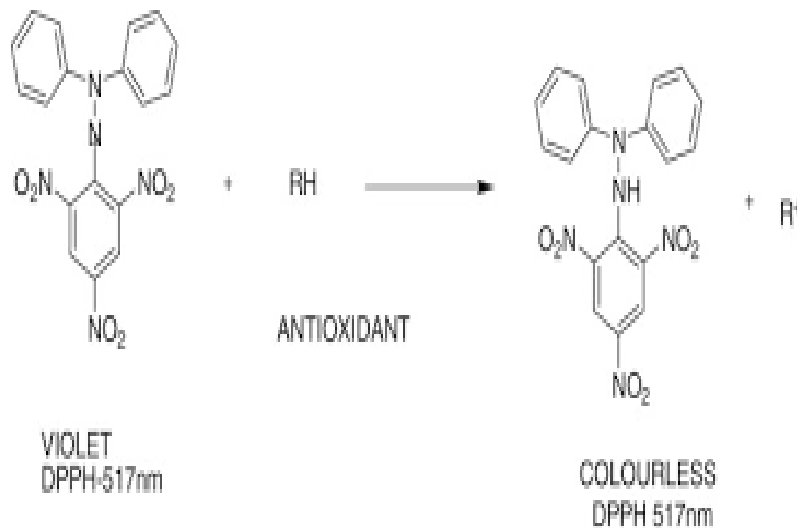


Figure 14 : forme libre et réduite du DPPH (Nithya, 2017).

- **Mode opératoire**

Le test de DPPH a été effectué selon le protocole

- ✓ Préparation de la solution de DPPH à la concentration de 4 mg dans 100ml d'éthanol
- ✓ Préparation de la solution d'extrait dans l'eau distillée à différentes concentrations ; préparation de la gamme d'acide ascorbique dans l'éthanol (standard) à différentes concentrations ;
- ✓ Un volume de 50µl des différentes concentrations de chaque extrait est ajouté à 1250 µl de la solution du DPPH ;
- ✓ Pour chaque concentration un blanc est préparé ce qui concerne le contrôle négatif, en mélangeant 50µl de l'extrait avec 1250 µl de la solution d'éthanol ;
- ✓ Incubation pendant 30 min à température ambiante, à l'obscurité ;
- ✓ Chaque concentration est répétée trois fois ;
- ✓ La lecture des absorbances est effectuée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (Blois, 1958).

Une gamme d'acide ascorbique a été préparée dans l'éthanol (standard) à différentes concentrations.

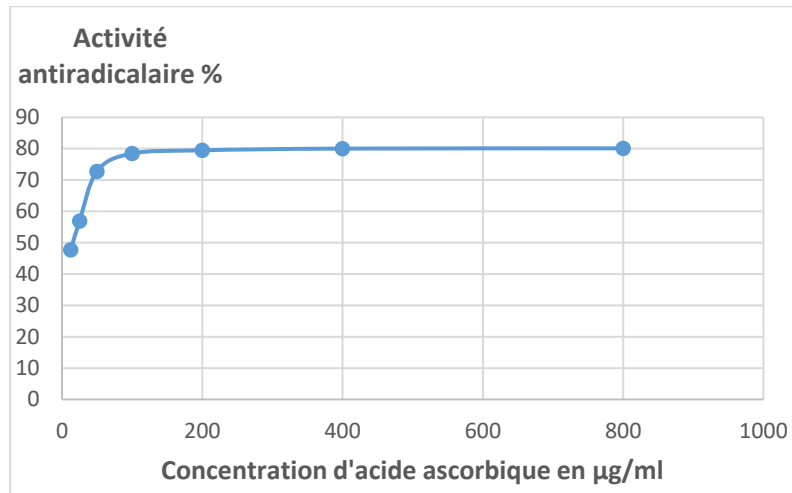


Figure 15: Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations utilisé pour BHT.

2. Expression des résultats

- **Pourcentage d'inhibition**

Le pourcentage d'inhibition PI est calculé selon la formule suivante :

$$PI\% = \frac{Ac - Ae}{Ac} * 100$$

Ac : absorbance de contrôle.

Ae : absorbance de l'extrait.

- **Détermination IC₅₀ :**

La valeur IC₅₀ ou concentration inhibitrice 50 est la concentration du substrat qui garantit que l'activité DPPH est réduite de 50%, et est déterminée graphiquement (Samarth et *al.*, 2008).

Résultats et discussions

1. Etude ethnobotanique

Les études ethnobotaniques et ethnomédicinales sont aujourd'hui reconnues comme des méthodes de choix pour la connaissance des plantes médicinales et leurs utilisations traditionnelles (Farnsworth et *al.*, 1986). Ces études sont indispensables dans la mesure où elles orientent la sélection des plantes à étudier et le choix des tests biologiques (Jones et Kinghorn, 2005).

La majorité des répondants sont des hommes (66,7%), alors que les femmes sont présentes que par (33,3%).

L'âge des personnes est compris entre 22 à 63 ans, où la tranche d'âge [22-40] représente la plupart des personnes par 41,7%, puis la tranche d'âge [40-50] qui représente 40%, et enfin la tranche d'âge > 50 est la plus faible par 18,3%.

La présente étude a permis de dresser une liste des plantes médicinales utilisées dans la région de Bouira. En outre, l'identification botanique a montré que parmi les 12 familles recensées, les *Lamiaceae* sont les plus représentées avec 06 espèces (soit 16 citations) puis les *Asteraceae* avec 02 espèces (04 citations), les *Fabaceae* et les *Malvaceae* avec 02 espèces (4 et 5 citations, respectivement), puis les *Berberidaceae*, *Oleaceae*, *Rhamnaceae*, *Amaranthaceae*, *Apiaceae*, *Myrtaceae*, *Rutaceae* et *Rubiaceae* avec une espèce pour chacune (9, 3, 5, 1, 3, 3, 1, 6 citations, respectivement) (Tableau 01).

Tableau 2 : listes des plantes médicinales utilisées à Bouira (Algérie)

Famille botanique	Nom scientifique	Nom en français	Nom local	Sourcé	Partie utilisée	Période de récolte	Méthode de l'utilisation	Utilisation traditionnelle	citation	
Lamaiceae	<i>Ajuga lva L</i>	Germandrée faux pin	Chendgoura		Locale	Feuilles	Printemps	Décoc-tion	Diabète tonique	8
	<i>Melissa officinalis</i>	Mélisse officinale	Mélissa		Locale	Feuilles	pendant la période végétative, entre mai et septembre	Infusion	Maux de tête, nausée	1
	<i>Origanum majorana</i>	Marjolaine	Bardgouche		Locale	Feuilles	Annuel	Infusion	Antispasmodique, colique	2
	<i>Salvia officinalis</i>	Sauge officinale			Locale	Feuilles	Annuel	Infusion	Antiseptique Perte d'appétit	1
	<i>Rosmarinus officinalis</i>	Romarin	Aklil		Locale	Feuilles	Annuel	Infusion	Colon, estomac	2
	<i>Lavandula stoechas</i>	Lavande	Helhal		Locale	Partie aérienne	été	Infusion	Brulures d'estomac, colon	2
Astereaceae	<i>Artémisia herba-alba</i>	Armoise Blanche	Chih		Locale	Partie aérienne	Printemps, été	Décoc-tion	Diabète, colon	2
	<i>Anthemisarvensis</i>	camomille	Baboundj		Locale	Fleurs	Printemps	Infusion	Calment, ulcère bactéroïde	2
Malvacaeae	<i>Hibiscus sabdariffa</i>	Oseille de guinée	Karkdia		Locale	Fleurs	été	Infusion	Hypertension	4
	<i>Tiliastylvestris</i>	Tilleul des	Zaizafoune		Local	Feuilles	été	Infusion	maladies cardiovas	1

Résultats et discussions

		bois		e				culaires	
Berberidaceae	<i>Berberis vulgaris</i> L	Epinevinette	Brestoume	Locale	Racines	Annuelle	Poudre	Diabète sucré, cancer	9
Fabaceae	<i>Cassia aschreek</i> Forsk	séné	Sennamaky	Locale	Feuilles	L'hiver automne	Infusion	Constipation, purification du tube digestif	2
	<i>Trigonellafenu mgraecum</i> L	Fenugrec	Halba	Locale	Graines	Annuel	Décocction, poudre	Perte d'appétit, infection génitale	2
Oleaceae	<i>Olea europaea</i>	Olivier	Awrazaytoune	Locale	Feuilles	Annuelle	Décocction	Hypertension, diabète, et antiseptique	3
Rhamnaceae	<i>Rhamnus alaternus</i>	Nerprun alaterné	Mliles	Locale	Feuilles	Des baies se fait en septembre et octobre	Décocction	Ictère, Angines	5
Amaranthaceae	<i>Atriplex hortensis</i>	arroche	Lektéf	Locale	Plante complet	Annuelle	Décocction	Goitre, jaunisse	1
Apiaceae	<i>Ferula assa-foetida</i>	Ase fétide	Lhentit	Locale	Racines	Annuelle	Poudre	Constipation, Colon, angines	3
Myrtaceae	<i>Eucalyptus globulus</i>	Eucalyptus	Kalitus	Locale	Feuilles	été	Infusion	La grippe	3
Rutaceae	<i>Ruta chalepensis</i> L	Ortie	Fidjel	Locale	Partie aérienne	été	Infusion	Maladies cardiovasculaires	1
Rubiaceae	<i>Cinchona officinalis</i>	Quinquina	Kina	Locale	Feuilles	Automne	Infusion	Diabète	6

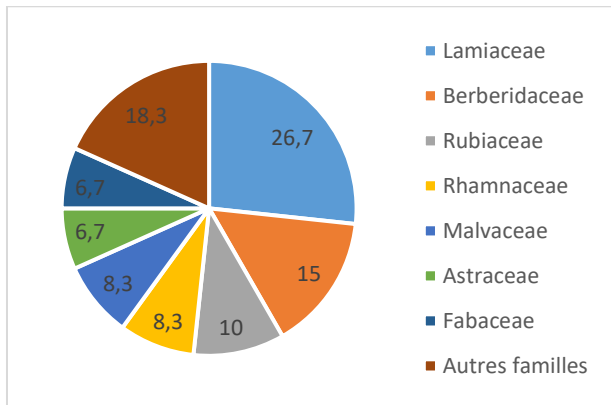


Figure 16 : Répartition des plantes médicinales selon la citation.

Nous avons observé que l'utilisation des feuilles est la plus fréquente (55%), la partie aérienne (20%) même pourcentage pour l'utilisation des fleurs et racines (10%) le reste concerne l'utilisation de grains et de la plante complète. Ceci est cohérent avec les résultats de plusieurs études qui rapportent que les feuilles sont fréquemment utilisées dans les recettes médicinales [Sarri, 2014].

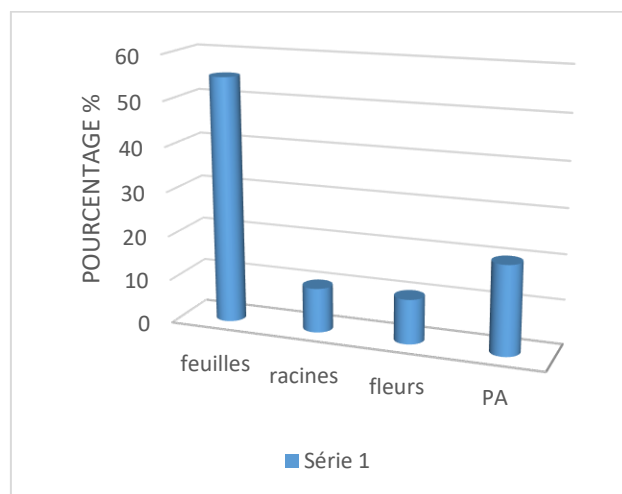


Figure 17 : répartition des plantes médicinales selon la partie utilisée

Cette enquête ethnobotanique montre que la population est fortement dépendante de ces plantes qui leur permettent de traiter diverses maladies telles que : les troubles digestives, les douleurs d'estomac et de colon, constipation, angines, nausée et la grippe avec un pourcentage (40%), antidiabétique (25%), maladies cardiovasculaires (10%).

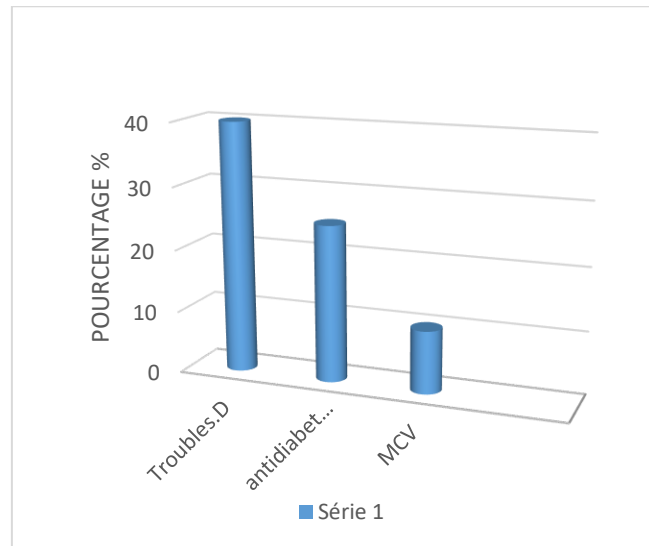


Figure 18 : répartition des plantes médicinales selon les maladies

En général les recettes sont administrées par voie orale. En effet, la fusion (60%) et la décoction (25%) sont les plus utilisées, suivi de poudre (15%). Il est souvent rapporté que la décoction recueille les substances les plus actives et atténue ou annule l'effet toxique de certaines maladies. [Sarri, 2014]

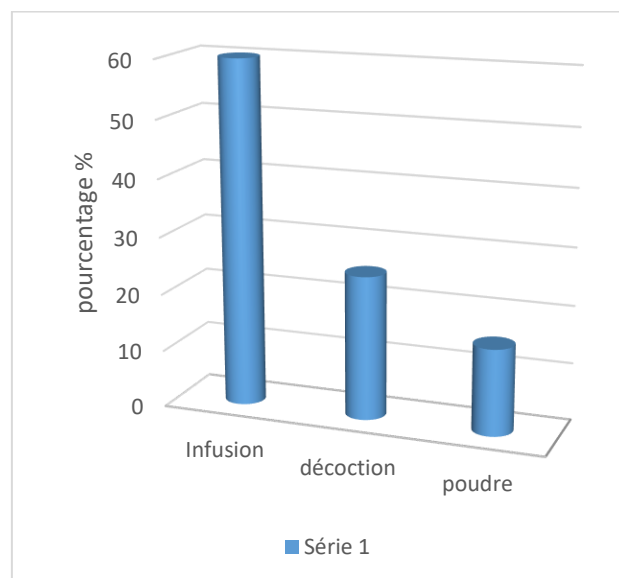


Figure 19: répartition des plantes médicinales selon les modes de préparations

L'enquête ethnobotanique menée au près herboristes, tradipraticiens et personnes normaux dans la wilaya de Bouira a créé un inventaire de 20 espèces et une base de données qui recueille toutes les informations sur les applications thérapeutiques traditionnelles ainsi que les maladies traitées, étant la famille des *Lamiaceae* la plus citées et les feuilles la partie

la plus utilisée. Infusion ou la décoction les plus fréquemment utilisées comme méthode de préparation de recettes médicinales.

2. Etude phytochimique

2.1. Caractérisation de l'extrait

Après extraction, séchage, récupération de l'extrait sous forme sec, le tableau n résume les caractéristiques de l'extrait

Tableau 02 : quelques caractéristiques de l'extrait préparé

Extrait de :	Rendement	L'aspect	Couleur	Solubilité
Aqueux	12.50%	Poudre(cristallisé)	Marron foncé	Eau

Le résultat obtenu lors de cette étude montre que l'extrait aqueux du *Berberis vulgaris L.* a donné un rendement de 12.50%.

Dans une étude réalisée par **Mezouar (2014) et Kouadri Boudjelthia (2019)** qui a travaillé sur *Berberis vulgaris L.*, Des résultats trouvés pour le rendement de l'extrait aqueux étaient de 14,91% et 15,1%, respectivement. Ces résultats sont proches à nos résultats (12,50%).

Selon **Zovko Končić et ses collaborateurs**, l'extrait éthanolique 97% de racines, fruits et feuilles de *Berberis vulgaris* donne un rendement de l'ordre de 68.1% ,57.5% et 82% respectivement dans la région Cmi Lug – Croatie, et presque les mêmes valeurs sont obtenues dans la région de Skrade.

Concernant *Berberis creotica* les rendements atteindre jusqu'à 67.7%,61.7% et 62.2% pour les racines, fruits et feuilles respectivement dans Kiza, 55.9%,52.1% et 58.1% dans la région de Meduvrhei.

Les teneurs marquées chez les deux espèces sont suffisamment supérieurs vis-à-vis à nos valeurs.

D'après les résultats obtenus on peut voir que le rendement de l'extrait varie d'une espèce à une autre et selon le solvant utilisé. La différence de polarité du solvant d'extraction affectera la solubilité des constituants chimiques d'un extrait ainsi que le rendement d'extraction (Sahraoui et *al.*, 2019).

On peut dire aussi que ces changements en teneur sont dus au milieu où évoluent les plantes, leur origine, la variété, la saison de récolte, les conditions climatiques et environnementales et la localisation géographique (Falleh et *al.*, 2008).

2.2. Tests phytochimiques

Les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles de composés existant dans la partie de la plante par des réactions qualitatives de caractérisation.

Les résultats sont mentionnés dans le tableau suivant :

Tableau 03 : Résultats d'analyses phytochimiques.

	Teneur des composants en $\mu\text{g}/\text{mg}$
Polyphénols totaux ($\mu\text{g AGE}/\text{mg}$)	104.15 ± 7.28
Flavonoïdes totaux ($\mu\text{g QEQ}/\text{mg}$)	23.77 ± 1.13
Tanins condensés ($\mu\text{g CEQ}/\text{mg}$)	$94,25 \pm 14,14$

L'étude quantitative de l'extrait de *Berberis vulgaris* pour objectif de déterminer la teneur de polyphénols totaux qui est de l'ordre de $104,15 \mu\text{g GAE}/\text{mg}$ et des flavonoïdes $23.77 \mu\text{g QEQ}/\text{mg}$ et une valeur égale à $94,25 \mu\text{g CEQ}/\text{mg}$ pour les tanins condensés.

Ces valeurs sont très importantes par rapport aux valeurs obtenus par **Zovko Končić et ses collaborateurs** qui ont obtenus les concentrations de $7,29 \mu\text{g GAE}/\text{mg}$ et $10,34 \mu\text{g GAE}/\text{mg}$ en polyphénols totaux dans la région de Skrad et Cmi Lug – Croatie (Zovko Končić et al, 2010).

Autres études faites par **Zirar, 2014** et **Rached, 2009** montrent des valeurs proches à nos résultats de $121,38 \mu\text{g GAE}/\text{mg}$ et $121,76 \mu\text{g GAE}/\text{mg}$, respectivement.

Concernant le dosage des flavonoïdes nos résultats sont comparés avec ceux de l'étude faite par (**Mezouar, 2012**) qui montre que *Berberis vulgaris* présente une faible teneur en flavonoïdes qui est d'en $2,05 \mu\text{g QEQ}/\text{mg}$ comparants avec nos résultats, nous avons remarqué que notre extrait présente une teneur élevée de $23,77 \mu\text{g QEQ}/\text{mg}$.

Par ailleurs, la teneur en flavonoïdes des racines de *Berberis vulgaris* trouvées par (**Rached, 2009**) pour l'extrait aqueux sont proches à notre résultat avec des teneur de $23,92 \mu\text{g QEQ}/\text{mg}$ d'extrait.

L'étude faite par (Zirar, 2014) démontre que son extrait présente une teneur un peu plus élevée en flavonoïdes qui est d'en 45,18 µg QEQ/mg comparants avec nos résultats.

Par rapport (Zovko Končić et al., 2010), ces teneurs restent bien supérieures à la quantité en polyphénols totaux et en flavonoïdes de l'extrait éthanolique 96% des feuilles et brindilles de *Berberis vulgaris* avec une teneur de 52,54 et 12,53 mg GAE/g pour les polyphénols totaux et de 4,23 et 0,50 mg QEQ/ mg pour les flavonoïdes, respectivement dans la région de Cmi Lug – Croatie et de 20,38 et 10,98 mg GAE/g pour les polyphénols totaux et de 1,71 et 0,12 mg QEQ/mg pour les flavonoïdes, respectivement dans la région de Skrad.

Il est convenient de souligner que la méthode utilisée (le choix des solvants), ainsi que les conditions dans lesquelles l'extraction est effectuée (à chaud ou à froid), affectent tous le contenu total en phénols et flavonoïdes, et par conséquent affecte les activités biologiques médiées par ces métabolites (Lee et al., 2003).

Nous remarquons que la concentration des flavonoïdes est plus faible que celle des polyphénols totaux, ceci nous permet de penser que les tanins sont la famille la plus distinctif des polyphénols totaux.

D'après les résultats obtenus, *Berberis vulgaris* renferme une concentration moyenne en polyphénols totaux et flavonoïdes, qui intéressent les chercheurs pour leur pouvoir antioxydant (Hannebelle et al., 2004).

3. Étude de l'activité antioxydante

Dans notre travail nous avons étudié l'activité antioxydante de la plante, les valeurs obtenus ont permis de tracer une courbe représentée sur (Fig. 18) à partir de ce dernier, nous pouvons déterminer le pourcentage d'inhibition obtenus en fonction des concentrations utilisées ainsi que la valeur d'IC₅₀ de l'extrait.

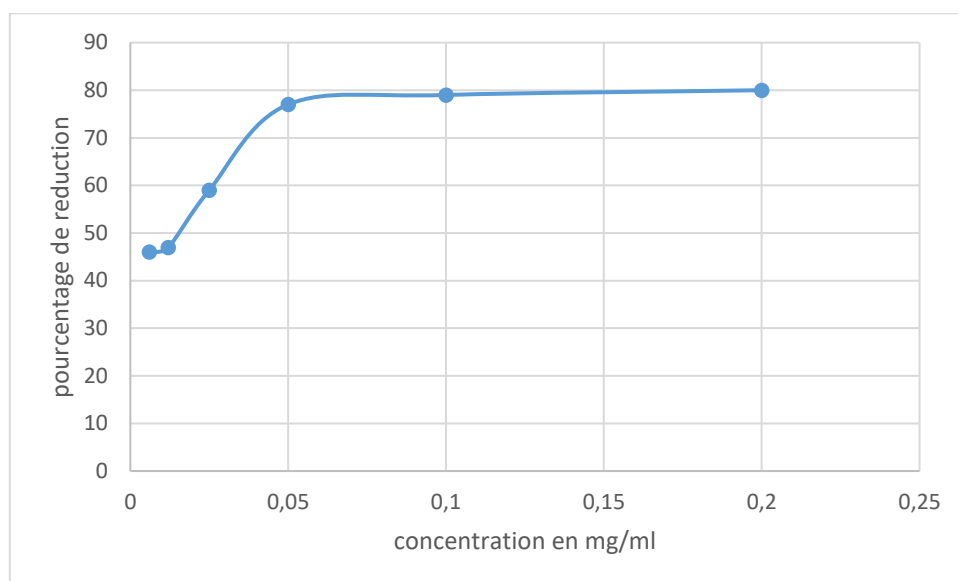


Figure 20: pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations.

L'IC₅₀ est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé, car elle exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50 %. Plus la valeur d'IC₅₀ est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande (**tableau 04**).

Tableau 04: IC₅₀ de l'extrait de notre plante.

	BHT	Berberis vulgaris
IC ₅₀ (µg/ml)	6,82 ± 0,49	17±0,006

Selon les résultats obtenus, l'extrait aqueux de *Berberis vulgaris* est doté d'un pouvoir antioxydant intéressant, son IC₅₀ est de 17 ± 0,006 µg/ml 3 fois moins actif que le BHT qui présentent un IC₅₀ de 6,82 ± 0.49 µg/ml (Fig. 21).

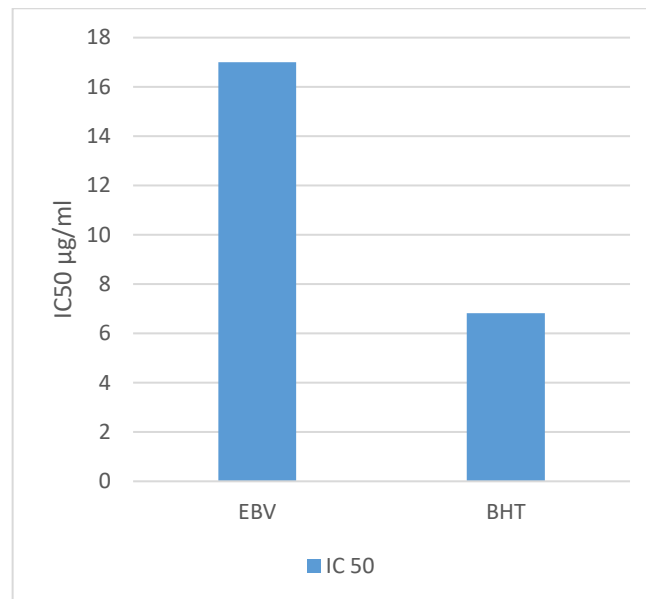


Figure 21: Histogramme des valeurs d'IC₅₀ de l'EBV et de l'extrait de *Berberis vulgaris* en µg/ml.

Une étude a été réalisée par **Zovko Končić et ses collaborateurs** sur l'activité antioxydante des extraits éthanoliques des racines, brindilles et feuilles de *Berberis vulgaris* des régions Skrad et Crni Lug et *Berberis croatica* des régions de Kiza et Meduvrhi en Croatie.

Les auteurs ont obtenu des résultats différents pour le piégeage du radical libre DPPH et les valeurs d'IC₅₀ varient entre 1895 µg/ml pour l'extrait éthanolique des racines de *Berberis vulgaris* de Skrad et 65,09 µg/ml pour l'extrait des feuilles de *Berberis vulgaris* de Crni Lug.

De plus, les extraits de *Berberis vulgaris* étaient moins actifs que les extraits correspondants de *Berberis croatica*. Dans tous les cas, les extraits des racines étaient les moins actifs, suivis par les extraits de brindilles et des feuilles (Zovko Končić et al., 2010).

Les valeurs d'IC₅₀ de l'extrait éthanolique des racines de *Berberis vulgaris* de Skard présente une valeur d'IC₅₀=1895 µg/ml selon (Zovko Končić et al., 2010), en comparaison avec nos extraits aqueux nous avons noté une IC₅₀= 17 µg/ml. Ces résultats confirment le rôle de l'environnement dans l'adaptation des plantes.

Une étude menée par (Mouttaieb et al., 2005) sur les fruites de la même espèce de plante a montré une IC₅₀ de 0,650 µg/ml, lorsque l'extraction a été menée par l'eau suivie par

une extraction dans l'éthanol avec une IC₅₀ de 0,658 µg/ml. Ces valeurs sont faibles à celle trouvée avec nos extrait aqueux (17± 0,006 µg / ml).

Par ailleurs, les travaux rapportés par (**Zirar, 2014**) montrent une valeur d'IC₅₀ de 26,29 µg/ml ces résultats sont presque compatibles à nos résultats.

On peut dire que l'extrait aqueux présente une activité antioxydante intéressante. Mais Cette activité reste néanmoins nettement inférieure à celle de l'BHT, mais il s'agit d'extrait aqueux contenant un grand nombre de composés différents. Il est donc très probable qu'ils contiennent des composés qui, une fois purifiés, peuvent présenter une activité comparable à celle de la l'BHT. Des recherches complémentaires sont nécessaires pour identifier, isoler et purifier ces constituants (Bougandoura.N et Bendimerad.N, 2012).

Conclusion générale

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques.

Une étude ethnobotanique a été réalisée dans des régions à la wilaya de Bouira, à l'issue de cette dernière, il en ressort que la médecine traditionnelle demeure une pratique qui reconnut une large utilisation par la population locale pour le traitement de diverses maladies dont 20 espèces ont été citées. La majorité des plantes sont indiquées pour le traitement des maladies de l'appareil digestif, le diabète et les MCV. *Berberis vulgaris* est la plante citée pour le traitement de diabète et le cancer beaucoup plus. Est une plante de la famille des Berberedaceae, utilisée à Bouira pour ces propriétés antidiabétiques et anticancérigènes.

Il est important de noter que les modes d'administration par la décoction et l'infusion des feuilles est la plus envisagée sans tenir compte la posologie qui met les utilisateurs de ces plantes face au risque de toxicité en absence de prudence et vigilance.

L'extraction par macération dans l'eau distillé des racines de *Berberis vulgaris* a permis d'obtenir un rendement de 12.50%.

Quantitativement, l'évaluation du contenu de l'extrait en polyphénols totaux adoptant la méthode de Folin-Ciocalteu révèle la présence des quantités importantes de polyphénols ($104,15 \pm 7,28 \mu\text{g GAE/mg}$ d'extrait). De même le dosage des flavonoïdes totaux par la méthode d' AlCl_3 a montré que l'EBr contient une quantité considérable de flavonoïdes de l'ordre de $23,77 \pm 1,13 \mu\text{g QEQ /mg}$ d'extrait. Le contenu en tanins condensées montre une valeur de $94,25 \pm 14,14 \mu\text{g CEQ/mg}$ d'extrait.

D'après les résultats qui nous avons obtenus, nous nous sommes intéressé par suit pour leur pouvoir antioxydant, d'où l'évaluation de l'activité antioxydante par la méthode de DPPH, démontre que l'extrait de la plante étudiée possède une bonne activité ($\text{IC}_{50} = 17 \pm 0,006 \mu\text{g/ml}$).

L'Afrique en général et l'Algérie en particulier possédant une immense biodiversité qui ne demande qu'à être étudiée, les sujets dans ce domaine ne manquent donc pas, car chaque plante étudiée se caractérise par un réservoir assez important de métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques particulières qui demandent d'être exploitées par les recherches.

Références bibliographiques

1. Akroum, S. (2011). Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels.
2. Ali-Rachedi, F., Meraghni, S., Touaibia, N., & Mesbah, S. (2018). Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne *Scabiosa Atropurpurea* sub. *Maritima* L. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*.
3. Allali, H., Benmehdi, H., Dib, M. A., Tabti, B., Ghalem, S., & Benabadji, N. (2008). Phytotherapy of diabetes in west Algeria. *Asian Journal of Chemistry*, 20(4), 2701.
4. Amel, S. A. H. R. A. O. U. I., & Amel, S. A. D. K. I. (2019). Tests phytochimiques et activité antioxydante des parties aériennes de *Rhamnus alaternus* L (Doctoral dissertation).
5. Azroug, DJ., Houna, A. (2019). Effet Inhibiteur des extraits de trois plantes Sahariennes *Cotula cinerea*, *Haloxylon scoparium* et *Zygophyllum* sur les bactéries *S.aureus*, *E. coli* et *Pseudomonas* sp
6. Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., ... & Pinkas, M. (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-forschung*, 46(11), 1086-1089.
7. Belaidi, EB. Etude de l'activité antimicrobienne des extraits *Berberis vulgaris* (Doctoral dissertation).
8. Berger MM. (2003). Oligoéléments : quoi de neuf ? *Swiss Med Forum*. 31: 720 – 6.
9. Berger MM. (2006). Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. *Nutr clin méta*. 20 : 48 – 53.
10. Bérubé-Gagnon, J. (2006) Isolation et identification de composés antibiotiques des écorces de *Picea mariana*. Mémoire comme exigence partielle de la maîtrise en ressources renouvelables. Québec
11. Biesalski, H. K., Böhles, H., Esterbauer, H., Fürst, P., Gey, F., Hundsdörfer, G., ... & Weisburger, J. (1997). Antioxidant vitamins in prevention. *Clinical nutrition*, 16(3), 151-155.
11. BLOIS, M. (1958). Antioxydant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. *Nature* 181, 1199-1200.
12. Boberek, J. M., Stach, J., & Good, L. (2010). Genetic evidence for inhibition of bacterial division protein FtsZ by berberine. *PloS one*, 5(10), e13745.

13. Bouabida, H., Djebbar, F., & Soltani, N. (2012). Etude systématique et écologique des Moustiques (Diptera: Culicidae) dans la région de Tébessa (Algérie). *Entomologie faunistique-Faunistic entomology*.
14. Boudjelthia, K., Hammadi, K., Kouidri, M., & Djebli, N. (2017). Evaluation of antidiabetic activity of two plants *Berberis vulgaris* and *Zygophyllum geslini*. *J. Phys. Chem. Biophys*, 7(1), 1-7.
15. Bougandoura, N., & Bendimerad, N. (2013). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. *Nature & Technology*, (9), 14.
16. Chevallier A. (2001). *Encyclopedia of medicinal plants*, 2nd Ed. Dorling Kindersley editions. London. 336 P.
17. Crozier, A., Jaganath, I. B., & Clifford, M.N. (2006). Phenols, polyphenols and tannins: an overview. *Plant secondary metabolites: Occurrence, structure and role in the human diet*, 1.
18. Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12(4), 564-582.
19. Dacosta C.J. & Baenziger J.E. (2003). A rapid method for assessing lipid: protein and detergent: protein ratios in membrane-protein crystallization. *Acta Crystallogr. Journal of Biological Crystallography* 59, 77–83.
20. Daels-rakotoarison D. (1999). Extraits polyphénoliques d'aubépine, de cola et d'eglantier. Thèse de doctorat. Université de Lille II. France.
21. Farnsworth NR, Akerele O, Bingel AS, Soejarto DD, Guo Z, 1986. Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. *Bulletin de l'Organisation Mondiale de la Santé*, 64(2) : 159- 164.
22. Favier A. (2003). Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*. 108 – 115.
23. Favier, A. (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 64(6), pp.390-396.
24. Fiorucci, S. (2006). Activités biologiques de composés de la famille des flavonoïdes : Approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire (Doctoral dissertation, Université de Nice Sophia-Antipolis (UNS)).

25. Flora, SJS. (2009). Structural, chemical and biological aspects of antioxidants for strategies against metal and metalloids exposure. *Oxi Med Cel Long*. 2: (4) 191 – 206.
26. Halliwell, B, Gutteridge JMC. (1990). The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch Biochem Biophys*. 280: 1 – 8.
27. Hanachi, P., Kua, S. H., Asmah, R., Motaleb, G., & Fauziah, O. (2006). Cytotoxic effect of *Berberis vulgaris* fruit extract on the proliferation of human liver cancer cell line (HepG2) and its antioxidant properties. *Int J cancer res*, 2(1), 1-9.
28. Hanachi, P, Golkho, SH. (2009). Using HPLC to Determination the Composition and Antioxidant Activity of *Berberis Vulgaris*. *Eur J Sci Res*. 29 (1): 47 – 54.
29. Hanson, JR. (2003). Natural Products: The secondary metabolites. Royaume-Uni: Royal Society of Chemistry
30. Himiani A. (2018). L'étude chimique et pharmacologique de quelques familles de plantes médicinales Algérienne.
31. Hui, H., Tang, G., & Go, V. L. W. (2009). Hypoglycemic herbs and their action mechanisms. *Chinese Medicine*, 4(1), 1-11.
32. Iizuka, N., Miyamoto, K., Okita, K., Tangoku, A., Hayashi, H., Yosino, S., ... & Oka, M. (2000). Inhibitory effect of *Coptidis Rhizoma* and berberine on the proliferation of human esophageal cancer cell lines. *Cancer letters*, 148(1), 19-25.
33. Imanshahidi M, Hosseinzadeh H. (2008). Pharmacological and Therapeutic effects of *Berberis vulgaris* and its active constituent berberine. *Phytother. Res.*; 22(08): 999-1012.
34. Iserin, P. (2001). Larousse encyclopedie des plantes medicinales. Identification, Préparations, soins. 2nd edition, Dorling Kindersiey Limited, Londres.
35. Jones WP, Kinghorn AD. (2005). Extraction of plant secondary metabolites In: Natural products isolation. Humana Press (Totowa), 20(2): 323-351.
36. Kim, J. B., Lee, K. M., Ko, E., Han, W., Lee, J. E., Shin, I., ... & Noh, D. Y. (2008). Berberine inhibits growth of the breast cancer cell lines MCF-7 and MDA-MB-231. *Planta medica*, 74(01), 39-42.
37. Kohen R, Nyska A. (2002). Oxidation of biological systems: Oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions and methods for their quantification. *ToxicoloPathol*. 30: 620 – 650.

38. Končić, M. Z., Kremer, D., Karlović, K., & Kosalec, I. (2010). Evaluation of antioxidant activities and phenolic content of *Berberis vulgaris* L. and *Berberis croatica* Horvat. *Food and chemical toxicology*, 48(8-9), 2176-2180.
39. Koné, K.P.F.O. (2018). Applications des techniques de chromatographie et de spectroscopie dans l'identification des métabolites secondaires de trois plantes antidiabétiques et antihypertensives de la pharmacopée ivoirienne (Doctoral dissertation, Institut National Polytechnique Felix HouphouëtBoigny-Yamoussoukro).
40. Kosalec, I., Gregurek, B., Kremer, D., Zovko, M., Sanković, K., & Karlović, K. (2009). Croatian barberry (*Berberis croatica* Horvat): a new source of berberine—analysis and antimicrobial activity. *World journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(1), 145-150.
41. Kulkarni SK, Dhir A. (2010). Berberine: a plant alkaloid with therapeutic potential for central nervous system disorders. *Phytother Res.* 2010; 24: 317 – 24.
42. Macheix, J. J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR presses polytechniques.
43. Mata, A. T., Proença, C., Ferreira, A. R., Serralheiro, M. L. M., Nogueira, J. M. F., & Araújo, M. E. M. (2007). Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices. *Food chemistry*, 103(3), 778-786.
44. Meeran, S. M., Katiyar, S., & Katiyar, S. K. (2008). Berberine-induced apoptosis in human prostate cancer cells is initiated by reactive oxygen species generation. *Toxicology and applied pharmacology*, 229(1), 33-43.
45. Meliani, N. (2003). Etude de l'activité hypoglycémisante de *Berberis vulgaris* [Mémoire de Magister]. Tlemcen: Université Abou Bekr Belkaïd Département de Chimie Faculté des Sciences.
46. Meliani, N., Dib, M. E. A., Allali, H., & Tabti, B. (2011). Hypoglycaemic effect of *Berberis vulgaris* L. in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 1(6), 468-471.
47. Mezouar, D. (2012). Recherche d'activités biologiques de *Berberis vulgaris* (Doctoral dissertation).
48. Mezouar, D., Lahfa, F. B., Abdelouahid, D. E., Adida, H., Rahmoun, N. M., & Boucherit-Otmani, Z. (2014). Activité antimicrobienne d'extraits d'écorce de racines de *Berberis vulgaris*. *Phytothérapie*, 12(6), 380-385.

49. Millogo, H., Guisso, L. P., & Nacoulma, O. O. (2006). Savoir traditionnel et médicaments traditionnels améliorés. *Centre Européen de Santé Humanitaire, Lyon, 9*.
50. Motalleb, G., Hanachi, P., & Kua, S. H. (2005). Evaluation of phenolic content and total antioxidant activity in *Berberis vulgaris* fruit extract.
51. Nithya, P., & Madhavi, C. (2017). Antioxidant activity of 3-arylidene-4-piperidones in the 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl scavenging assay. *Journal of Taibah University for Science, 11(1)*, 40-45.
52. Osbourn, AE, Lanzoutti, V. (2009). Plant-derived: Natural products (synthesis, function and application). London New York: Springer
53. Peng, P. L., Hsieh, Y. S., Wang, C. J., Hsu, J. L., & Chou, F. P. (2006). Inhibitory effect of berberine on the invasion of human lung cancer cells via decreased productions of urokinase-plasminogen activator and matrix metalloproteinase-2. *Toxicology and applied pharmacology, 214(1)*, 8-15.
54. Permal, A. (2017). Validation d'une méthode de dosage des tanins condensés dans les matières végétales.
55. Rachid, A., Rabah, D., Farid, L., Zohra, S. F., Houcine, B., & Nacéra, B. (2012). Ethnopharmacological survey of medicinal plants used in the traditional treatment of diabetes mellitus in the North Western and South Western Algeria. *Journal of Medicinal Plants Research, 6(10)*, 2041-2050.
56. Remppis, A., Bea, F., Greten, H. J., Buttler, A., Wang, H., Zhou, Q., ... & Blessing, E. (2010). Rhizoma coptidis inhibits LPS-induced MCP-1/CCL2 production in murine macrophages via an AP-1 and NF B-dependent pathway. *Mediators of inflammation, 2010*.
57. Saeed Arayne, M, Sultana, N, Bahadur, SS. (2007) The *Berberis vulgaris* story: *Berberis vulgaris* in therapeutics. *Pak J Pharm Sci. 20 (1): 83 - 92*.
58. Saied S., Begum S. (2004). Phytochemical studies of *Berberis vulgaris*. *Chemistry of Natural compounds; 40(2):137-140*.
59. Samarth, R. M., Panwar, M., Kumar, M., Soni, A., Kumar, M., & Kumar, A. (2008). Evaluation of antioxidant and radical-scavenging activities of certain radioprotective plant extracts. *Food chemistry, 106(2)*, 868-873.
60. Sarri, M., Mouyet, F. Z., Benziane, M., & Cheriet, A. (2014). Traditional use of medicinal plants in a city at steppic character (M'sila, Algeria). *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research, 2(2)*, 31-35.

61. Schauenberg, P., & Paris, F. (2005). Guide des plantes médicinales: analyse, description et utilisation de 400 plantes. Delachaux et Niestlé.
62. Singleton, V.L et Rossi J.A.J. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Amer.J. Enol. Viticult.* 16: 144-58.
63. Sun, B., Ricardo-da-Silva, J. M., & Spranger, I. (1998). Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *Journal of agricultural and food chemistry*, 46(10), 4267-4274.
64. Tadeusz, A. (2006). Alkaloids: Secrets of Life (Alkaloids Chemistry, Biological Significance, Applications and Ecological Role-Elsevier Science).
65. Tan, Y. L., Goh, D., & Ong, E. S. (2006). Investigation of differentially expressed proteins due to the inhibitory effects of berberine in human liver cancer cell line HepG2. *Molecular Biosystems*, 2(5), 250-258.
66. Tillhon, M., Ortiz, L. M. G., Lombardi, P., & Scovassi, A. I. (2012). Berberine: new perspectives for old remedies. *Biochemical pharmacology*, 84(10), 1260-1267.
67. Vanhoebost, E, Thissen, J. P. Apport de la berbérine dans le traitement du diabète de type 2.
68. Verbois, S. (2015). La phytothérapie. Editions Eyrolles.
69. Wang, Y., Huang, S., Shao, S., Qian, L., & Xu, P. (2012). Studies on bioactivities of tea (*Camellia sinensis* L.) fruit peel extracts: Antioxidant activity and inhibitory potential against α -glucosidase and α -amylase in vitro. *Industrial Crops and Products*, 37(1), 520-526.
70. Wink, M. (2010). Biochemistry of plant: Secondary metabolism; (2ème édition, vol; 40).
71. Wu, K., Yang, Q., Mu, Y., Zhou, L., Liu, Y., Zhou, Q., & He, B. (2012). Berberine inhibits the proliferation of colon cancer cells by inactivating Wnt/ β -catenin signaling. *International journal of oncology*, 41(1), 292-298.
72. Yano, Y., Satomi, M., & Oikawa, H. (2006). Antimicrobial effect of spices and herbs on *Vibrio parahaemolyticus*. *International journal of food microbiology*, 111(1), 6-11.
73. Yin, J., Zhang, H., & Ye, J. (2008). Traditional Chinese medicine in treatment of metabolic syndrome. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Immune, Endocrine & Metabolic Disorders)*, 8(2), 99-111.

74. Yin, J., Ye, J., & Jia, W. (2012). Effects and mechanisms of berberine in diabetes treatment. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 2(4), 327-334.
75. Zirar, N. (2018). Contribution à l'étude de l'activité antioxydante de quelques plantes médicinales antidiabétiques (Doctoral dissertation).

Annexes

Annexes

Annexe 1 : Une fiche ethnobotanique sur l'utilisation des plantes médicinales

Fiche No.....

Profil de l'informateur ou l'utilisateur

Herboriste عشاب tradipraticiens معالج تقليدي

normal

Age :

Sexe : M F

Lieu :

Niveau académique : illettré (أمي) primaire moyenne secondaire
universitaire

Quelle sont les plantes les plus utilisées pour le traitement des **maladies chroniques**

- ✓ Diabète
- ✓ Hypertension
- ✓ maladie cardiovasculaire

Caractéristiques ethnobotaniques de la plante

Nom locale

La source local importé

La partie utilisée :

Feuille la tige racine graine fruit écorce
(الحاء) fleur plante entière Partie aérienne autre.....

Plante seule ? association possibles (deplantes)

.....
.....

Quand doit-on récolter ?.....

Mode d'utilisation :

Infusion منقوعة في ماء ساخن Décoction مغلى macération منقوعة في ماء بارد مطبوخة

autre.....

En cas de décoction ou d'infusion quelle est la durée correspondante ?

.....

Dose utilisée

poignée cuillerée autre

Dose précise :

1. Quantité g en verre
2. Quantité g en litre
3. Autres

Quantité consommée en une prise ?

verre d'eau verre de thé verre de café autre

La posologie (nombre de prise par jour) :

1 fois / jour 2 fois / jour 3fois/jour autre.....

Consommez-vous ces préparations ?

à jeun avant repas après repas aléatoirement

Durée de traitement :

Un Jour une semaine un mois jusqu'à la guérison

Annexe 2 : résultats de l'activité antioxydante

Tableau 1: Densités optiques obtenues pour l'extrait aqueux de *Berberis vulgaris* testé par la méthode de DPPH

Concentrations de l'extrait mg/ml	0,006	0,012	0,025	0,05	0,1	0,2
Densités optiques	0,412	0,367	0,203	0,168	0,144	0,160
	0,342	0,327	0,490	0,153	0,105	0,135
	0,425	0,460	0,195	0,170	0,129	0,130
Moyenne	0,393	0,384	0,296	0,163	0,147	0,145
Pourcentages d'inhibition %	46%	47%	59%	77%	79%	80%

Tableau 2: Densité optique obtenus pour l'acide ascorbique testé par la méthode de DPPH

Extrait (µg/ml)	Inhibition de dosage de DPPH %							
	12,5	25	50	100	200	400	800	IC50
BHT	47,77	56,93	72,83	78,46	79,48	80,03	80,10	6,82
	±	±	±	±	±	±	±	±
	1,22	1,84	1,2	1,01	0,3	1,6	0,6	0,49

