

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Frères Mentouri Constantine 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

Mémoire pour l'obtention du diplôme de
Master en Biochimie

Option : Biochimie Moléculaire et Santé

Thème

Etude de l'activité antioxydante et antibactérienne in vitro des extraits
méthanolique et aqueux des feuilles du *Zizyphus lotus*.

Soutenu juin 2017

Réalisé par :

Amari Imen

Gourissi Houda

Jury d'évaluation :

Président : Mr NECIB YUCEF (Pr- UFM Constantine).

Rapporteur : Melle DJEMAI ZOUGHLACHE SOUMIA (M-A- UFM Constantine).

Examineur : Melle BAHY AHLEM (MC-B-UFM Constantine).

- Session Juin 2017 -



Remerciments

*Avant tout propos, nous remercions **ALLAH** le tout puissant de nous avoir donnée la capacité et la volonté jusqu'au bout pour réaliser ce travail.*

*Nous tenons à remercier notre encadreur Melle **DAMAI ZOUGHLACHE SOUMAYA** pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une granderi goureuse scientifique, sa disponibilité, ses précieux conseils, la confiance qu'elle nous a accordé et pour son suivi régulier à l'élaboration de ce travail ; sans oublier l'ensemble de nos professeurs qui nous ont accompagnés tout au long de notre cursus universitaire.*

*Nous avons remercié également les membres de jury **Mr NECIB YUCEF** et Melle **BAHI AHLEM** pour leur temps consacré durant la lecture et l'évaluation de ce travail.*

*Merci à tous les membres de département de biochimie et biologie cellulaire et moléculaire. Nos remerciements s'adressent également aux responsables du laboratoire de la biochimie de l'université Constantine 1 en particulier : **SAMIA** et **YASSER***

Un grand remerciement à tous les responsables de bloc de science.





DEDICACES

Je dédie ce modeste travail :

*A ma famille spécialement aux personnes les plus chères au monde
mon père **Zouhír** et ma mère **Houría** qui sont la lumière de mes yeux,
ombre de mes pas et le bonheur de ma vie. qui m'ont apportés son
appui durant tous mes années d'études ,pour ces sacrifices et soutient
et qui mon donner la tendresse, la confiance, le courage et la sécurité.*

*A mon cher frère : **Amar***

*A mes belles-sœurs : **Nour, Lília***

A mes meilleure amies qui m'ont toujours ouvert les portes de

*l'espoir: **Sana, Nawal, Nadia, Ríma, Salma***

A toute ma famille.

*A mon binôme : **Houda** et sa famille.*

A mes ami(e)s de la promotion de master BMS.

A mes amies les plus proches sans exception





DEDICACES

Grace à dieu tout puissant, je dédie ce modeste travail à toutes les personnes qui m'ont aidé de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire et plus particulièrement :

*Mes Parents : **Moussa Et Karima***

*A mon Oncle et sa femme : **Hamide et Ratiba***

*A mes sœur : **Nadia, Samiha, Khadija et Ritadje***

*A mon frère : **Amin***

*A mes belles-sœurs : **Rima et Sana***

*A mon fiancé : **Amer***

A toute ma famille

*A mon binôme : **IMEN et sa famille.***

A mes ami(e)s de la promotion de master BMS.

A mes amies les plus proches sans exception



Résumé

Cette étude porte sur la valorisation d'un arbrisseau fruitier appelé *Zizyphus lotus* L. (Rhamnaceae) connu dans l'Algérie sous le nom vernaculaire Sedra. C'est une plante utile, en médecine populaire, pour soigner le tube digestif, le foie et les affections respiratoires.

Dans la présente étude on a tenté d'évaluer l'activité antioxydante et antibactérienne in vitro de l'extrait méthanolique et l'extrait aqueux préparés à partir des feuilles du *Zizyphus lotus*. L'analyse qualitative de ces extraits par les tests préliminaires et la CCM a révélé la présence des composés phénoliques, des tanins, des flavonoïdes ; ceci est confirmé par une analyse quantitative basée sur le dosage, des composés phénoliques, des flavonoïdes et des tanins dont les valeurs sont : pour l'extrait méthanolique : les composés phénoliques ($96,13 \pm 12,7$ ug EAG / mg d'extrait), les flavonoïdes ($8,46 \pm 2,96$ ug EQ / mg d'extrait) et les tanins ($0,048 \pm 0,011$ ug ECT / mg d'extrait), et pour l'extrait aqueux : les composés phénoliques ($33,06 \pm 4,75$ ug EAG / mg d'extrait), les flavonoïdes ($6,68 \pm 0,29$ ug EQ / mg d'extrait) et les tanins ($0,042 \pm 0,005$ ug ECT / mg d'extrait).

L'étude de l'activité antioxydante par la méthode du pouvoir anti oxydant par Réduction du Fer (FRAP) a révélé une grande activité antioxydante de l'extrait méthanolique par comparaison avec l'extrait aqueux.

L'activité antimicrobienne a été déterminée sur trois souches bactériennes (Gram+ et Gram-) par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosés solides montrant une grande activité antibactérienne de l'extrait méthanolique par comparaison avec l'extrait aqueux.

Mots clés: *Zizyphus lotus*, activité antioxydante, activité antibactérienne, composés Phénoliques, flavonoïdes, tanins.

ABSTRACT

The present study was conducted on the shrub, called *Zizyphus lotus* L (Rhamnaceae) which is known as Sedra in Algeria. This plant is very well-known in the traditional medicine to cure gastro-intestinal tract, liver and other different respiratory infections. It is also known for its anti-inflammatory, analgesic, anti-ulcer and anti-diabetic properties.

In this study we attempted to evaluate in vitro antioxidant activity and antibacter of the methanolic extract and water extract prepared from the leaves of the *Zizyphus lotus*.

Qualitative analysis of these extracts by preliminary tested and TLC revealed the presence of phenolics compounds, tannins, flavonoids; this is confirmed by a quantitative analysis based on the dosage, phenolic compounds, flavonoids and tannins whose values are: for the methanolic extract : phenolics compounds ($96,13 \pm 12,7$ ugpg EAG / mg extract), flavonoids ($8,46 \pm 2,96$ ug EQ / mg extract) and tannins ($0,048 \pm 0,011$ ug ECT / mg extract), and for aqueous extract: phenolic compounds ($33,06 \pm 4,75$ ug EAG / mg extract), flavonoids ($6,68 \pm 0,29$ pg EQ / mg extract) and tannins ($0,042 \pm 0,005$ ugECT / mg extract).

The study of antioxidant activity by the method of ferricreducing antioxidant power (FRAP) revealed high antioxidant activity of the methanolic extract compared with the aqueous extract.

The antimicrobial sensitivity of the extract towards three bacterial strains (Gram+ and Gram-) was assessed using the disc diffusion agar test ; revealed high antibacter activity of the methanolic extract compared with the aqueous extract.

Keywords: *Zizyphus lotus*, antioxidant activity, antibacter activity, Phenolic compound, flavonoids, tannins.

المخلص

تركز هذه الدراسة على وضع شجيرة السدر يسمي سبتانز هرة اللوتس (Rhamnaceae) *Zizyphus lotus* L

المعروفة في منطقة تلمسان تحت اسم سدر العامية. هذا نبات مفيد في الطب الشعبي لعلاج الجهاز الهضمي والكبد

وأعراض الجهاز التنفسي. ومعروف عنها أنها لا نشطتها : المضادة للالتهابات، والمضادة للمقرح، مسكنة للألم والمضادة

لمرض السكر

كشف التحليلات لعليها هذه المستخلصات بواسطة الاختبار انا التمهيدية وكروماتوغرافيا وجود مركبات الفينول

والعفصو الفلافونيدات. هذا ما يؤكدها التحليل الكمي المعتمد أساسا على حساب تركيز المركبات الفينولية ($12,7 \pm 96,13$)

مكروغرام مكافئ الغاليك / ملغ)، الفلافونويدا ($2,96 \pm 8,46$ ميكروغرام مكافئ الكارسييتين /

ملغ) والعفص ($0,011 \pm 0,048$ ميكروغرام مكافئ الكاتشين / ملغ)، والمستخلص المائي: مركبات الفينولية ($\pm 33,06$)

$4,75$ مكروغرام مكافئ الغاليك / ملغ)، الفلافونويدات ($0,29 \pm 6,68$ ميكروغرام مكافئ الكارسييتين / ملغ) والعفص ($\pm 0,042$)

0.005 ميكروغرام مكافئ الكاتشين / ملغ).

فعالية كبيرة للمستخلص الميثانولي مقارنة مع المستخلص

كشف الدراسة النشاطية المضادة للأوكسدة أبدأ اختبار النشاط (FRAP) المائي

المضاد للجرثيم على 11 سلالة بكتيرية غرام + و غرامو 3

سلالات بكتيرية باستعمال طريقة انتشار الأقراص فعالية كبيرة للمستخلص الميثانولي بمقارنة مع المستخلص

مائي

الكلمات المفتاحية:

السدر، النشاط المضادة للأوكسدة النشاط المضاد للجرثيم المركبات الفينولية، الفلافونويدات والعفص.

الملخص

تركز هذه الدراسة على شجيرة السدر يسمى بستان زهرة اللوتس (*Zizyphus lotus L*) (*Rhamnaceae*) المعروفة في الجزائر تحت اسم السدر. هذا نبات مفيد في الطب الشعبي لعلاج الجهاز الهضمي, الكبد وامراض الجهاز التنفسي. ومعروف عنها بانها انشطة مضادة للالتهابات, مضادة للتقرح مسكنة للالم ومفيدة لمرض السكري. وفي هذا الصدد قمنا بتقييم النشاط ضد الاكسدة والنشاط ضد الميكروبي للمستخلص الميثانولي والمائي لأوراق نبات السدر.

كشفت التحليل النوعي لهذه المستخلصات بواسطة الاختبارات التمهيدية وكروماتوغرافيا وجود مركبات الفينول والفلافونويدات والعفص, هذا ما يؤكد التحليل الكمي المعتمد اساسا على حساب تراكيز المركبات الفينولية $12 \pm 96,13$ ميكروغرام مكافئ الغاليك/ملغ), الفلافونويدا ($2,96 \pm 8,46$ ميكروغرام مكافئ الكارسييتين/ملغ) والعفص ($0,011 \pm 0,048$ ميكروغرام مكافئ الكاتشين/ملغ), والمستخلص المائي: مركبات الفينولية ($4,75 \pm 33,06$ ميكروغرام مكافئ الغاليك/ملغ), الفلافونويدات ($0,29 \pm 6,68$ ميكروغرام مكافئ الكارسييتين/ملغ) والعفص ($0,005 \pm 0,042$ ميكروغرام مكافئ الكاتشين/ملغ).

كشفت الدراسة النشاطية ضد الاكسدة عن طريق ارجاع الحديد فعالية كبيرة للمستخلص الميثانولي مقاومة بالمستخلص المائي. كما اظهرت الدراسة النشاطية المضادة للبكتيريا غرام موجب و غرام سالب باستعمال 3 سلالات بكتيرية باستعمال طريقة انتشار الاقراص فعالية كبيرة للمستخلص الميثانولي مقارنة مع المستخلص المائي.

الكلمات المفتاحية: السدر, النشاط المضاد للاكسدة, النشاط المضاد للبكتيريا, المركبات الفينولية, الفلافونويدات, العفص.

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Partie I

Synthèse bibliographique

Chapitre I. Généralités sur le *Zizyphus lotus*

I.1. Description botanique.....	1
I.2. Nomenclatures du <i>Zizyphus lotus</i>	2
I.2.1. Nom scientifique.....	2
I.2.2. Synonymes.....	2
I.2.3. Noms régional.....	2
I.2.4. Classification botanique.....	2
I.3. Répartition géographique.....	3
I.3.1. Dans le monde.....	3
I.3.2. En Algérie.....	3
I.4. Composition biochimique du <i>Zizyphus lotus</i>	3
I.4.1. Métabolites primaires.....	4
I.4.2. Métabolites secondaires.....	5
I.5. Activités biologiques et thérapeutiques de <i>Zizyphus lotus L.</i>	5
I.5.1. Activités anti-inflammatoires et analgésiques.....	5
I.5.2. Activités antiulcérogènes.....	5

I.5.3. Activités antimicrobiennes.....	5
I.5.3.Activités antioxydante.....	6

Chapitre II. Les plantes médicinales

II.1. Les plantes médicinales.....	7
II.2. Les principes actifs.....	7
II.3. La phytothérapie.....	8
II.4. Pouvoir des plantes médicinales.....	8
II.5. Métabolites secondaires.....	8
II.5.1.Les polyphénols.....	9
II.5.2. Classification des structures phénoliques.....	10
II.5.3. Les flavonoïdes.....	11
II.5.4. Structures chimiques et classification des flavonoïdes.....	11
II.5.5. Les tanins.....	12
II.5.6. Classification des tanins	12
II.6.Les activités biologiques des métabolites secondaires.....	13

Chapitre III. Activités biologiques

III.1. Activité antioxydante.....	14
III.1.1. Les antioxydantes.....	14
III.1.1.1Lesantioxydantes primaires (enzymatiques).....	14
III.1.1.2.Les antioxydantes secondaires (nonenzymatiques).....	15
III.1.1.3.Mécanisme d'action des antioxydants.....	15

III.1.2. Radicale libre (RL).....	16
III.1.3.Stress oxydatif.....	16
III.1.4.Balance Oxydant/Antioxydant et stress oxydant.....	17
III.2.Activité antimicrobienne.....	17
III.2.1.Les antibiotiques.....	18
III.2.2.Les composés phénoliques.....	18

Partie II

Etude expérimental

Chapitre I. Matériel et méthodes

I.1. Matériel.....	19
I.1.1. Matériel végétale.....	19
I.2. Méthodes.....	19
I.2.1. Préparation des extraits Méthanolique et Aqueux à partir des feuilles du <i>Zizyphus lotus</i>	19
I.2.2. Analyse des extraits et Méthanolique et Aqueux du <i>Zizyphus lotus</i>	21
I.2.2.1. Analyse qualitative des extraits du <i>Zizyphus lotus</i>	21
I.2.2.1.1. Tests préliminaires.....	21
I.2.2.1.1.1. Test des composés phénoliques.....	21
I.2.2.1.1.2. Caractérisation des Flavonoïdes	21
I.2.2.1.1.3. Caractérisation des Tanins.....	22
I.2.2.1.1.4.Différentiation des tanins.....	22
I.2.2.1.2. Chromatographie sur couche mince.....	22

I.2.2.2. Analyse quantitative de les extrait MET et AQ des feuillesdu <i>Zizyphus</i> <i>lotus</i>	23
I.2.2.2.1. Dosage des polyphénols totaux.....	23
I.2.2.2.2. Dosage des Flavonoïdes.....	24
I.2.2.2.3. Dosage des tanins condensés.....	24
I.2.2.3. Activités biologique.....	25
I.2.2.3.1. Activité antimicrobienne.....	25
I.2.2.3.1.1.Préparation du milieu de culture.....	25
I.2.2.3.1.2.Stérilisation du matériel	26
I.2.2.3.1.3.Préparation de l'inoculum	26
I.2.2.3.1.4.Ensemencement et dépôt des disques.....	26
I.2.2.3.1.5.Lecture desantibiogrammes	26
I.2.2.3.1.6.Micro-organismes utilisés dans les tests antibactérienne.....	26
I.2.2.3.2. Activité antioxydante	27
I.2.2.3.2.2.Test du pouvoir anti oxydant par Réduction du Fer (FRAP : ferric reducing antioxidant power).....	27

Chapitre II. Résultats et discussion

II.1. Préparation d'extrait aqueux et méthanolique à partir des feuillesdu <i>Zizyphus</i> <i>Lotus</i>	28
II.2. Analyse des extraits aqueux et méthanolique des feuilles du <i>Zizyphus lotus</i>	28
II.2.1. Analyse qualitative de l'extrait AQ et MET.....	28
II.2.1.1. Tests préliminaire.....	28
II.2.1.2. Chromatographie sur couche mince.....	29
II.2.2. Analyse quantitative de l'extrait méthanolique et aqueux des feuilles du	

<i>Zizyphus lotus</i>	31
II.3. Activités biologiques.....	35
II.3.1. Activité antioxydante par la méthode de Réduction de fer (FRAP).....	35
II.3.2. Activité antibactérienne.....	38
Conclusion générale.....	41
Référence bibliographique.....	43

Abréviation

ABS : Absorbance

ASC : Acide Ascorbique

AG : Acide galique

AlCl₃ : trichlorure d'aluminium

AQ : extrait aqueux

BAW: n-Butanol/Acide acétique/eau

CA : Catéchine

CCM: Chromatographie sur couche mince

D.O : Densité optique

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.

ERO : Espèces Réactifs de l'Oxygène

FeCl₃ : Trichlorure de fer

Fe²⁺ : Fer ferreux

Fe³⁺ : Fer ferrique

FRAP : Capacités réductrices ferriques d'antioxydants (Ferric reducing/antioxidant power).

H₃PMo₁₂O₄₀ : acide phosphomolybdique

H₃PW₁₂O₄₀ : acide phosphotungstique

MET : extrait méthanolique

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

OTF : Oligomères flavonoïques totaux

Q : Quercétine

RF : Rapport frontal

RL : Radicaux libres

ROS : Espèces réactifs de l'oxygène

UV : Ultra-violet

µg Eq AG/mg d'extrait: microgramme d'équivalent acide gallique par milligramme d'extrait

µg Eq CT/mg d'extrait : microgramme d'équivalent catéchine par milligramme d'extrait

µg Eq Q/mg d'extrait : microgramme d'équivalent quercétine par milligramme d'extrait

Liste des tableaux

N° de tableau	Titre des tableaux	Page
Tableau 01.	Pourcentage des compositions primaires des différentes organes du <i>Zizyphus lotus</i>	04
Tableau 02.	Composition en métabolites secondaires du <i>Zizyphus lotus</i>	04
Tableau 03.	Les principales classes des composés phénoliques.....	10
Tableau 04.	Les principales activités biologiques des composés phénoliques.....	13
Tableau 05.	Aspect et couleur de l'extrait AQ et MET des feuilles du <i>Zizyphus lotus</i>	28
Tableau 06.	Résultats des tests préliminaires des métabolites secondaires de l'extrait MET et AQ du <i>Zizyphus lotus</i>	28
Tableau 07.	Rapports frontaux et couleurs après révélation	30
Tableau 08.	Teneur des composés phénoliques.....	32
Tableau 09.	Activité antibactérienne de l'extrait AQ et MET.....	39

Listes des figures

N° de figure	Titre des figures	Page
Figure 01.	Feuilles de <i>Zizyphus lotus</i> L.....	01
Figure 02.	Plante <i>Zizyphus lotus</i> L.....	01
Figure 03.	Fruit de <i>Zizyphus lotus</i> L.....	02
Figure 04.	Fleurs de <i>Zizyphus lotus</i> L.....	02
Figure 05.	Aire de répartition du <i>Zizyphus lotus</i> L en Algérie.....	03
Figure 06.	Classification des quelques métabolites secondaires.....	09
Figure 07.	Squelette de base des composés phénoliques.....	10
Figure 08.	Structure de base de flavonoïdes.....	11
Figure 09.	Squelette de base et classification des flavonoïdes.....	12
Figure 10.	Structure des tanins hydrolysables.....	13
Figure 11.	Structure des tanins condensés.....	13
Figure 12.	Les systèmes de défense contre les radicaux libres.....	15
Figure 13.	Régulation de la production des espèces réactif de l'oxygène par les systèmes de défense antioxydant.....	16
Figure 14.	Des équilibre de la balance entre pro oxydant et antioxydant.....	17
Figure 15.	Les feuilles du <i>Zizyphus lotus</i> sec	19
Figure 16.	Le Lyophilisateur	20
Figure 17.	Différentes étapes de préparation de l'extrait AQ.....	20
Figure 18.	Différentes étapes de préparation de l'extrait MET.....	21
Figure 19.	Methode de calcule le rapport frontal	23
Figure 20.	La réaction entre la vanilline est les tanins condensés	25

Figure 21. Chromatographie sur couche mince des extraits AQ et MET.....	29
Figure 22. Chromatographie sur couche mince(révélation par une solution de DPPH)	30
Figure 23. Teneur des composés phénoliques, flavonoïdes, tanins	32
Figure 24. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	33
Figure 25. Courbe d'étalonnage de la quercétine.....	33
Figure 26. Courbe d'étalonnage de la catéchine	34
Figure 27. Réduction du Fer des extraits des feuilles du <i>Zizyphus lotus</i>	36
Figure 28. Réduction du Fer des standards.....	36
Figure 29. Zones d'inhibition obtenues de deux extraits sur <i>E. coli</i>	38
Figure 30. Zones d'inhibition obtenues de deux extraits sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	38
Figure 31. Zones d'inhibition obtenues de deux extraits sur <i>Staphylococcus aureus</i>	39
Figure 32. Structure de la paroi bactérienne	40

INTRODUCTION

GENERALE

Introduction générale

Les plantes médicinales restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments. Elles sont considérées comme source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments (Maurice., 1997). Aujourd'hui, les traitements à base des plantes reviennent au premier plan. En distinguant 2 types de phytothérapie (Lamnaouer., 2000):

- Une pratique traditionnelle, parfois très ancienne, basée sur l'utilisation des plantes médicinales selon les vertus découvertes empiriquement. Selon l'O.M.S., cette phytothérapie est considérée comme une médecine traditionnelle et encore massivement employée dans les pays en voie de développement. C'est une médecine parallèle du fait l'absence d'études Clinique.

- Une pratique basée sur l'avancée scientifique et la recherche des principes actifs des plantes (Larousse., 2001).

L'étude de la chimie des plantes est toujours d'une brûlante actualité malgré son ancienneté. Cela tient principalement au fait que le règne végétal représente une source importante d'une immense variété de molécules bioactives. Cette matière végétale contient un grand nombre de molécules qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie alimentaire, en cosmétologie et en pharmacie. Parmi ces composés on retrouve, les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tannins, les terpènes et les flavonoïdes (Bahorun et al., 1996).

Les radicaux libres (RL) en général et les espèces réactives de l'oxygène (ROS) en particulier sont impliqués dans plusieurs pathologies humaines allant au cancer tout en passant par les maladies cardio-vasculaires, l'arthrite rhumatoïde, le diabète.

Cependant, l'évaluation des propriétés phytopharmaceutiques, antioxydante et antimicrobienne demeure une tâche très intéressante et utile, en particulier pour les plantes d'une utilisation rare ou moins fréquente ou non connue dans la médecine traditionnelle. Ces plantes représentent une nouvelle source de composés actifs (Teixeira da Silva., 2004).

L'objectif de cette étude portent principalement sur la composition chimique et sur l'évaluation *in vitro* des activités antioxydante et antimicrobienne d'extrait méthanolique et aqueux des feuilles du *Zizyphus lotus* (Sedra) plante de la flore algérienne.

Les feuilles du *Zizyphus lotus* possèdent des effets analgésiques attribués à leur contenu en principes actifs ; les flavonoïdes et les saponines, Toutes ces activités confirment l'usage traditionnel de cette plante dans certaines maladies inflammatoires et douloureuses, (Borgi et al.,2007 ; Borgi et al ., 2008).

Pour cela nous nous sommes fixés les objectifs suivants :

Etude *in vitro* qui comporte :

- ✓ Analyse qualitative de l'extrait méthanolique et aqueux des feuilles du *Zizyphus lotus* par les tests préliminaires et la CCM.
- ✓ Analyse quantitative du contenu en polyphénols, flavonoïdes et tanins de l'extrait méthanolique et aqueux des feuilles du *Zizyphus lotus*.
- ✓ Etude de l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique et aqueux, en utilisant la méthode de Réduction de fer (FRAP).
- ✓ Etude de l'activité antimicrobienne des extraits méthanolique et aqueux par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosés solides

PARTIE I

SYNTHESE

BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I

GENERALITES

SUR LE

ZIZYPHUS LOTUS

I.1. Description botanique

Le *Zizyphus lotus* L. est une plante dicotylédone ,issue de la famille Rhamnacée(Rsaissi et Bouchache., 2002) ,appelée localement « Sedra »(Borjet et al.,2007).

C'est un arbrisseau sous forme de buisson ne dépassant pas 2,5m a rameaux flexueux ,très épineux gris blanc poussant en zigzag.(Claudine.,2007).Les feuilles sont petites courtes ,et ovales plus au moins elliptiques de 1 à 2cm de longueur et de 7mm de largeur(Bayerand et Butter.,2000).

Les fleurs de *Zizyphus lotus* L. sont très visibles de couleur jaune avec des sépales ouvertes en étoiles, un ovaire supère bisexuel et fleurissent en juin (Baba Aissa., 1999 ; Claudine., 2007).

Un fruit ovoide_olong, ayant la forme et la grosseur d'une belle olive. D'abord vert puit jaune, il devient rouge foncé quand il est mur, en octobre. Sa pulpe épaisse peut être d'un blanc verdâtre et d'une saveur à la fois douce et acidulée ou brun jaunâtre, un peu glutineuse, à saveur sucrée et fade (Bayer et Butter., 2000).



Figure01. Feuilles de *Zizyphus lotus* L



Figure02 .Plante de *Zizyphus lotus* L

(Tadjnanet,Mai 2017)



Figure03: Fruits de *Zizyphus lotus* L.



Figure 04 : Fleur de *Zizyphus* L.

I.2. Nomenclatures du *Zizyphus lotus*

I.2.1. Nom scientifique

Zizyphus lotus Lam.

I.2.2. Synonymes

Le *Zizyphus lotus* L. appelé également jujubier des Lotophages ou Jujubier de Berbérie (Baba Aissa., 1999).

➤ Autres Synonymes

Zizyphus orthacantha DC, *Zizyphus sativus* creat (Von Maydelle.,1990).

I.2.3. Noms régional

- Français : Jujubier sauvage ou Jujubier des Lotophages, Jujubier, Dindonnier.
- Italien : Giuggiolo selvatico.
- Arabe : Sedrza, Djerdjer, Azar, N' beg (Baba Aissa.,1999 ;Borgi et al .,2007).

I.2.4. Classification botanique

Règne : *Végétale*.

Embranchement : *Spermatophytes*.

Sous embranchement : *Angiospermes*.

Sous classe : *Dicotylédone*.

Ordre : *Celastrale*.

Famille : *Rhamnacées*.

Genre : *Zizyphus*.

Espèce : *Zizyphus lotus* L. (Quezel et Santa., 1962).

I.3. Répartition géographique

I.3.1. Dans le monde

Le genre *Zizyphus* renferme environ 100 espèces principalement existant dans les régions tropicales et subtropicales de l'Asie et des Amériques, tandis que quelques espèces vivent en Afrique et dans les régions tempérées (Bonnet., 2001).

I.3.2. En Algérie

Zizyphus lotus L. est très répandu dans les régions arides d'Algérie du Sud, Ain Ouessara et Maessad (wilaya de Djelfa) à climat aride et Taghit wilaya de Bechar au climat Saharien (Mounni, S., 2008).

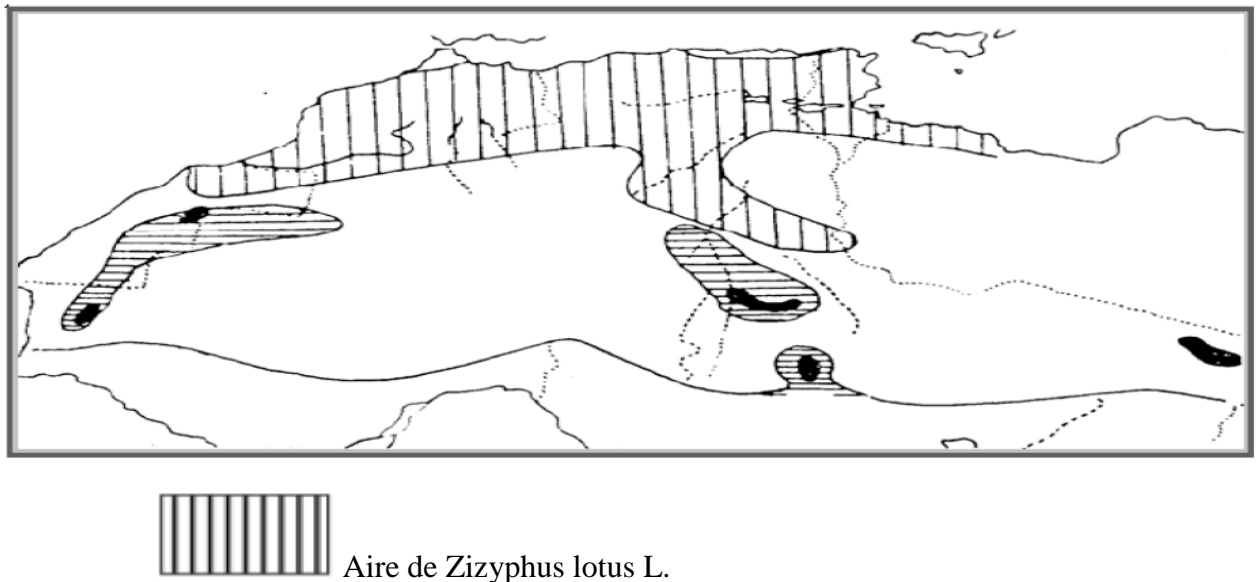


Figure 05. Aire de répartition du *Zizyphus lotus* L en Algérie (Quezel et Santa., 1962)

I.4. Composition biochimique du *Zizyphus lotus*

I.4.1. Métabolites primaires

Les études phytochimiques menées sur le *Zizyphus lotus* montrent la présence des métabolites primaires et secondaires (Catoir et al., 1999).

Tableau 01. Pourcentage des compositions primaires du *Zizyphus lotus* (Chouaibi., 2011).

Vitamines	Vitamine A : Les vitamines sont impératifs en période de croissance (Herberg et al, 1998).
Protéines	19,11%
Carbohydrates	40,87%
Lipides	32,92%
Sucres	20%

I.4.2. Métabolites secondaires

Le *Zizyphus lotus* comme une plante médicinale synthétise des nombreux composés appelés métabolites secondaires tels que les polyphénols (flavonoïdes, tanins), les triterpènes, les anthraquinones, les alcaloïdes (cyclopeptides et isoquinolides), les saponosides (Catoire et al. 1994; Borgi et Chouchane., 2006) .

Tableau 02.Composition en métabolites secondaires des différentes organes du *Zizyphus lotus*

Organe végétal	Composition chimique	Références
Fruits	-flavonoides, tanins saponines, alcaloïdes	(Borgi et al .,2007 (b))
Feuilles	-flavonoides, tanins, alcaloïdes. -saponines de type dammarane : -jujuboside B -jujubogenin glycoside -dérivé sulfaté de jujubasaponine IV	(Borgi et al .,2007 (b)) (Macuek et al .,2004)
Ecorce des racines	-flavonoides, saponines de type damarane. -tanins. -alcaloïde cyclopeptidiques lotusines A-G	(Borgi et al .,2007(a)) (Borgi et al .,2007(b)) (Le crouéour, 2002)

I.5. Activités biologiques et thérapeutiques de *Zizyphus lotus* L

Zizyphus lotus L. est une plante médicinale utilisée dans la médecine traditionnelle de nombreux pays comme sédatif, tonique et anti_inflammatoire (Ghedira., 1995 ; Claudine, 2007 ; Mounni., 2008). Les feuilles du *Zizyphus lotus* possèdent des effets analgésiques attribués à leur contenu en principes actifs ; les flavonoïdes et les saponines (Borgi et al.,2007).Ils sont utilisés aussi contre les piqures des vipères au Sahara (Benchalah., 2004).Le décocte des racines est utilisé par les personnes diabétique comme hypoglycémiant (Lahlou .,2002 ;Allali.,2008)et les fruits sont préconisés dans le traitement de gorge et les affection respiratoire (Baba Aissa.,1999 ;Borgi.,2007).

Zizyphus lotus L.est également utilisé pour soigner le tube digestif et le foie(Baba Aissa.,1999). L'industrie pharmaceutique moderne recherche encore largement sur ladiversité des molécules à différent activités pharmacologiques de *Zizyphus lotus*. Parmi ces effets on souligne les plus importants :

I.5.1. Activités anti-inflammatoires et analgésiques

L'activité anti-inflammatoire est dû aux des saponosides et des oligomères flavonoiques totaux (OTF) des racines .les résultats des travaux de l'équipe de (Borgi et Chouchane .,2007) ont montré que les saponosides et les OTF des écorces de racine de *Zizyphus lotus* L. montrent une inhibition maximale de l'œdème de la patte (induit expérimentalement chez la souris).

De plus même équipe a prouvé que l'autre extrait des racines (aqueux, chloroformique, acétate d'éthyle et méthalonique) et l'extrait des feuilles possédaient des activités anti-inflammatoire et analgésique (Borgi et al. 2008).

I.5.2. Activités antiulcérogènes

Borgi et al. 2008 ont montrés que les extraits aqueux des racines ,des feuilles et des fruits de *Zizyphus lotus* L. possèdent une activité anti_ulcérogénique grâce à la présence des tanins et des flavonoïdes connus par leur effet gasetroprotecteur.

I.5.3. Activités antimicrobienne

Les extraits de *Zizyphus lotus* L. obtenus par épuisements successifs à l'éther de pétrole, au chloroforme, à l'acétate d'éthyle et au méthanol se sont avérés très actifs in vitro vis-à-vis de neufs souches de champignons pathogènes (Lahlou et al., 2002 ; Ghedira et al., 1995) ont rapporté que le mélange des alcaloïdes possède une activité antibactérienne.

I.5.4. Activités antioxydantes

Les concentrations des différentes vitamines (vitamine A , C et E) et les acides gras des racines ,tiges ,feuilles ,pulpe de fruits et de grains de Zizyphus lotus L. sont évaluées l'effet de leurs extraits aqueux sur le statut antioxydant(Benammar.,2010).

CHAPITRE II

LES PLANTES MEDICINALES ET LES COMPOSES PHENOLIQUES

II.1. Définition des plantes médicinales

Les plantes médicinales ont fait l'objet de beaucoup d'études grâce aux principes actifs qui diffèrent d'une plante à une autre créant ainsi une biodiversité remarquable. Plus de cinq mille substances naturelles différentes ont été identifiées (Farombi., 2003).

Les propriétés médicinales des plantes sont dues à des produits bioactives. Les plantes synthétisent de nombreux composés appelés métabolites primaires qui sont indispensables à leur existence. Ceux-ci englobent des protéines, des lipides et des hydrates de carbone qui servent à la subsistance et à la reproduction, non seulement de la plante elle-même mais encore des animaux qui s'en nourrissent.

De plus, les plantes synthétisent une gamme extraordinaire d'autres composés appelés métabolites secondaires dont la fonction est loin de faire l'unanimité. De nombreux métabolites secondaires sont des « antibiotiques » au sens large, car ils protègent les plantes contre les champignons, les bactéries, les animaux et même les autres plantes (Cox et Balick., 1994).

II.2. Les principes actifs

Les plantes médicinales contiennent une infinité de principes actifs dont la nature et les propriétés sont mieux connues.

Les plantes médicinales sont parfois récoltées à l'état sauvage mais beaucoup d'entre elles sont cultivées à grande échelle (Digitale, Pavot, Chanvre, etc.) pour répondre à la consommation. Les méthodes de sélection ou de manipulation génétiques sont également utilisées pour augmenter leur teneur en principes actifs.

Certaines familles sont particulièrement riches en principes actifs (Papavéracées, Apocynacées, Liliacées, Rubiacées, Solanacées, Lamiacées). Certaines plantes sont inoffensives telles que le Tilleul, la Camomille, la Menthe, etc. D'autres, très nombreuses, sont toxiques et ne doivent être utilisées que sous forme pharmaceutique, telle que la Digitale, la Belladone, le Colchique, etc. L'emploi inconsidéré de plantes cueillies dans les champs peut aboutir à des intoxications graves, voire mortelles (Marouf et Reynaud., 2007).

II.3. La phytothérapie

La phytothérapie concerne le traitement des maladies par les plantes ou par leur extraits (Bordeaux., 2009). Il est recommandé d'utiliser la plante entière, appelée aussi «totum» plutôt que des extraits obtenus en laboratoire.

Il existe différents types de phytothérapie :

- L'aromathérapie : c'est une thérapeutique qui utilise les huiles essentielles, substances aromatiques secrétées par de nombreuses familles de plantes.
- La gemmothérapie : se fonde sur l'utilisation d'extrait alcoolique de tissus jeunes de végétaux tels que les bourgeons et les radicules.
- L'herboristerie : correspond à la méthode de phytothérapie la plus classique et la plus ancienne. L'herboriste se sert de la plante fraîche ou séchée, soit entière, soit une partie de celle-ci (écorce, fruits, fleurs). La préparation repose sur des méthodes simples, le plus souvent à base d'eau: décoction, infusion, macération. Ces préparations existent aussi sous forme plus moderne de gélules de poudre de plante sèche que le sujet avale (Besançon., 2012).

II.4. Pouvoir des plantes médicinales

L'action de la phytothérapie sur l'organisme dépend de la composition des plantes, depuis XVIIIème siècle, au cours duquel des savants ont commencé à extraire et à isoler les substances chimiques qu'elles contiennent. On considère les plantes et leurs effets en fonction de leurs principes actifs. La recherche des principes actifs extraits des plantes est d'une importance capitale car elle a permis la mise au point de médicaments essentiels.

Aujourd'hui les plantes sont de plus en plus utilisées par l'industrie pharmaceutique, il est impossible d'imaginer le monde sans la quinine qui est employée contre la malaria ou sans la digoxine qui soigne le cœur, ou encore l'éphédrine que l'on retrouve dans de nombreuses prescriptions contre les rhumes (Iserin., 2001).

II.5. Métabolites secondaires

Les métabolites secondaires des plantes constituent un groupe diversifié de composés chimiques d'origine naturelle (**fig. 6**) qui n'ont généralement aucune fonction primaire évidente en ce qui a trait à la croissance des cellules de la plante. Ils sont synthétisés par la plante en réaction à des stimuli extérieurs et ont souvent une fonction régulatrice dans le cadre d'une série de réactions

physiologiques et métaboliques en cascade à la suite d'un stress environnemental ou d'une attaque par des ravageurs. Lorsque l'on découvre une nouvelle fonction biologique à un métabolite secondaire, ce dernier est généralement reclassifié à titre de vitamine (Benbrook ., 2005).

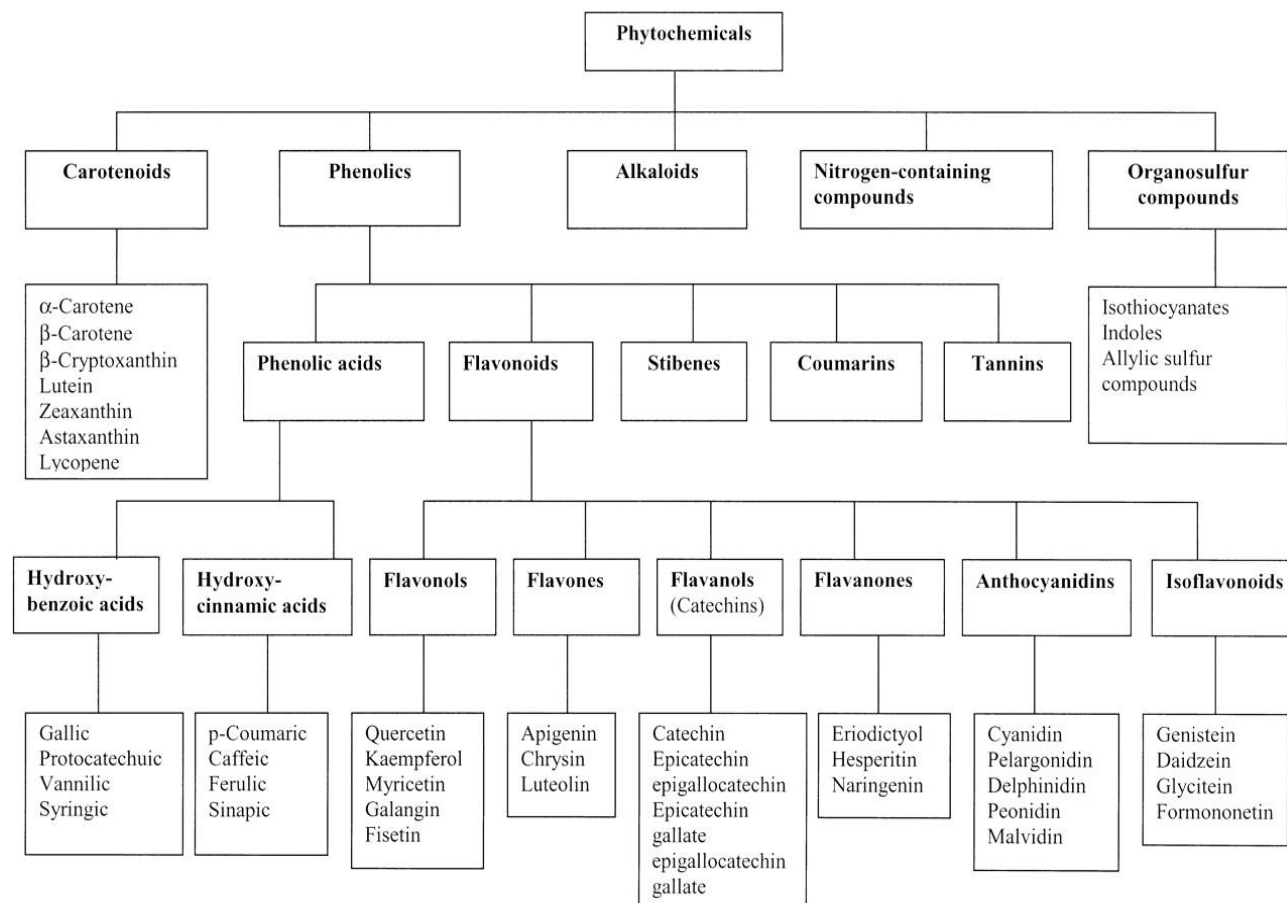


Figure6. Classification des quelques métabolites secondaires (Muanda., 2010).

II.5.1. Les polyphénols

Les polyphénols constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal rencontrées dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Les polyphénols sont des métabolites secondaires, ce qui signifie qu'ils n'exercent pas de fonctions directes au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal, comme la croissance, ou la production (Fleuriet., 1982 ; Yusuf., 2006 ; Bloor., 2001).

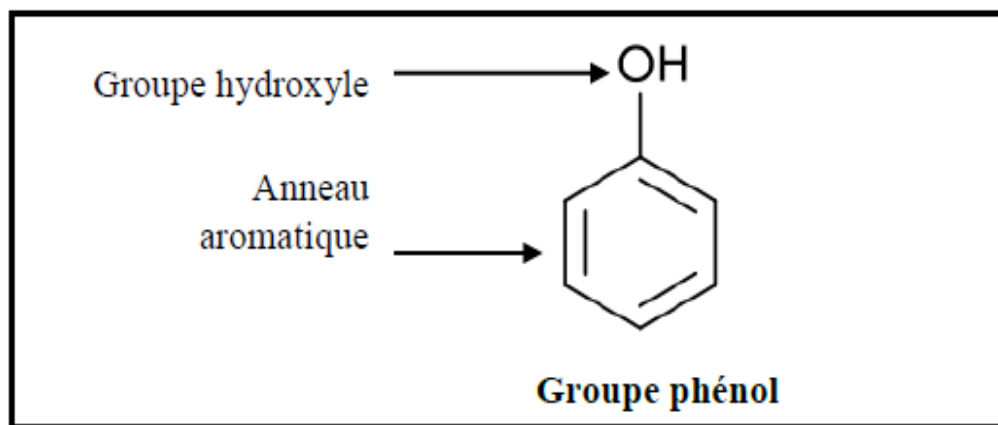


Figure 7. Squelette de base des composés phénoliques (Girotti-Chanu, 2006).

II.5.2. Classification des structures phénoliques

Selon Harborne (1998), la structure chimique des polyphénols est caractérisée par un ou plusieurs noyaux aromatiques hydroxylés. Les polyphénols sont classés en différents groupes en fonction du nombre de noyaux aromatiques qui les composent et des substitutions qui les relient. On distingue les phénols simples (parmi eux les acides phénoliques), les flavonoïdes, les lignanes et les stilbènes (Boros et al, 2010).

Tableau 03. Les principales classes des composés phénoliques (Harborne., 1989; Macheix et al., 2006; Crozier et al., 2006)

Squelette carbonée	Classes
C ₆	Phénols simples
C ₆ -C ₁	Acides hydroxybenzoïques
C ₆ -C ₃	Acides hydroxycinnamiques Coumarines
C ₆ -C ₄	Naphtoquinones
C ₆ -C ₂ -C ₆	Stilbènes
C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoïdes <ul style="list-style-type: none"> • Flavonols • Anthocyanes • Flavanols • Flavanones Isoflavonoïdes
(C ₆ -C ₂) ₂	Lignanes
(C ₆ -C ₃) _n	Lignines
(C ₁₅)	Tannins

II.5.3. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés naturels qui constituent un groupe majeur de polyphénols. Ils sont caractérisés par leur structure aromatique C6-C3-C6 (Fig.8), et qui contiennent les flavones, les flavonoles, les isoflavones, les flavonones et les chalcones. Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux, dont plusieurs sont responsables de la couleur vive des fleurs, des fruits et des feuilles. (Ghedira., 2006).

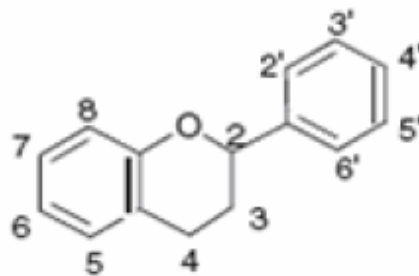


Figure08.Structure de base des flavonoïdes (Pokorny et al.,2001)

II.5.4. Structure chimique et classification des flavonoïdes

Les flavonoïdes ont un squelette de base commun constitué de 15 atomes de carbone assemblés en trois cycles nommés A, C et B. Selon la structure du cycle intermédiaire (cycle C), les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules.

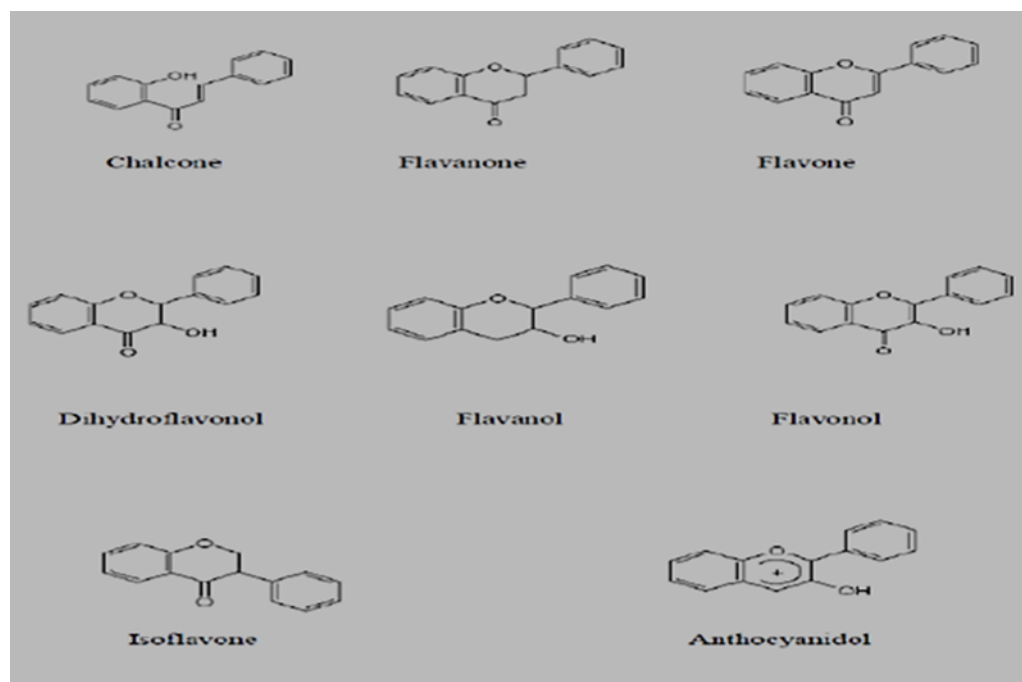


Figure 09. Squelette de base et classification des flavonoïdes (Fiorucci ., 2006).

II. 5.5. Les tanins

Le terme « tannin » ou « tanin » vient de la source de tanins utilisée pour le tannage des peaux d'animaux en cuir. Dans ce processus, les molécules de tanins se lient aux protéines par des liaisons résistantes aux attaques fongiques et bactériennes (Dangles et al., 1992).

Les tanins sont définis comme des composants polyphénoliques dont le poids moléculaire est compris entre 500 et 3000 Dalton (Selvakumar et al., 2007).

II. 5.6. Classification des tanins

Ils peuvent être divisés selon Scalbert, 1991 en deux groupes :

- ✓ Les tanins hydrolysables : appelés tanins pyrogalliques, ce sont des polyesters de glucides et d'acides-phénol. On distingue les tanins galliques et les tanins ellagiques (Ghestem et al., 2001) (Fig.10).
- ✓ Les tanins condensés : leur structure est voisine de celle des flavonoïdes, ils ne possèdent pas de sucre dans la molécule. Ils sont formés de deux ou plusieurs molécules de flavan-3-ols, dont l'union se fait par des liaisons carbone – carbone (Harborne, 1989; Guingard, 1996) (Fig.11).

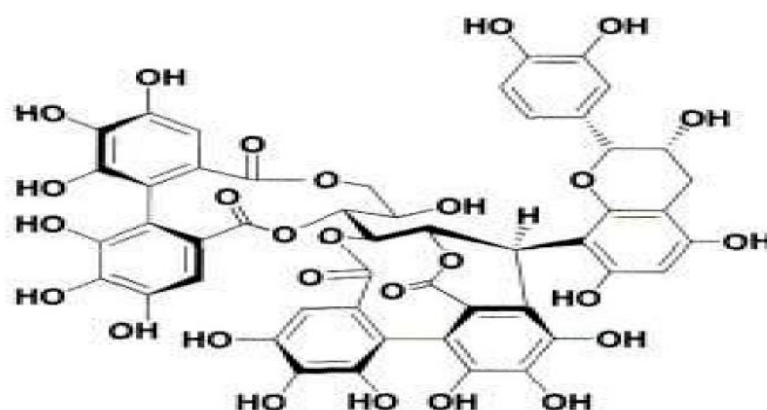


Figure10. Structure des tanins hydrolysables (Bruneton, 1999).

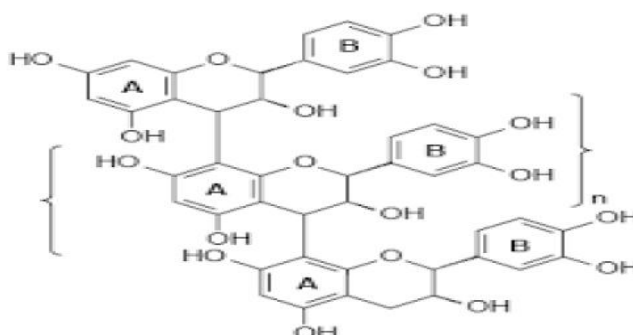


Figure11. Structure des tanins condensés (bruneton, 1999).

II. 5.7. Les activités biologiques des composés phénoliques

Tableau04. Les principales activités biologiques des composés phénoliques

Polyphénols	Activités	Références
Acides Phénols (cinnamiques et benzoïques)	Antibactériennes Antifongiques Antioxydantes	Halliwell, 1994; Cotelle, 2001). (Muanda, 2010)
Flavonoïdes	Antitumorales Anticarcinogènes Anti-inflammatoires Hypotenseurs et diurétiques Antioxydantes	(Milane, 2004) (Cotelle, 2001) (Marfak, 2003 ; Balasundram, 2006)
Tannins galliques et catéchiques	Antioxydantes Antibactériennes	(Bruneton ,1999) (Perret, 2001) (Peronny, 2005) (Chung et Wei, 2001).

CHAPITRE III

ACTIVITE BIOLOGIQUES

III.1. L'Activité antioxydante

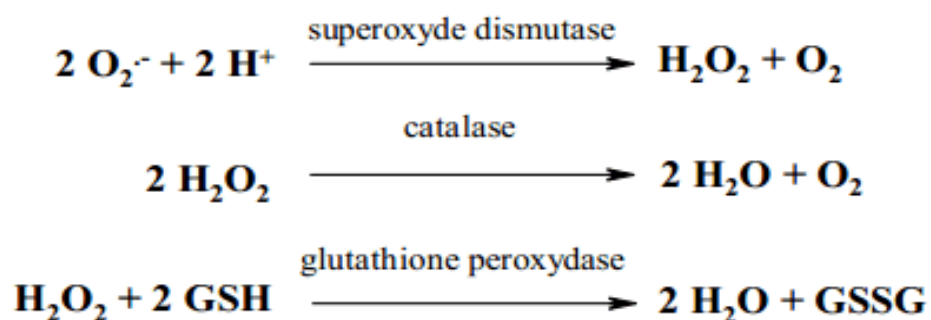
De nos jours, Il existe un intérêt croissant vis-à-vis de la biologie des radicaux libres. Ce n'est pas seulement dû à leur rôle dans des phénomènes aigus tels que le traumatisme ou l'ischémie, mais aussi à leur implication dans de nombreuses pathologies chroniques associées au vieillissement tels que le cancer, les maladies cardiovasculaires et inflammatoires et la dégénérescence du système immunitaire (Guinebert et al., 2005).

III.1.1.les antioxydants

Un antioxydant est une molécule qui diminue ou empêche l'oxydation d'autres substances chimique .Les antioxydants s utilisent pour réduire l'oxydation du produit auquel ils sont mélangés. L'effet des antioxydants provient de deux mécanismes.1) Ils neutralisent les radicaux libres et empêchent les réactions en chaine initialisées par ces derniers.2) Les antioxydants détruisent les hydroperoxydes (composés intermédiaires formant des radicaux libres en interrompant la liaison O-O), diminuant ainsi la vitesse de formation des radicaux libres.(Ribeiro et Bernardo.,2001)

III.1.1.1. Les antioxydants primaires (enzymatiques)

La cellule est pourvue d'enzymes antioxydants qui sont des systèmes de défense très efficaces. Cette ligne de défense est constituée de super oxyde dismutase (SOD), de catalase et de peroxydase (glutathion et ascorbate) (Favier., 2006). Ces enzymes antioxydants permettent l'élimination des radicaux libres primaires, selon les réactions suivantes (Lehucher-Michel et al., 2001).



De ce fait elles préviennent la formation de radicaux libres organiques à partir des lipides membranaires notamment et contribuent donc à la protection des membranes de la peroxydation lipidique (Dacosta, 2003).

III.1.1.2 Les antioxydants secondaires (non enzymatiques)

Ce sont des molécules exogènes. Contrairement aux enzymes antioxydants, une molécule d'antioxydant piège un seul radical libre. Pour pouvoir fonctionner à nouveau, cette molécule d'antioxydant doit donc être régénérée par d'autres systèmes (Fig.) (Dacosta, 2003)

Plusieurs substances pouvant agir en tant qu'antioxydants in vivo ont été proposées. Elles incluent : la vitamine E, l'acide ascorbique, le β -carotène, les flavonoïdes, les composés phénoliques, ...etc. (Kohen et Nyska., 2002)

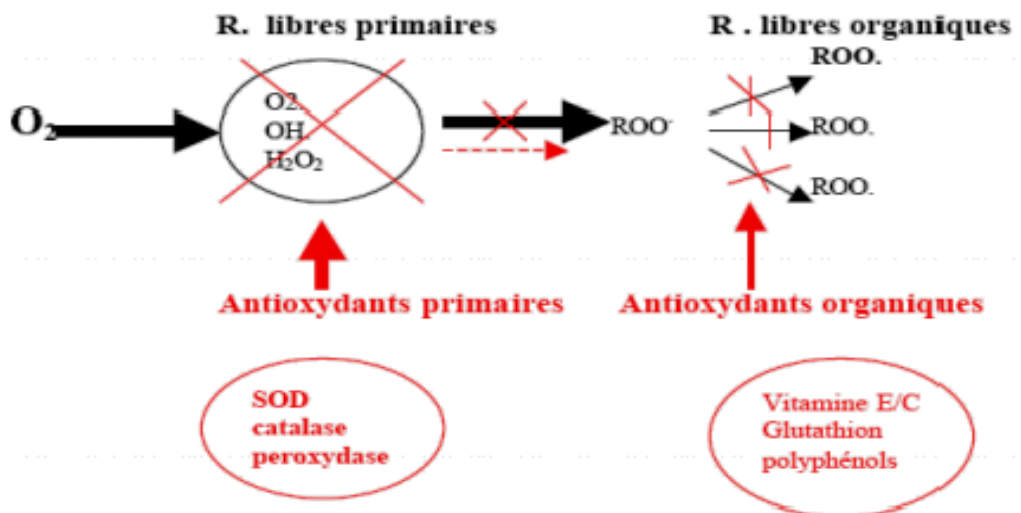


Figure 12 : les systèmes de défense contre les radicaux libres (Kohen et Nyska., 2002).

III.1.1.3. Mécanismes d'action des antioxydants

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulier, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la chélation des métaux de transition (Favier, 2006).

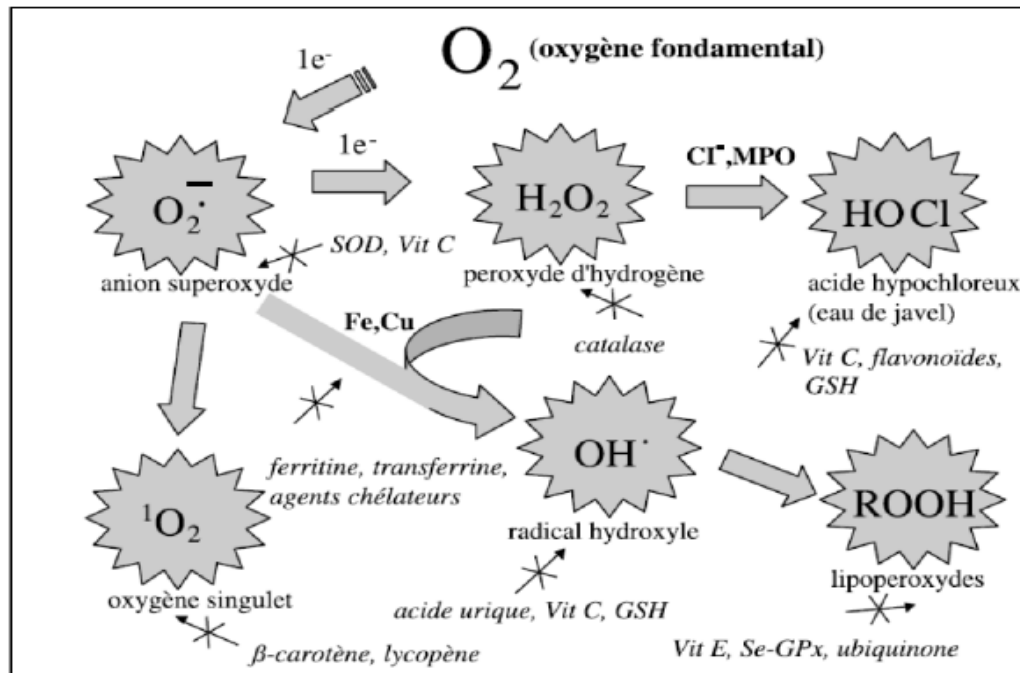


Figure 13. Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydants (Milbury et Richer., 2008)

III.1. 2. Le radical libre (RL)

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules portant un électron non apparié. (célibataire), ce qui le rend extrêmement réactif. (Exemple : l'anion superoxyde $O_2 \bullet^-$, d'où le symbole \bullet indique la présence d'un électron célibataire), 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. C'est typiquement ce qui se passe lors de la peroxydation lipidique (Halliwell., 1994).

III.1.3. Stress oxydatif

Le stress oxydatif se définit comme un déséquilibre de la balance entre le système de défense des antioxydants et la production des espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Sayre et al., 2008 ; Bloomer et al., 2008 ; Power et al., 2010). Ce déséquilibre peut se produire quand le système de défense des antioxydants est surmené par l'augmentation des oxydants ou lorsque les défenses sont affaiblies suite à une carence d'apport et/ou de production d'antioxydants (Kirschvink et al., 2008). Cela entraîne des lésions biochimiques au niveau des cellules de l'organisme du fait de leur conséquence sur le plan moléculaire, telles que les altérations au niveau des protéines,

l'apparition de cassures au niveau de l'ADN, ou des atteintes de l'intégrité de la membrane cellulaire par l'induction de la peroxydation lipidique. (Stadtman et al., 1998 ; Halliwell., 1999; De_Zwart., 1999)

III.1.4. Balance Oxydants /Antioxydants et stress oxydant

Les ROS ont des rôles physiologiques très importants en agissant, à faibles concentrations, sur la régulation des réponses biologiques, la transduction du signal et autres voies de signalisation (Favier., 2003).

Dans l'ensemble de nos tissus sains, les défenses antioxydantes sont capables de faire face et détruire les radicaux produits en excès. On dit que la balance Oxydants /Antioxydants est en équilibre. Mais dans certaines situations, en raison d'une surproduction radicalaire (tabac, alcool, pollution, ...) ou d'une diminution des capacités antioxydantes (insuffisance d'apports des micronutriments antioxydants, inactivation enzymatiques) un déséquilibre entre la production des radicaux libres et le système de défense est à l'origine d'un état redox altéré de la cellule appelé stress oxydatif (Sohal et al., 2002).

Pour enrayer le stress oxydant, il faut donc aider la cellule et l'organisme par l'apport d'antioxydants secondaires (vitamine C, E, caroténoïdes, polyphénols) (Kohen et Nyska., 2002).

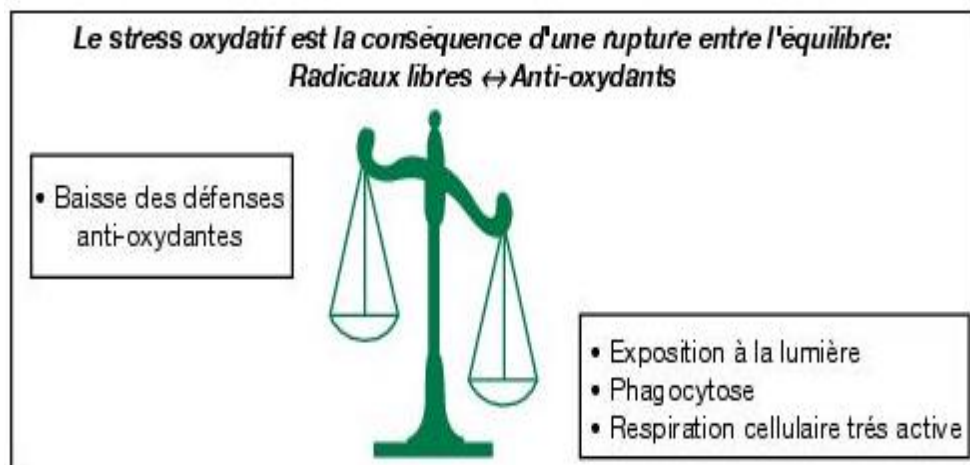


Figure14. Déséquilibre de la balance entre pro-oxydant et antioxydant (Shimizu, 2004).

III.2. Activité antimicrobienne

Dès la naissance, l'homme se trouve en contact avec des micro-organismes qui vont progressivement coloniser son revêtement cutané-muqueux. Pour résister à ces micro-organismes de nombreux moyens sont mis en jeu. On peut schématiquement en distinguer 3 groupes : les

barrières anatomiques, les mécanismes de résistance naturelle (ou innés) et l'immunité acquise (Kaufmann ., 1997).

La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques. La prescription à grande échelle et parfois inappropriée de ces agents peut entraîner la sélection de souches multirésistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers la découverte de nouvelles voies qui constituent une source d'inspiration de nouveaux médicaments à base des plantes (Billing et Sherman., 1998).

Les polyphénols notamment les flavonoïdes et les tannins sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes. Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrolases) ou d'autres interactions pour inactiver les adhésines microbiennes, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire (Cowan ., 1999).

III.2.1 Les antibiotiques

Les antibiotiques, au sens strict, sont des produits élaborés par des micro-organismes, mais on inclut généralement parmi eux les dérivés semi-synthétiques et les produits entièrement synthétiques. La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques qui inhibent sélectivement certaines voies métaboliques des bactéries, sans exercer habituellement d'effets toxiques pour les organismes supérieurs. Cette propriété les distingue des antiseptiques (Bergogne-Berezin et Dellamonica., 1995).

III.2.2. Les composés phénoliques :

Plusieurs études in vitro et in vivo ont été focalisées sur l'évaluation des propriétés antimicrobienne des polyphénols. A l'heure actuelle, cet effet est certain et démontré par de nombreuses recherches expérimentales. Les études du pouvoir inhibiteur des flavonoïdes sur la croissance bactérienne ont démontré que de nombreux composés flavoniques (apigénine, kaempferol et d'autres) sont doués d'un effet important sur différentes souches bactériennes à Gram négatif (*Escherichia coli*) et Gram positif (*Staphylococcus aureus*) (Ulanowska et al. 2007).

PARTIE II

ETUDE

EXPERIMENTAL

CHAPITRE I

MATERIES

ET

METHODES

I.1. Matériel :**I.1.1. Matériel végétale :**

Il est constitué des feuilles du *Zizyphus lotus*, récoltés des régions de Mila(Tadjanet) en Octobre2016. Les feuilles ont été séchées à l'ombre à l'abri de la lumière, à température ambiante.



Figure15 . Les feuilles sèches des *Zizyphus lotus*.

Après séchage, les feuilles ont été broyées pour obtenir une poudre fine, qui a servi pour la préparation de l'extrait aqueux et méthanolique.

I.2.Méthodes**I.2.1. Préparation des extraits MET et AQ à partir des feuilles du *Zizyphus lotus***

Selon la méthode de Bougandoura et Bendimerad (2012) modifiée, deux types d'extraits ont été préparés à partir des feuilles pulvérisés.

➤ **Extrait aqueux**

Une macération aqueuse a été effectuée sur 50 g de poudre des feuilles du *Zizyphus lotus* avec 500 ml d'eau distillée et placés macérée pendant 24 h.

Après filtration, l'extrait a été lyophilisé. (Bougandoura et Bendimerad., 2012).

➤ **Le Lyophilisateur**

La lyophilisation permet par un processus de sublimation d'extraire l'eau d'un produit préalablement congelé. Le procédé a lieu sous vide avec une température du produit

inférieure à -10°C (Delphine, 2008).



Figure16. Le Lyophilisateur (Université Mentourie Constantine1(2015))

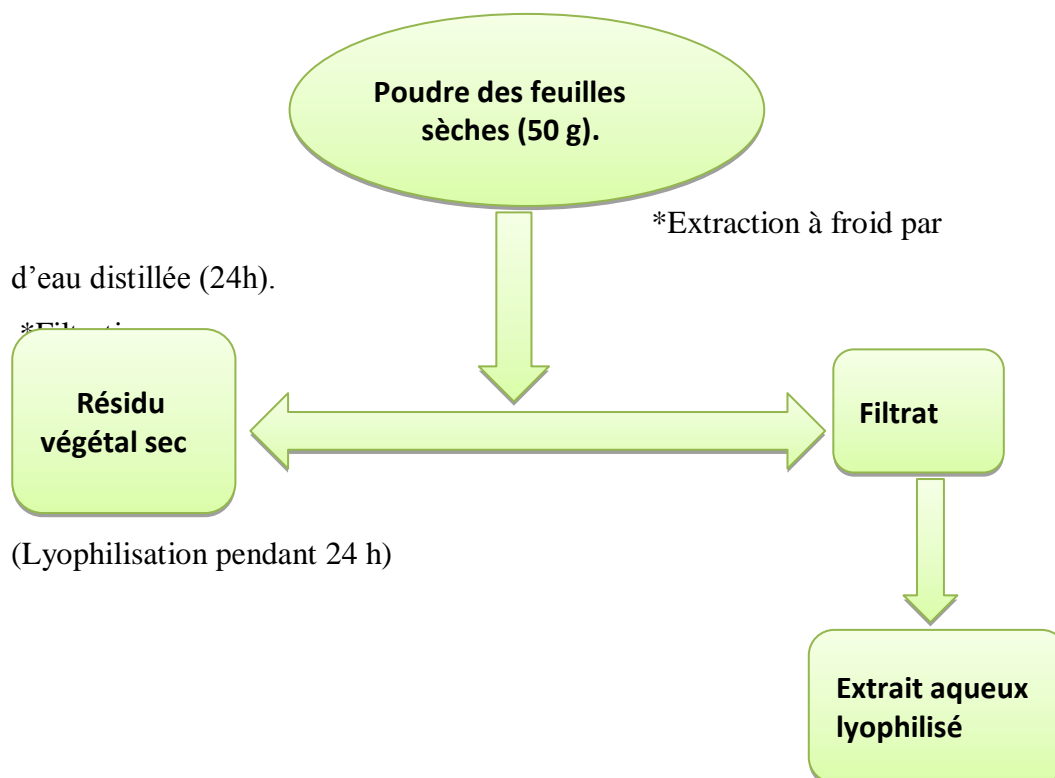


Figure17. Différentes étapes de préparation de l'extrait Aqueux.

➤ Extrait méthanolique

Une prise d'essais de 37,5 g de poudre des écorces des racines a été mise à macérer dans 500 ml de méthanol absolu.

Après filtration, l'extrait a été évaporé à sec sous pression réduite à 45°C au Rotavapor (Bougandoura et Bendimerad, 2012).

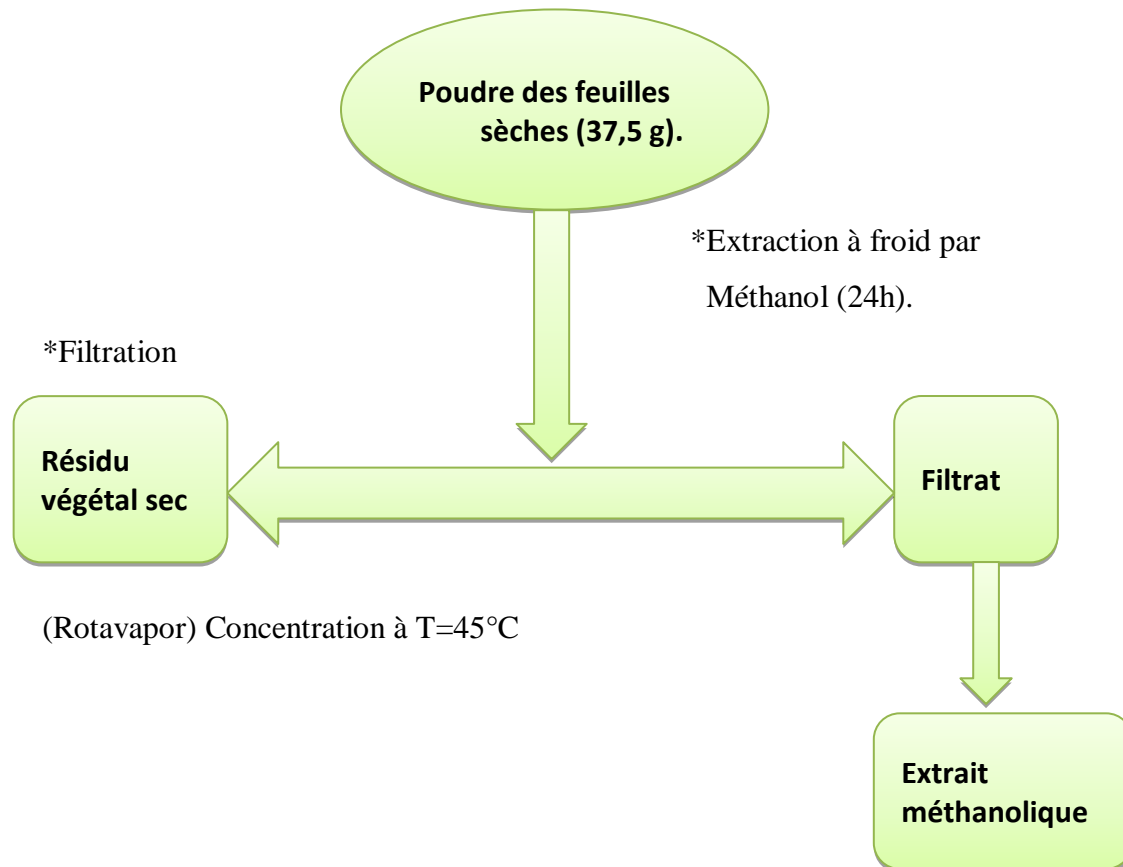


Figure18 . Différentes étapes de préparation de l'extrait Méthanolique.

I.2.2. Analyse des extraits MET et AQ des feuilles du *Zizyphus lotus*

I.2.2.1. Analyse qualitative des extraits MET et AQ

I.2.2.1.1. Tests préliminaires

I.2.2.1.1.1. Test des composés phénoliques

L'extrait (0,1 g) a été dissout dans 3 ml d'éthanol et 5 gouttes de FeCl₃ y ont été ajoutées.

Le développement de la coloration verdâtre a indiqué la présence des phénols (Rosine et Momo, 2009).

I.2.2.1.1.2. Caractérisation des Flavonoïdes

A 3ml de l'extrait (2mg/ml), on ajoute 5ml d'HCl (acide chlorhydrique), puis quelques

morceaux du magnésium. En présence de flavonoïdes, une couleur orange est apparue (Ciulel., 1982).

I.2.2.1.1.3. Caractérisation des Tanins

L'ajout de trichlorure du fer (FeCl_3) 1%, permet de détecter la présence ou non des tanins. La couleur vire au bleu noir en présence des tanins galliques, et au bleu verdâtre en présence des tanins catéchiques (tanins condensés) (Dohou et al., 2003).

I.2.2.1.1.4. Différentiation des tanins

Pour identifier le type des tanins (tanins condensés, tanins hydrolysables), on procède la méthode suivante :

➤ Précipitation par le réactif de Stiasny

A 15 ml de l'extrait, on ajoute 8ml de réactif de Stiasny (formaldéhyde à 30% ; 2 volumes + HCl concentré ; 1 volume), on chauffe le mélange au bain-marie à ébullition pendant 30min.

On note la présence de précipités, donc la présence des tanins condensés. On filtre, puis au filtrat on ajoute l'acétate de sodium jusqu'à saturation. Ensuite on met quelques gouttes de FeCl_3 à 2%. On obtient une coloration bleu-noire, donc la présence des tanins hydrolysables (Mamadou, 2002).

I.2.2.1.2. Chromatographie sur couche mince

Pour une caractérisation de l'extrait (MET et AQ) du *Zizyphus lotus*, on utilise la chromatographie sur couche mince, cette technique de séparation basée sur l'utilisation d'une phase mobile (solvant) le long d'une phase stationnaire (gel de silice), dont la séparation dépend des phénomènes d'adsorption et de partage.

L'analyse des extraits du *Zizyphus lotus* a été réalisée sur des plaques de gel de silice avec indicateur de fluorescent (20x20cm, 60 F254), selon la méthode de Diallo et al., 2004 avec quelques modifications. Chaque extrait est dissous dans son solvant d'origine.

L'analyse de l'extrait polaires MET et AQ est effectuée par un système de séparation BAW (butanol/acide acétique/eau) avec des proportions (60/15/35).

5 μl d'extrait (10mg/ml) et des standards quercétine, catéchine, naringénine, acide gallique et l'epicatéchine (2mg/ml) sont déposés et la plaque est ensuite introduite dans la chambre demigration préalablement saturée par la vapeur de la phase mobile. Après migration, les

plaques sont séchées, puis visualisées par les systèmes de révélation :

- ✓ Révélation physique sous UV à 254nm.
- ✓ Révélation chimique par une solution de l'acide sulfurique 50ml/eau 50ml.
- ✓ Révélation par une solution de DPPH.

Les rapports frontaux (RF) des spots issus de la séparation sont calculés (le rapport frontal est le rapport entre la distance parcourue par la tâche et celle du solvant).

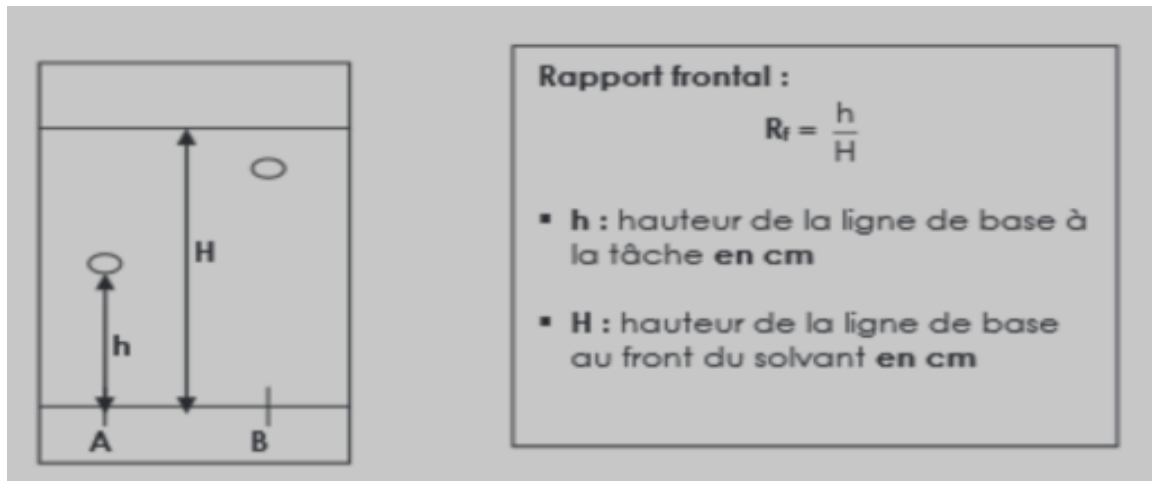


Figure19 .Méthode de calcul le rapport frontal

1.2.2.2. Analyse quantitative des extraits MET et AQ

1.2.2.2.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux dans les extraits des feuilles est effectué selon la méthode de Folincioalceu (Wong et al., 2006).

➤ Principe :

Le réactif de Folincioalceust est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀), il réduit lors de l'oxydation des phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (Boizot et Charpentier., 2006).

Brièvement, 200µl de l'extrait (4mg/ml) est ajouté à 1 ml du réactif de FolinCioalceu (dilué 10 fois par l'eau distillée).

Après 4 min, 800µl de Na₂CO₃ (75g/l) sont ajoutés, après agitation, l'ensemble est incubé à l'ombre pendant 2 heures. L'absorbance est lue à 765nm par un spectrophotomètre.

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique (0-200 µg /ml). Les résultats sont

exprimés en microgramme d'équivalent d'acide gallique par un milligramme de l'extrait (μg Eq AG/mg d'extrait).

I.2.2.2.2. Dosage des Flavonoïdes

La méthode du trichlorure d'aluminium (Bahorun et al, 1996) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les deux extraits (MET et AQ).

➤ Principe :

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement CO, un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium. Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (fer et aluminium). Ceci traduit le fait que le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons (Ribéreau-Gayon et al., 1972).

1ml l'échantillon et du standard (préparé dans le méthanol pour l'extrait MET et dans le l'eau distille pour l'extrait AQ) est ajouté à 1ml de la solution d' AlCl_3 (2% dans le méthanol). Après 10 min, les concentrations des flavonoïdes sont déduites à partir de la gamme d'étalonnage établie avec la quercétine (0-35 $\mu\text{g}/\text{ml}$) et sont exprimées en microgramme d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait (μg EQ/mg d'extrait).

I.2.2.2.3. Dosage des tanins condensés

Le dosage des tanins condensés dans l'extrait du *Zizyphus lotus* est effectué selon la méthode de Broadhurst et Jones (1978), modifiée par Heimler et al (2006).

➤ principe

Ce test est basé sur la condensation des composés polyphénoliques avec la vanilline en milieu acide (Swain et Hillis, 1959 ; Oueslati et al., 2012). qui permet la fixation du groupement aldéhydique de vanilline sur le carbone 6 du cycle A de la catéchine pour former un complexe chromophore rouge qui absorbe à 500nm (Schofield et al., 2001).

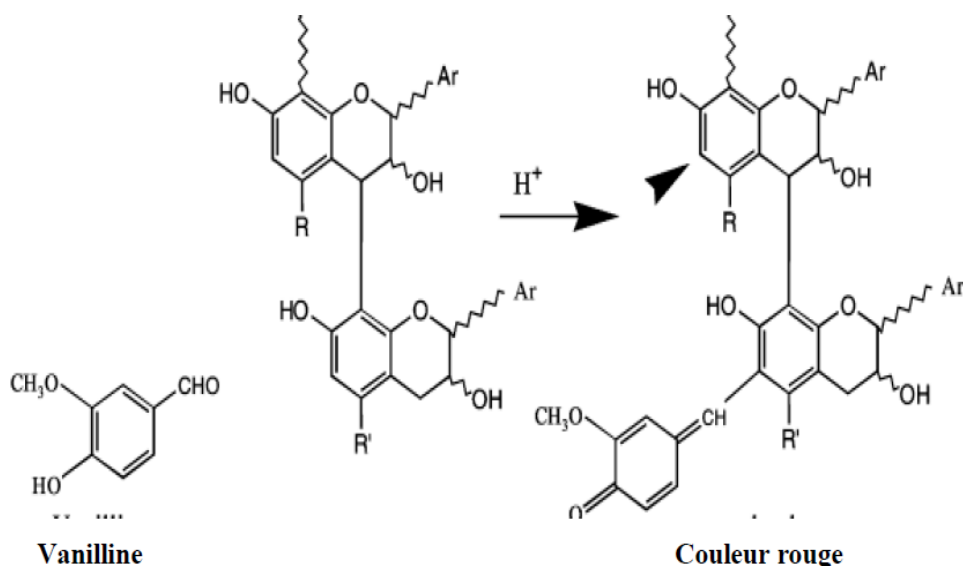


Figure20. La réaction entre la vanilline est les tanins condensés (Schofield et al., 2001)

Pour 400 μ l de l'échantillon ou standard, on ajoute 3ml d'une solution de vanilline (4% dans le méthanol), et 1,5 ml d'acide hydrochlorique concentré. Le mélange est incubé durant 15 min et l'absorbance est lue à 500nm.

Les concentrations des tanins condensés sont déduites à partir des gammes d'étalonnage établies avec la catéchine (0-300 μ g/ml), et sont exprimées en microgramme d'équivalent catéchine par milligramme d'extrait (μ g ECT/mg).

I.2.2.3. Activités biologiques

I.2.2.3.1. Activité antimicrobienne

L'évaluation de l'activité antimicrobienne a été réalisée par la méthode de diffusion de disque où les disques sont imbibés de 10 μ l de chaque extrait (Sokmen et al., 2004).

I.2.2.3.1.1. Préparation du milieu de culture

Le milieu de culture approprié à cette étude est le milieu Muller-Hinton préparé comme suit : Dissoudre 38 g de la gélose Muller-Hinton dans un litre d'eau distillée. Faire bouillir avec agitation jusqu'à dissolution complète, puis auto-claver pendant 15 minutes à 121°C et finalement couler le milieu dans les boîtes de Pétri.

I.2.2.3.1.2. Stérilisation du matériel

L'eau distillée, le milieu de culture, les tubes à essai utilisés dans la préparation des solutions bactériennes et les disques en papier Wattman (6 mm de diamètre) enrobés dans du papier aluminium ont été stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

- Préparation des dilutions d'extraits de *Zizyphus lotus*

Les extraits de *Zizyphus lotus* (préparé dans l'eau distillée pour l'extrait MET et l'extrait AQ) pour préparer les différentes concentrations avec des dilutions successives au demi, sachant que la concentration de la solution mère de chaque extrait est de 10 mg/ml.

I.2.2.3.1.3. Préparation de l'inoculum

Les souches bactériennes sont ensemencées dans la gélose nutritive et incubées à 37°C pendant 24 h, pour optimiser leur croissance. On racle à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et identiques de chacune des souches bactériennes à tester. Décharger l'anse dans 10 ml d'eau distillée stérile, La suspension bactérienne est bien homogénéisée, son opacité doit être équivalente à 0.5 Mc Farlandou à une DO de 0.8 à 0.1 à 600 nm. L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort.

I.2.2.3.1.4. Ensemencement et dépôt des disques

L'ensemencement est réalisé par énonnation sur boîtes Pétri. Les disques imprégnés d'extraits sont déposés délicatement sur la surface de la gélose inoculée à l'aide d'une pince stérile. Finalement, les boîtes de Pétri sont incubées pendant 18 à 24 heures à 37°C.

I.2.2.3.1.5. Lecture des antibiogrammes

La lecture des antibiogrammes a été faite par la mesure des diamètres des halos d'inhibitions au tour des disques.

I.2.2.3.1.6. Micro-organismes utilisés dans les tests antibactérienne

- *Escherichia coli* : (ATCC 8739)

C'est une bactérie à Gram négatif, commensal du tube digestif de l'homme et de l'animal, (Kaper et al., 2004), de forme non sporulée, de type aérobie facultative, généralement mobile grâce aux flagelles, sa longueur varie de 2 à 6 µm, alors que sa largeur est de 1,1 à 1,5 µm, *E. coli* représente la bactérie la plus impliquée dans les infections aiguës d'appareil urinaire, elle provoque également les diarrhées d'été, diarrhée infantile et les intoxications alimentaires (Percival., 2004).

➤ *Staphylococcus aureus* :(NCTC 8017)

Ce sont des cocci Gram positif avec un diamètre de 0,5 à 1,5 µm, de forme non sporulée, qui tendent à se grouper en paires, petites chaînes, elles sont habituellement non capsulée, ou possédant des capsules limitées, elles sont anaérobies facultatives. *Staphylococcus aureus* représente l'agent commun des infections postopératoires de blessures, endocardite aigüe, intoxication alimentaire (Dworkin et Falkow., 2006).

➤ *Pseudomonas aeruginosa* :(ATCC 9027)

Ce sont des bacilles Gram négatif, de forme non sporulée, elles sont aérobies, mobiles grâce à la présence de 1 à 2 flagelles, ce type de bactérie synthétise de types principaux de pigments pyocyanine : bleue phénazine, pyoverdine: jaune vert, il s'agit de bactéries résistantes pour plusieurs antibiotiques (Percival., 2004). *Pseudomonas aeruginosa* est responsable de 16% des cas de pneumonie nosocomiale, 12% des infections urinaires, 8 % des infections suites aux blessures chirurgicales (Van Delden et Iglewski., 1998).

I.2.2.3.2. Activitéantioxydante

I.2.2.3.2.2. Test du pouvoir anti oxydant par Réduction du Fer (FRAP : ferricreducingantioxidant power)

➤ **Principe :**

Le pouvoir réducteur du fer (Fe³⁺) dans les extraits est déterminé selon la méthode décrite par Oyaiz (1986) (Bougandoura., 2013). L'évaluation est basée sur la réaction de réduction du (Fe³⁺) présent dans le complexe ferrocyanure de potassium en (Fe²⁺), la réaction est révélée par le virement de couleur jaune du fer ferrique (Fe³⁺) en couleur bleu vert du fer ferreux (Fe²⁺), l'intensité de cette coloration est mesuré par spectrophotomètre à 700 nm. Le protocole expérimental utilisé est celui de Yildirim et al., 2001.

➤ **Dosage :**

Un millilitre de l'extrait à différentes concentrations (de 0,007à 2,5mg/ml) est mélangé avec 2,5ml d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 2,5ml d'une solution de ferricyanure de potassium K₃Fe(CN)₆ à 1%. L'ensemble est incubé au bain-marie à 50°C pendant 20 min ensuite, 2.5ml d'acide trichloracétique à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction. Les tubes sont centrifugés à 3000 rpm pendant 10min. Un aliquote (2,5ml) de surnageant est combinée avec 2,5ml d'eau distillée et 0,5ml d'une solution aqueuse de FeCl₃

(Chlorure ferrique) à 0,1%. La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700 nm contre un blanc semblablement préparé, en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée ou le méthanol.

Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (Singleton et Rossi., 1965).

CHAPITRE II

RESULTATS ET DISCUSSIONS

II.1. Préparation des extraits MET et AQ à partir des Feuilles du *Zizyphus lotus*

La préparation de l'extrait aqueux à partir des feuilles du *Zizyphus lotus* a été effectuée selon la méthode Boughandoura et Bendimerad (2012) modifiée. La méthode est basée sur la couleur et l'aspect de l'extrait obtenu sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 05. Aspect et couleur de l'extrait AQ et MET des feuilles du *Zizyphus* sur l'utilisation de solvant polaire (eau, méthanol).

Extrait	Aspect	Couleur
AQ	Poudre	Marron clair
MET	Pate	Vert foncé

II.2. Analyse des extraits MET et AQ des feuilles du *Zizyphus lotus*

II.2.1. Analyse qualitative des extraits MET et AQ des feuilles du *Zizyphus lotus*

II.2.1.1. Tests préliminaires

Le tableau ci-dessous représente les différents tests de caractérisation de quelques métabolites secondaires dans l'extrait AQ et l'extrait MET: polyphénols, flavonoïdes et tanins

Tableau 06. Résultats des tests préliminaires de quelque métabolite secondaire des extraits MET et AQ des feuilles du *Zizyphus lotus*.

Métabolite testé	Remarques	Résultats	
		AQ	MET
Composés phénoliques	Couleur Bleu verdâtre	+++	+++
Flavonoïde	Couleur Orange	+ -	+++
Tanins	Couleur Bleu verdâtre	++	+++
Tanins condensés	Formation de précipité	++	++
Tanins hydrolysables	Couleur Bleu noir	--	--

+ Présence, +++ présence plus importantes, + - présence faible, -- absence.

Les essais phytochimiques effectués sur l'extrait (MET et AQ) des feuilles de *Zizyphus lotus* ont révélé la présence des flavonoïdes, dont la couleur orange désigne la présence plus importante des

flavonoïdes de type flavones dans l'extrait MET et en faible présence dans l'extrait AQ.

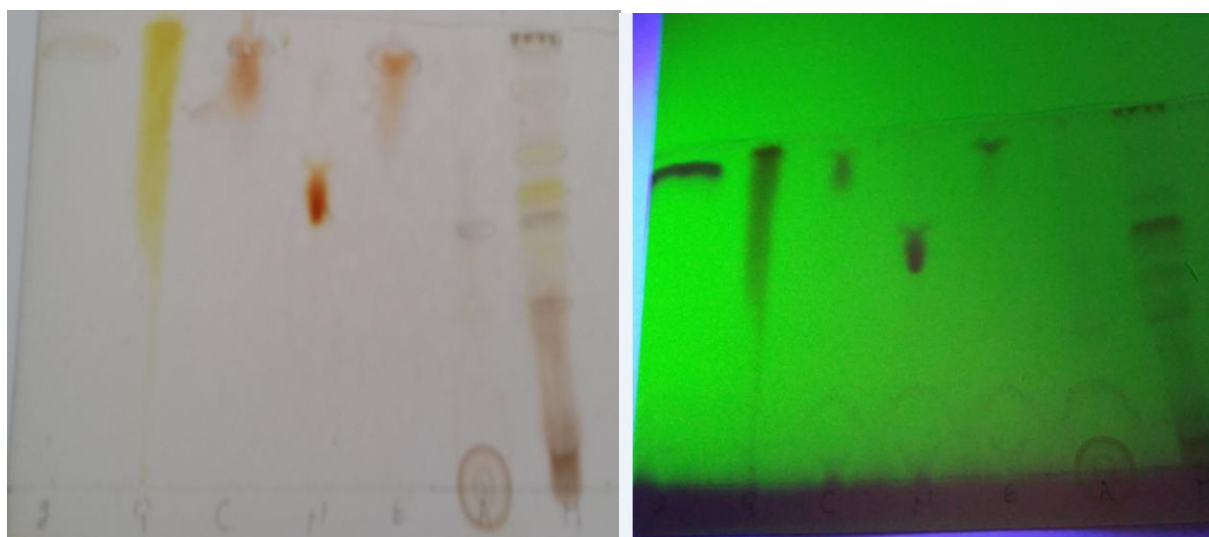
L'apparition de la couleur bleu verdâtre (test de $FeCl_3$) reflète la présence des tanins catéchiques dans les deux extraits.

Pour la séparation entre les deux types de tanins (tanins condensés et tanins hydrolysables), le test Stiasny a été réalisé dont les résultats confirment la présence des tanins condensés et montrent l'absence des tanins hydrolysables dans les deux extraits.

Tous ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Borgi et al. (2007) où l'analyse phytochimique faite sur l'extrait méthanolique et aqueux des feuilles a donné des résultats positifs pour les flavonoïdes et les tanins. Ils ont montré aussi que : l'extrait MET des feuilles riche en composés phénoliques plus que l'extrait AQ.

II.2.1.2. Chromatographie sur couche mince

L'analyse chromatographique sur couche mince (CCM) a été réalisée pour caractériser les différents composés phénoliques des deux extraits du *Zizyphus lotus* (AQ et MET). On utilise le système de migration utilisé (BAW) butanol-acide acétique-eau (60/15/35). Les standards utilisés sont des composés phénoliques. L'acide gallique (G), la quercétine (Q), catéchine (C), épicatechine (E) et Naringine (N).



Révélation par acide sulfurique/eau Révélation UV 254 nm

Figure 21. Chromatographie sur couche mince des extraits MET et AQ des Feuilles

du *Zizyphus lotus* (de gauche à droite : G ; Q ; C ; N ; E ; AQ ; MET).



Figure 22. Chromatographie sur couche mince des extraits des feuilles du *Zizyphus lotus* (Révélation par une solution de DPPH)

Tableau 07. Rapports frontaux et couleurs après révélation.

Standard	RF	Couleur après révélation	
		Acide sulfurique /eau	Lamp UV254nm
Acide gallique	0,892	Marron clair	Sombre
Quercétine	0,952	Jaune	Sombre
Cathéchine	0,928	Orange foncé	Sombre
Naringine	0,595	Jaune Orangé	Sombre
Epicathéchine	0,904	Orange foncé	Sombre
AQ	0,535	Mauve	Sombre
MET	0,392	Marron foncé	Sombre
	0,535	Mauve	Sombre
	0,595	Jaune	Sombre
	0,714	Jaune clair	Sombre
	0,869	Marron clair	Sombre
	0,952	Verdâtre	Sombre

Après révélation chimique (l'acide sulfurique /eau) et par la lampe UV 254nm six taches sont détectées pour l'extrait Methanolique et une seule tache pour l'extrait Aqueux.

- Pour l'extrait MET l'une des taches correspond à la quercétine avec un RF=0,952. Et une autre tache correspond à la Naringine avec un Rf=0,595.

- Pour l'extrait AQ, une seule tache avec un $RF=0,535$. Elle est identique avec une autre tache dans l'extrait MET (même couleur et même RF). Les deux ne correspondent à aucun standard.

Ces résultats indiquent que : les deux extraits contiennent des polyphénols et ont confirmé que l'extrait MET est riche en substances actives plus que l'extrait AQ. La révélation de la plaque par la solution éthanolique de DPPH est une CCM de criblage qui permet l'obtention d'une vue préliminaire sur l'activité antioxydante de l'extrait AQ et MET. Les substances actives sont visualisées comme des taches jaunes (**Figure 22**).

Globalement, l'intensité des taches jaunes est plus dense dans l'extrait MET que l'extrait AQ donc il est riche en molécules actives plus que l'extrait AQ et la faible densité des taches dans ce dernier ne doit pas exclure la présence de substances actives dans cet extrait.

II.2.2. Analyse quantitative des extraits MET et AQ des feuilles du *Zizyphus lotus*

Les analyses quantitatives des phénols totaux, des flavonoïdes et des tanins sont déterminées à partir des équations de la régression linéaire de chaque courbe d'étalonnage. Afin de caractériser l'extrait méthanolique et aqueux préparés à partir des feuilles du *Zizyphus lotus*.

Le choix du dosage de ces substances réside dans le fait que la majorité des propriétés antioxydantes des plantes leur sont attribuées, La méthode du dosage des polyphénols totaux est celle de Folin –Ciocalteu (Wong et al. 2006). L'acide gallique a été utilisé comme standard. Pour les flavonoïdes le dosage a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium (Baharun et al., 1996), en utilisant comme standard la quercétine, enfin celui des tanins condensés a été effectué selon la méthode de vanilline (Broadhurst et Jones, 1978), modifiée par Heimler et al. (2006), en utilisant la catechine comme standard. Les résultats sont représentés dans le tableau 08. Les gammes d'étalonnage dans les **figures 23 ; 24 ; 25 ; 26**.

Tableau 08. Teneur des composés phénoliques

Extrait	Polyphénols ^(a)	Flavonoïdes ^(b)	Tanins ^(c)
AQ	33,06±4,75	6,68±0,29	0,042±0,005
MET	96,13±12,7	8,46±2,96	0,048±0,011

(a) µg d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait.

(b) µg d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait.

(c) µg d'équivalent de catéchine par milligramme d'extrait.

Les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures ± SD.

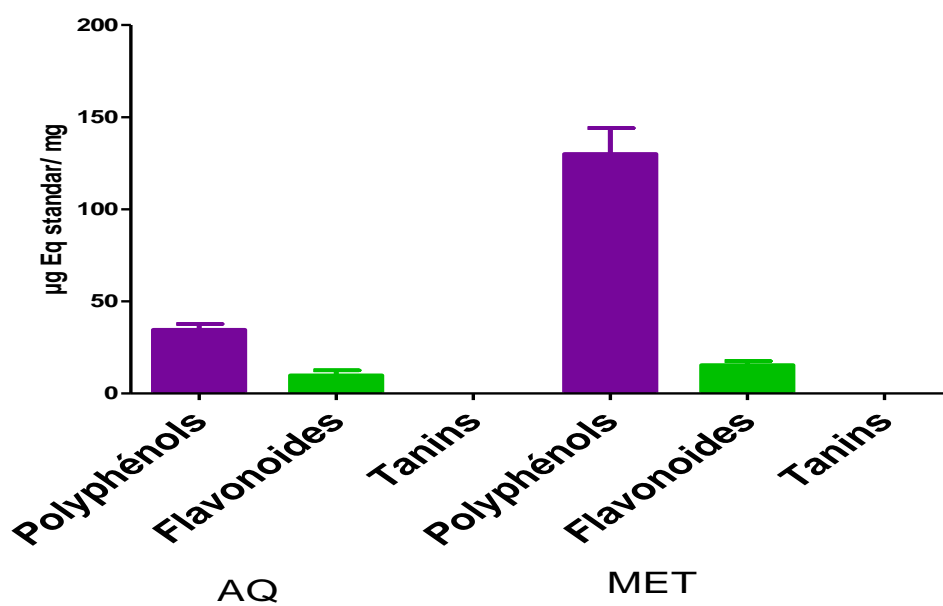


Figure23. Teneur des composés phénoliques, flavonoïdes, tanins en µgEq standard/ mg des extrait AQ et MET.

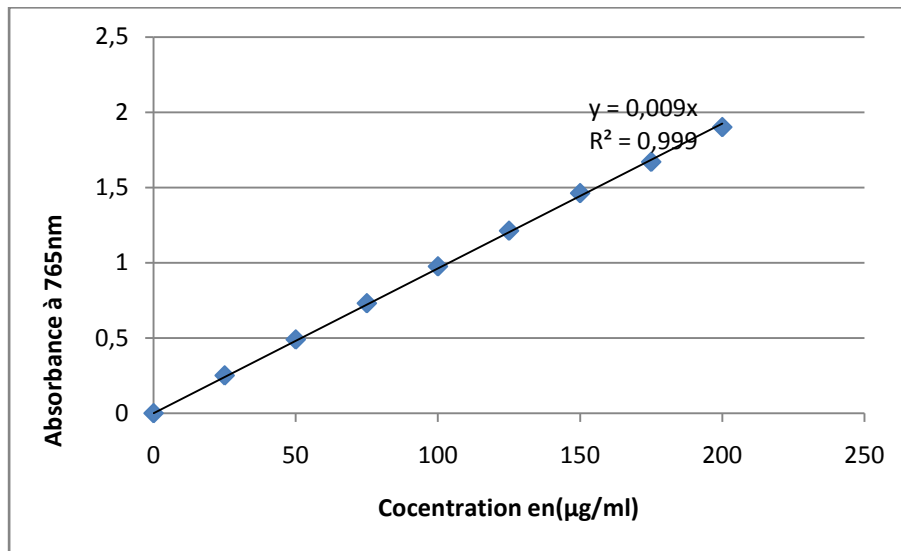


Figure 24. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (moyenne \pm SD de deux essais)

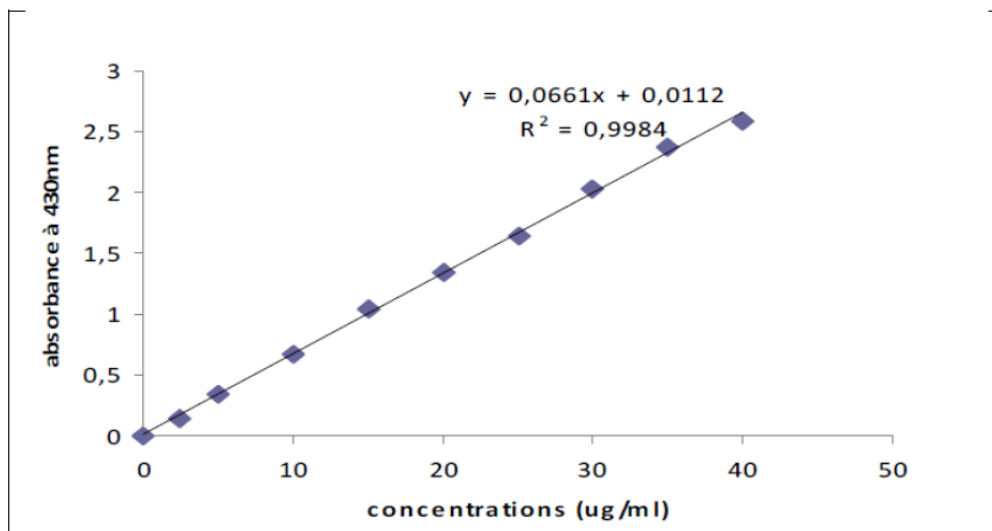


Figure25 . Courbe d'étalonnage de la quercétine (moyenne \pm SD de deux essais)

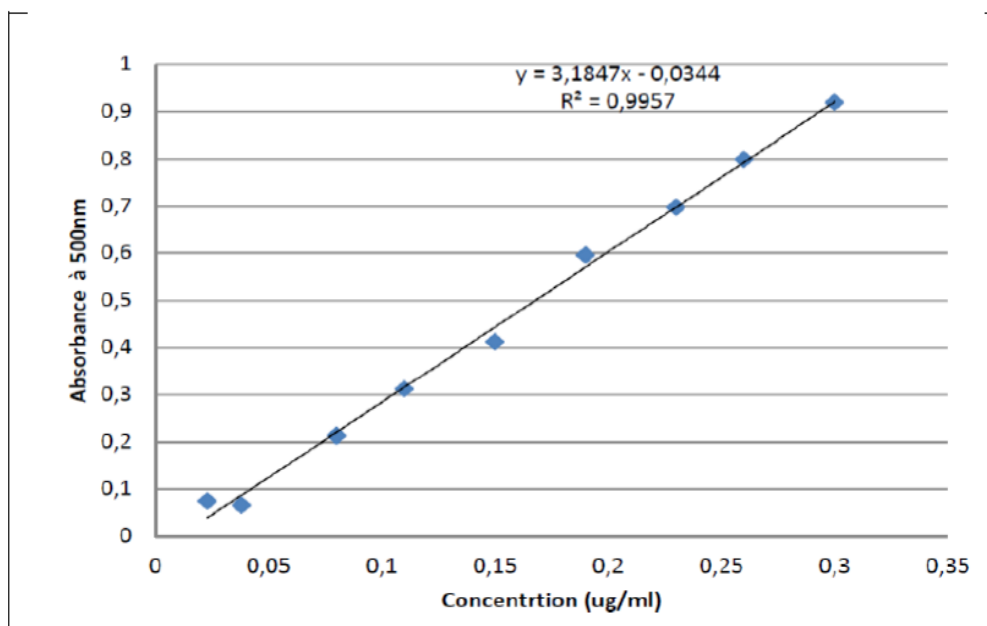


Figure 26 .Courbe d'étalonnage de la catéchine (moyenne \pm SD de deux essais).

Les résultats indiquent que les extraits renferment les teneurs les plus élevées en phénols totaux et les flavonoïdes et des teneurs faibles des tanins.

Par comparaison avec l'étude faite par (Amany et al., 2013) sur le dosage des polyphénols des feuilles de *Zizyphis spina christi* ($0.0722 \pm 0.012 \mu\text{g}/\text{mg}$), les extraits AQ et MET des feuilles de *Zizyphus lotus* apparaît plus riche en polyphénols ($33,06 \pm 4,75 \text{EAG}/\text{mg}$; $96,13 \pm 12,7 \text{EAG}/\text{mg}$). et aussi avec les résultats obtenus par Sazzad et al (2015) ($97.188 \pm 12.816 \text{ mg EAG}$). La teneur des flavonoïdes et tanins de l'extrait méthanolique de *Zizyphus lotus* est de ($8,46 \pm 2,96 \text{mg EQ}$; $0,048 \pm 0,011 \text{mg EC}$) qui sont des valeurs inférieures à celles obtenues par Sazzad et al., (2013) et (28.48 ± 1.290) ($15.009 \pm 0.385 \mu\text{g EQ}/\text{mg}$)

Par comparaison entre les deux extraits AQ et MET des feuilles de *Zizyphus lotus*, il est évident que l'extrait MET est le plus riche en polyphénols, flavonoïdes, et tanins, ceci est en accord avec l'étude récente faite par Bettaieb (2016) qui a trouvé que le méthanol présente le meilleur extractant.

Les feuilles de *Zizyphus lotus* contiennent une quantité importante de composés phénoliques, et il y a une différence entre les teneurs selon le solvant d'extraction.

La comparaison entre la teneur en polyphénols de l'extrait MET et AQ : il y a une différence significative ($p \leq 0,05$). donc l'extrait MET est riche en polyphénols que l'extrait AQ.

Pour les flavonoïdes et les tanins: il n'a aucune différence entre l'extrait MET et AQ .

Ces résultats montrent que les deux extraits AQ et MET ont presque le même teneur en flavonoïdes, tanins mais pas le même en polyphénols ; ce qui indique que l'extrait MET contient des autres types des polyphénols différentes que l'extrait AQ.

II.3.Activités biologiques

II.3.1. Activité antioxydante par la méthode de Réduction de fer (FRAP)

Nous avons étudié l'activité antioxydante des extraits AQ et MET et des feuilles de *Zizyphus lotus*, par la méthode de réduction de fer (FRAP), Cette dernière est un essai simple, rapide et productible. Il est universel peut être appliqué aussi bien chez les plantes dans les extraits organiques et aqueux. afin de tester et de déterminer la concentration d'extrait le plus actif.

La présence des réducteurs dans les extraits des plantes provoque la réduction de Fe^{3+} /complexe ferricyanide à la forme ferreux. Par conséquent, Fe^{2+} peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu dans le milieu réactionnel à 700nm.

Par des dilutions en cascade des différents extraits à tester (0,5 à 10mg/ml) , ainsi que des substances de référence, l'acide ascorbique et l'acide gallique (0.1- 0,005 mg/ml). Pour chaque concentration, nous mesurons les densités optiques à 700 nm.

Les résultats obtenus ont permis de tracer des courbes pour chaque extrait. Les résultats, représentés dans les figures (27,28), nous ont permis de remarquer que la réduction du fer est proportionnelle avec les concentrations utilisées. Une augmentation de l'absorbance signifie une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (Ozturk et al., 2007 ; Su et al., 2008, Liu et al., 2009) .

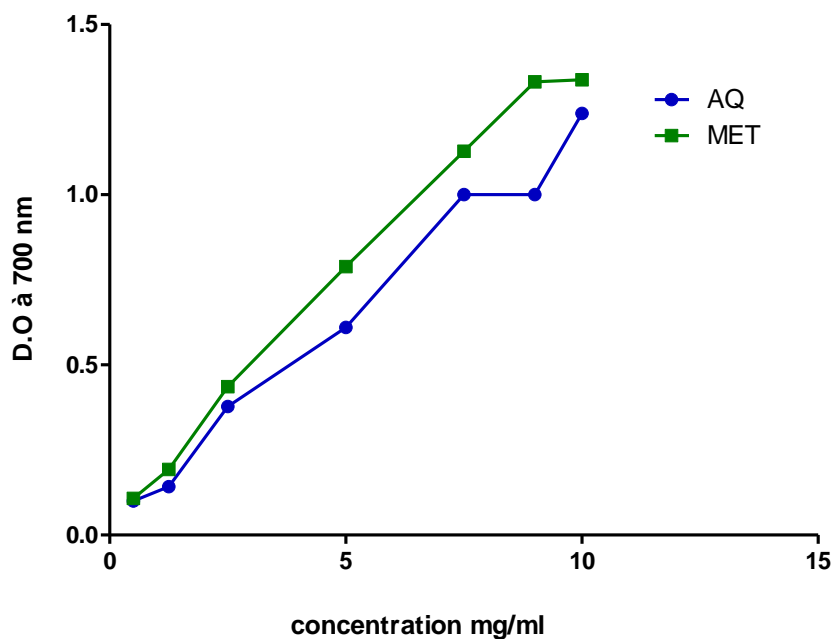


Figure 27. Réduction du fer des extraits des feuilles du *Zizyphus lotus*.

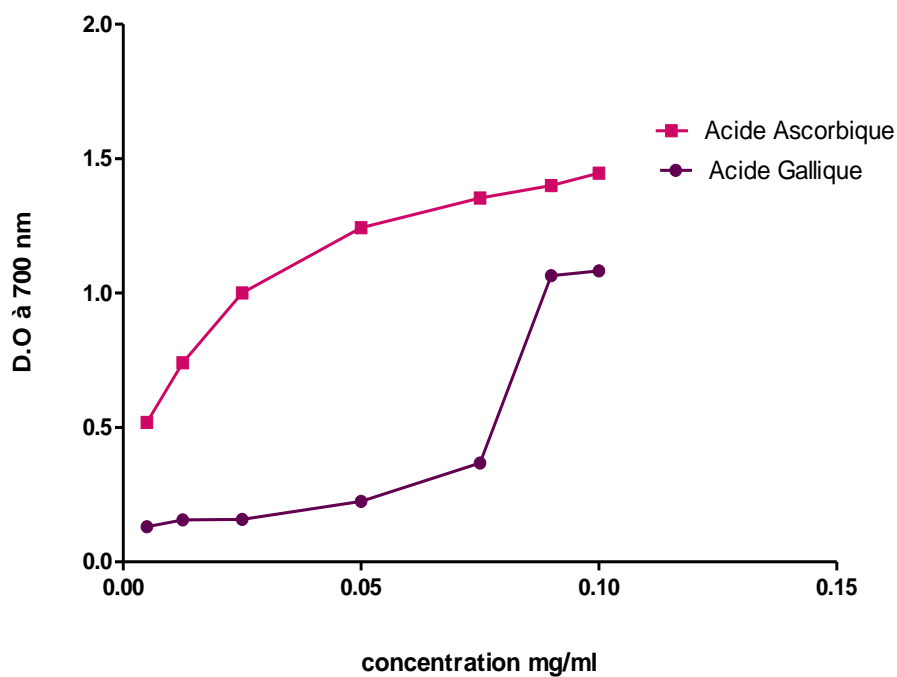


Figure 28. Réduction du fer des standards (Acide gallique et acide ascorbique).

D'après les résultats, on remarque que : la capacité de la réduction est proportionnelle à la concentration des échantillons. C'est à dire le pouvoir réducteur et les concentrations dépendantes.

Par comparaison, l'acide ascorbique présente une activité antioxydante nettement supérieure à celle de l'acide gallique.

Les deux extraits AQ et MET ont une activité antioxydante, mais l'extrait MET avec une grande capacité. Pour ce dernier la réduction est presque totale à partir d'une concentration de 9mg/ml.

Donc ces résultats montrent la présence des composés biologiquement actifs dans l'extrait MET qui donnent la grande capacité de réduction.

Le profil de figure montre que: Il y a une corrélation hautement significative ($p \leq 0.01$) entre les différentes concentrations d'acide ascorbique et l'activité antioxydante ($R^2=0,89$).

Pour l'acide gallique : il y a une corrélation hautement significative ($p \leq 0,01$) entre leur concentration et l'activité antioxydante ($R^2=0,77$).

Il y a une corrélation très hautement significative ($p \leq 0,001$) entre les concentrations d'extrait MET et l'activité antioxydante ($R^2=0,99$).

Pour l'extrait AQ : il y a une corrélation très hautement significative ($p \leq 0,001$) entre leur concentration et l'activité antioxydante.

Pour les concentrations (0,5mg /ml et 10mg/ml) : l'extrait MET est plus actif que l'extrait AQ avec une différence très hautement significative ($p \leq 0,001$).

Par conséquent, l'extrait MET des feuilles du *Zizyphus lotus* révèle une meilleure activité antioxydante totale par rapport à l'extrait AQ. Ce qui d'accord avec l'étude de **Sun et al., 2007** qui ont montré que le méthanol reste le mieux solvant choisie pour extraire les antioxydants d'une plante.

D'autre part, ces résultats de pouvoir réducteur confirment qu' il y a une relation entre le teneur en polyphénols, les flavonoïdes et les tanins dont l'extrait MET le plus riche en ces molécules et le plus actif. Ce qui confirme les résultats du test DPPH.

En générale, le potentiel réducteur des extraits végétaux est dû à la présence de molécules capables de donner des électrons qui peuvent réagir avec les radicaux libres et les convertir en produits stables, parmi lesquelles les polyphénols, ce qui explique le potentiel réducteur de l'extrait MET des feuilles du *Zizyphus lotus* riche en polyphénols.

II.3.2. Activité antibactérienne

Nous avons étudié in vitro le pouvoir antimicrobien des extraits préparés des feuilles du *Zizyphus lotus* par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosés solides, Mueller-Hinton.

L'activité antimicrobienne des extraits a été estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les extraits à tester vis-à-vis les bactéries Gram(+) : *Staphylococcus aureus*, et Gram(-) : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*. (Figures 29 ; 30 ; 31), Tableau 9.



Figure 29. Zones d'inhibitions obtenues de deux extraits sur *E.coli*.

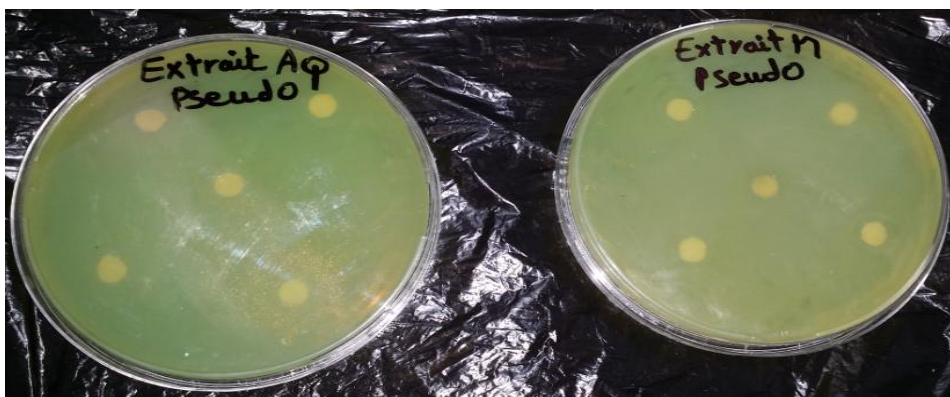


Figure 30. Zones d'inhibitions obtenues de deux extraits sur *Pseudomonas*



Figure 31. Zones d'inhibitions obtenues de deux extraits sur *Staphylococcus*

Tableau 9. Activité antibactérienne de l'extrait AQ et MET (diamètres des zones d'inhibition de

Les souches testées	Dilutions de L'extrait AQ mg/ml					Dilutions de L'extrait MET mg/ml				
	10	5	2,5	1,25	0,625	10	5	2,5	1,25	0,625
<i>Escherichia coli</i>	9,5±3,53	12,5±0,7	4±2,12	8,5±0,7	10±2,82	10±9,89	10±7,07	12±9,89	11±8,48	10±7,07
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10,5±0	10,5±0,7	11±0	9,5±0,7	13±1,41	11±1,41	12,5±2,12	13±1,41	12±0	10±0
<i>Staphylococcus aureus</i>	13±9,19	11±7,77	11±7,77	10±7,07	10±7,07	11±7,77	12±8,48	12±8,48	15±1,06	17±12,02

Les valeurs sont une moyenne de 2 essais ± SD (les zones sont mesurées en mm)

Les deux extraits AQ et MET des feuilles du *Zizyphus lotus* sont révélés actifs avec un degré différent, lié au contenu des extraits aux substances à activité antimicrobienne.

D'après les résultats obtenus, il apparaît que toutes les souches bactériennes testées sont inhibées par nos extraits à différentes concentrations. Ce qui confirme le spectre large de l'activité antimicrobienne de ces extraits.

L'extrait MET fait une grande zone d'inhibition (17 mm) avec *Staphylococcus aureus* (Gram+), ce qui confirme que l'extrait MET est plus actif avec les (Gram+) qui sont constituées par une seule couche alors que la paroi cellulaire des Gram négatifs a une structure multicouche liée par une membrane cellulaire externe donc l'inhibition de ce genre de bactéries est difficile.

Pour *Pseudomonas aeruginosa* (Gram-), *Escherichia coli* (Gram-), les zones d'inhibition

Obtenues des deux extraits sont presque similaires avec toutes les dilutions, donc il n'y a pas une

activité concentration dépendante.

Il y a aucune corrélation significative entre la zone d'inhibition et la concentration des extraits.

Ces résultats montrent que l'extrait MET a une grande activité anti bactérienne que l'extrait AQ ce qui confirme sa richesse en composés actifs.

Il est apparaît que le *Staphylococcus aureus* (gram positive) est la bactérie la plus susceptible par comparaison avec les autres souches (gram négative) ; ceci peut être attribué à la différence de la structure entre les bactéries gram positives et les bactéries gram négatives. La paroi cellulaire des bactéries gram positives est constituée par une seule couche alors que la paroi cellulaire des gram négatives a une structure multicouche liée par une membrane cellulaire externe (Ali-Shtayeh et al ., 1998) (Figure 32)

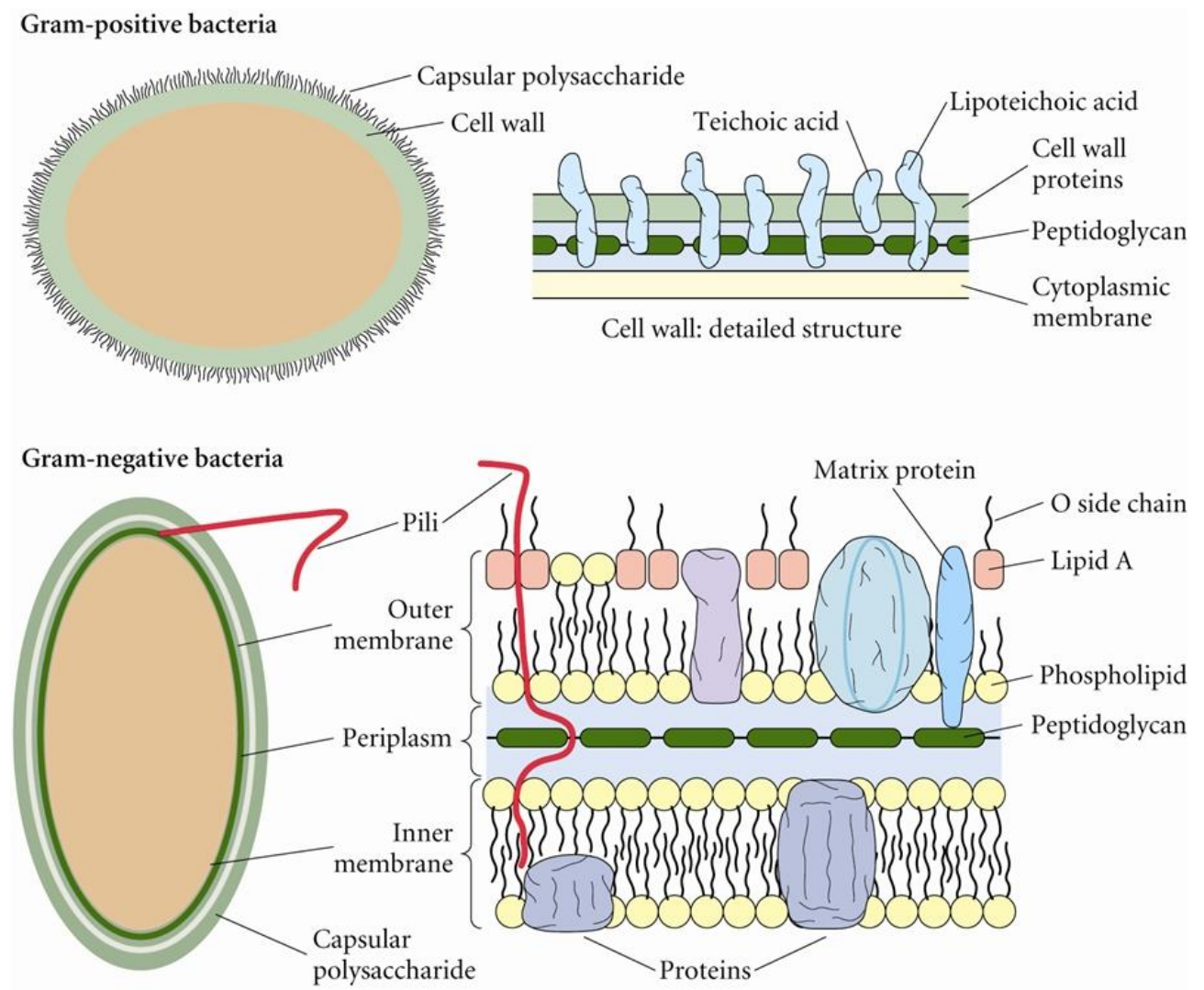


Figure 32 .Structure de la paroi bactérienne (Ali-Shtayeh et al ., 1998)

CONCLUSION

GENERALE

Conclusion général

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Une étude des propriétés antioxydants et antimicrobiennes a concerné une plante appartient à la famille des Rhamnacées, employée en Algérie gras à ses propriétés thérapeutiques.

L'analyse qualitatif effectuée par les tests préliminaire qui permet de révéler la présence des composés phénoliques ,des flavonoïdes et des tanins dans ces extraits ,et la chromatographie sur couche mince sur gel de silice (CCM) a démontrés après révélation physique et chimique la présence d'une multitude de variétés des composés phénoliques :la Quercitine et la Naringine dans l'extrait méthanolique et aucune molécule dès notre standard dans l'extrait aqueux.

Quantitativement, l'évaluation du contenu des polyphénols totaux en adoptant la méthode de Folin-Ciocalteu révèle la présence des quantités importantes en polyphénols dans les deux extraits AQ et MET. De même nous avons dosé les flavonoïdes par la méthode d'AlCl₃ qui nous mène à conclure que cette plante contient une quantité considérable de flavonoïdes. Il ressort de ces analyses que les extraits AQ et MET des feuilles du *Zizyphus lotus* est riche en flavonoïdes de types flavones et flavonols.et les tanins en faibles quantités dans les deux.

Le potentiel anti radicalaire des extraits a été déterminé par la méthode de Réduction de fer (FRAP).les résultats montrent que ces extraits possèdent une activitéantioxydante et l'extrait MET plus actif que AQ grâce à son richesse en composé phénoliques.Donc cette plante contient des molécules qui sont considérées comme des agents antioxydants de première classe et peuvent être employées pour des applications thérapeutiques, et le méthanol a une grande capacité extraire ces molécules.

Au cours de cette étude nous avons réalisé également un test antimicrobiennevis-à-vis 3 bactéries, les résultats microbiologiques ont montré que les extraits AQ et Met des feuilles du *Zizyphus lotus*ont une activité antimicrobiennesur ces 3 souches bactériennes, On considère que l'activité est fort sur les souches de Gram + et faible sur les souches Gram - ,Cette forte activité est appliqué encore par l'extrait MET.

En fin, la biodiversité des plante médicinale traditionnellement connu dans notrepaysse caractérise par un réservoir assez important de métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques particulières qui demandent d'être exploitées par les recherches, de cet effet, et comme perspectives on propose de :

- ✓ Déterminer de nouvelles substances bioactives naturelles pourront répondre aux différents problèmes de la santé et d'être un alternatif des médicaments synthétiques.
- ✓ Développer des médicaments antiradicalaires à base de plantes, doués d'une activité antioxydante.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUE

Références bibliographique

A

Allali, H., Benmehdi, H., Dib, M.A., Tabti, B., Ghalem, S., and Benabadji, N. (2008) .

Phytotherapy of diabetes in west Algeria. *Asian Journal of Chemistry*, 20 (4):2701-2710

Ali Shtayeh M-S ., Yaghmour R-M-R ., Faidi Y-R ., Salem K ., Al Nuri M-a. (1998).

Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area. *Journal of Ethno Pharmacology*, 60:265-271

B

Baba Aissa, F. (1999). Encyclopédie des plantes utilisées. Flore d'Algérie et du Maghreb – Substance végétale, Edition Librairie Moderne, Rouiba, p. 145.

Balasundram N., Sundram K., Samman S. (2006). Phenolic compounds in plants and agriindustrial by-products: Antioxidant activity, occurrence and potential uses. *Food chemistry*, 9: 191-203.

Bruneton J. (1999). Les tanins. Ed. Editions médicales internationales, Paris, 369-404.

Bahorun T. (1997). Substances Naturelles actives. La flore Mauricienne .une source d'approvisionnement potentielle Food and Agricultural Research council Mauritiass, 83-94.

Benammar C., Hichami A., Yessoufou A., Simonin A-M, Belarbi M., Allali H. et Khan N.A. (2010). *Zizyphus lotus* L. (Desf.) modulates antioxidant activity and human T-cell proliferation. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 10

Benchalah, A., Bouziane, H., and Maka, M. (2004) . Fleur du Sahara, arbres et arbustes, voyage au coeur de leurs usages avec les Touaregs du Tassili. *Phytothérapie*, 6; 191-197.

Besançon, (2012). Progrès en dermato - Allergologie. Ed. John libbey Eurotext. Paris: 111p.

Bergogne-Berezin E and Dellamonica P, (1995). Antibiothérapie en pratique clinique. Ed. Masson, Paris, p. 486.

Billing J. and Sherman P. W, (1998). Antimicrobial Functions of Spices: Why Some Like it

Hot. Q. Rev. Biol. 73: 3-49.

Bloor S. J., (2001). Overview of methods for analysis and identification of flavonoids.

Method. Enzymol. 335: 3-14.

Bordeaux, (2009). Progrès en dermatologie - Allergologie. Ed. John Libbey Eurotext, Paris: 251p.

Borgi W et Chouchane N. (2006). Activité anti-inflammatoire des saponosides des écorces des racines de *Zizyphus lotus* (L). Revue des Régions Arides, 283-286.

Borgi W., Ghedira K., Chouchane N. (2007(a)). Anti-inflammatory and analgesic activities of *Zizyphus lotus* root barks. Fitoterapia. 78:16-19.

Borgi W., Bouraoui A., Chouchane N. (2007(b)). Antiulcerogenic activity of *Zizyphus lotus* (L.) extracts, Journal of Ethnopharmacology, 12:228-231.

Borgi W., Recio M-C., Rios J-L., Chouchane N. (2008). Anti-inflammatory and analgesic activities of flavonoid and saponin fractions from *Zizyphus lotus* (L.) Lam. South African Journal of Botany, 14:320-324.

Bougandoura N., et Bendimerad N. (2012). Effet antifongique des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. (*Nepeta*) briq. Revue des BioRessources, 2 :1-7.

Bayer, E., and Butter, K. (2000). Guide de la flore méditerranéenne p. 280.

Bonnet, J. (2001). Larousse des arbres - Dictionnaire des arbres et des arbustes p. 512.

Boizot Net Charpontier J. P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Le Cahier des Techniques de l'Inra, 79-82.

C

Catoire C., Zwang H and Bouet C. (1999). Le jujubier ou le *Zizyphus lotus*. Fruits oubliés. Article n°1.

Chung K-T. and Wei C-I. (2001). Are tannins a double edged sword in biology and health Trends in Food Science and Technology, 9: 168-175.

Ciulel I. (1982). Methodology for analysis of vegetable drugs. Ed I.P.A.C. Romania. 67p.

Claudine, R. (2007). Le nom de l'arbre : le gnenadier, le caroubier, le jujubier, le pistachier et l'arbusier. Actes sud le Majan, 1er Edition. France. 45-62.

Cotelle N. (2001). Role of flavonoids in oxidative stress. *Curr. Top. Med. Chem.* 1:569-590.

(cited in Yakhlaf G, 2009).

Cox P-A. et Balick M-J. (1994). "The Ethnobotanical Approach to Drug Discovery," *Scientific American.* 82-87.

Chouaibi M., Mahfoudhi N., Rezig L., Donsi F., Ferrari G and Hamdi S. (2011).

Nutritional composition of *Zizyphus lotus* L. seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 6 : 1171–1177.

Cowan M. M. (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin. Microbiol. Rev*; 12: 564-582.

Crozier A., Clifford MN. And Ashihara H. (2006). *Plant Secondary Metabolites : Occurrence, Structure and Role in the Human Diet.* Edt Blackwell publishing Ltd.

D

Dacosta E. (2003). *Les phytonutriments bioactifs.* Yves Dacosta (éd). Paris, 317p.

Dangles O, Stoeckel C, Wigand MC, Brouillard R. (1992). Two very distinct types of anthocyanin complexation: Copigmentation and inclusion. *Tetrahedron Lett.* 33: 5227-30.

Dworkin MM and Falkow S,(2006). *Proteobacteria : Gamma subclass.* Ed. Springer, New York, NY, , p. 1248.

Dohou N., Yani K., Thahrouch S., Idrissi Hassani L-M ., Badoc A ., G mira N.(2003). Screening phytochimique d'une endémique ibéro- Marocaine; *Thynelaea lythroïdes.* *Bull.Soc, Pharm.Bordeaux.*142:61-78.

Dworkin MM and Falkow S,(2006). *Proteobacteria : Gamma subclass.* Ed. Springer, New York, NY, , p. 1248.

F

Farombi E.O. (2003). African indigenous plants with chemotherapeutic potentials and biotechnological approach to the production of bioactive prophylactic agents. *African journal of biotechnology*, 2 (12): 662-671.

Favier, A. (2003). Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la

compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité Chimique, p108-115.

Fiorucci S. (2006). Activités biologiques de composés de la famille des flavonoïdes : Approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire. Thèse de doctorat. Université Nice-Sophia Antipolis, 212 p.

Fleuriet A., (1982). Expression et régulation du métabolisme des dérivés hydroxycinnamiques au cours de la croissance Thèse Doc. Etat, Montpellier.

G

Ghedira K. (2006). La nigelle cultivée: *Nigella sativa L. (Ranunculaceae)*. Phytothérapie,4: 1-7.

Guingard. (1996). Biochimie végétale. Lavoisier, Paris, pp 175-192.

Ghestem A., Seguin E., Paris M., Orecchioni A. M., (2001). Le préparateur en pharmacie. Ed. Médicales Internationales. Paris, pp 108-119.

Ghedira K., Chemli R., Caron C., Nuzillard J-M., Zeches M., Le Men-Olivier L. (1995). Four cyclopeptide alkaloids from *Zizyphus lotus*. Phytochemistry ,38 :767-772.

Girotti-channu C. (2006). Etude de la lipolyse et de synthèse des composés du Derme sous l'effet de la Cirsimarine ,Flavone extraite de *Microtea Debilis*. Thèse de Doctorat .Institut national des sciences appliquées de Lyon.127.

Guinebert E., Durand P., Prost M., Grinand R. and Bernigault R,(2005). Mesure de la résistance aux radicaux libres. Sixièmes Journées de la Recherche Avicole; 554-558.

H

Halliwell B. (1994). Free radicals and antioxidants. Nutr.Rev.52:253-265.(cited in Yakhlaf G, 2009).

Harborne JB. (1989). Recent advances in chemical ecology. Nat. Prod. Rep. 25 (7): 85-109.

Heimler D ., Vignolini P ., Giulia Dini M ., Francesco Vincieri F and Rmani A.(2006). Antiradical activity and polyphenol composition of local Brassicaceae edible varieties .Food Chemistry,99:464-469.

I

Iserin P. (2001). Larousse encyclopédie des plantes médicinales. Ed. Larousse.10-132.

K

Kaufmann SHE ,(1997) . Host response to intracellular pathogens. Ed. Springer ; R.G. Landes, New York; Austin, , p. 345.

Kohen R. and Nyska A,(2002). Invited Review: Oxidation of Biological Systems: Oxidative Stress Phenomena, Antioxidants, Redox Reactions, and Methods for Their Quantification. Toxicol. Path.; 30: 620-650.

Krischvink D., Chaluvadi M., Raj N. and Sripal R.(2001). Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. Indian J. Pharmacol.; 33: 2-16.

L

Lahlou, M., ElMahi, M., and Hammouchi, J.(2002). Evaluation of antifungal and molluscicidal activities of Moroccan Zizyphus lotus L. Desf, Annales pharmaceutiques françaises, 60:410-414.

Lamnaouer, D.(2000).Plantes médicinales du Maroc : Usage et toxicité.

Larousse, Encyclopédie des plantes médicinales.(2001). Identification, préparations, soins. ISBN 2-03-560252-1, p. 12-22.

Lehucher-Michel M.P., Lesgards J.F., Delubac O., Stocker P., Durand P. et Prost M. (2001). Stress oxydant et pathologies humaines. La Presse médicale. 30: 1076-1081.

Liu L., Sun Y., Laura T., Liang X., Ye H. et Zeng X. (2009). Determination of polyphenolic content and antioxydant activity of Kudingcha made from ilex Kudingcha C.J. Tseng, food chemistry, 112 : 35-40.

M

Mamadou B. (2002). Actions pharmacologiques des tanins .Thèse de doctorat. Université cheikh Anta Diop de Dakar.53p.

Mancheix J.J., Fleuriet A. and P. Sarni-Manchado. (2006). Composés phénoliques dans la structure, biosynthèse, répartition et rôles. Les polyphénols en agroalimentaire. Lavoisier, Paris.

Marout A., Reynaud J., 2007. La Botanique A-Z. Ed. Dunod, Paris: 233p.

Muanda F., 2010. Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Thèse de doctorat en chimie organique. Université Paul Verlaine-Metz : 55p.

Marfak A. (2003). Radiolyse Gamma des Flavonoïdes. Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools : Formation de depsides. Thèse de doctorat. Université de LIMOGES. 187 p.

Milane H. (2004). La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère peroxydant ou thérapeutiques. Thèse de doctorat. Université Louis Pasteur Strasbourg I. 155p.

Milbury P., Richer A., (2008). Understanding the Antioxidant Controversy. Ed. Praeger: 81p.

Mounni, S. (2008). Etude de la fraction glucidique des fruits de *Celtis australis* L., *Crataegus azarolus* L., *Crataegus monogyna* Jacq., *Elaeagnus angustifolia* L., et *Zizyphus lotus* L.,
Mémoire de Magistère en Agronomie, Université de Batna

MUANDA F. (2010). Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Thèse de doctorat en chimie organique. Université Paul Verlaine-Metz : 55p.

O

Ozturk M., Aydogmus-Ozturk F., Duru M.E. et Topçu G. (2007). Antioxydant activity of stem and root extract of rhubarb (*Rheum ribes*): an edible medicinal plant. Food chemistry, 103: 623-630.

P

Percival SL, (2004). Microbiology of waterborne diseases. Ed. Elsevier Academic Press, Amsterdam; Boston, p. 480

Perret C. (2001). Analyses de tannins inhibiteurs de stilbène oxydase produite par *Brytis cinerea* Pers.:FR. Thèse de Doctorat. Université de Neuchâtel. 173p.

Peronny S. (2005). La perception gustative et la consommation des tannins chez le MAKI (Lemur Catta). These de Doctorat du Museum national d'histoire naturelle. Discipline Eco-Ethologie. 151p.

Pinkas M., Luycky M. (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-Forschung*, 46:1086-1089.

Pokorny J., Yanishlieva N. et Gordon M. (2001). Antioxidants in food, practical applications. Woodhead publishing limited. ISBN 1 85573 463 X.

Prior, R.L.(2005) .Fruits and vegetables in the prevention of cellular oxidative damage. *Am J Clin Nutr*, 78 (3 Suppl): 570S-578S.

Punt ,W.,Marks, A., and Hoen, P.(2003).*Rhamnaceae*, Review of palaeobotany and palynology,123:57-66.

Q

Quezel P et Santa S. (1962).Nouvelle flore de l'Algérie et régions désertiques méridionales.Tome2. Centre national de la recherche, Paris ,565p.

Quezel, P., and Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales.Edition du centre national de la recherche scientifique, Paris p. 616-620.

R

Ribéreau-Gayon J, Peynaud m, Ribéreau-Gayon P and Sudraud P. Sciences et techniques du vin. Tome 1, analyse et controle des vins. Ed. Dunod, Paris, 1972, p. 671

Rosine C.,Momo D. (2009).Evaluation de l'activité antidermatophytique des extraits au méthanol et fractions d'*Acalyphamma hirtum (Melastomatacees)*. Université de Dschang – Master en biochimie clinique et pharmacologie.

Rsaissi N et Bouhache M. (2002). La lutte chimique contre le jujubier .Programme National de transfert de Technologie en Agriculture (PNTTA), DERD (Ed).n0 94.Rabat ,4p.

S

Sazzad Hossain., Nizam Uddin., A.F.M., Mahmudul Islam., A.H.M. Nazmul Hasan., Monir Hossain., Mohammad Raquibul Hasan. Md., Farhan Khalik., Md.

Scalbert A. (1991). Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, 30: 3875-3883.

Schofield P., Mbugua D-M and Pell A N. (2001). Analyses of condensed tannins: a review *Animal Food and Technology*, 91:21-40.

Selvakumar G., Saha S. et Kundu S. (2007). Inhibitory activity of pine needle tannin extracts on some agriculturally resourceful microbes. *Indian J. microbial.*, 47: 267-270.

Shimizu, H. (2004). Relationship between plasma glutathione levels and cardiovascular disease in a defined population :the Hisayama study, *Stroke*, 35 (9) : 2072-2077.

Sokmen A., Gulluce M., Askin Akpulat H., Daferera D., Tepe B., Polissiou M., Sokmen M. and Sahin F,(2004). The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*. *Food Control*; 15: 627-634.

Su M.S., Shyu Y.T. et Chein P.J. (2008). Antioxidant activities of citrus herbal product extracts, *food chemistry*, 11: 892-896. 42.

Swain, T. & Hillis, W. E. (1959). The phenolic constituents of *Purmus domestica*. I. The quantitative analysis of phenolic constituents. *J. Sci. Food. Agric.*, 10, 63 – 68.

U

Ulanowska K., Majchrzyk A., Moskot M., Jak__bkiewicz-Banecka J. and W_Âgrzyn G. (2007). Assessment of antibacterial effects of flavonoids by estimation of generation times in liquid bacterial cultures. *Biologia*; 62: 132-135.

V

Van Delden C. and Iglewski B. H,(1998). Cell-to-cell signaling and *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Emerg. Infect. Dis.*; 4: 551-560.

Von Maydell H. J.V. (1990). Arbes et arbustes du Sahel : leur caractéristique et leur utilisation. 283 p

W

Wong S-P., Leong L-P and William Koh J-H. (2006).*Antioxidant activities of extracts of selected plants. Food chemistry.*99:775-783.

Y

Yildirim A ; Mavi A et Kara A, (2001): Determination of antioxidant and antimicrobialactivities of Rumex crispus L. extracts. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Pp411-420.

Yusuf Y., (2006). Catechins in foods, Trends Food Science Technology .,17: 64-71.

Année universitaire :2016 /2017

**Présenté par :GourissiHouda
Amarilmen**

Thème : Etude de l'activité antioxydante et antibactérienne vitro des extraits méthanolique et aqueux des feuilles du *Zizyphus lotus*.

**Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en biochimie
Option :Biochimie moléculaire et santé**

Résumé

Cette étude porte sur la valorisation d'un arbrisseau fruitier appelé *Zizyphus lotus* L. (Rhamnacées) connu dans l'Algérie sous le nom vernaculaire Sedra. C'est une plante utile, en médecine populaire, pour soigner le tube digestif, le foie et les affections respiratoires.

Dans la présente étude on a tenté d'évaluer l'activité antioxydante et antibactérienne in vitro de l'extrait méthanolique et l'extrait aqueux préparés à partir des feuilles du *Zizyphus lotus*. L'analyse qualitative de ces extraits par les tests préliminaires et la CCM a révélé la présence des composés phénoliques, des tanins, des flavonoïdes ; ceci est confirmé par une analyse quantitative basée sur le dosage, des composés phénoliques, des flavonoïdes et des tanins dont les valeurs sont : pour l'extrait méthanolique : les composés phénoliques($96,13 \pm 12,7 \mu\text{g EAG} / \text{mg}$ d'extrait), les flavonoïdes ($8,46 \pm 2,96 \mu\text{g EQ} / \text{mg}$ d'extrait) et les tanins ($0,048 \pm 0,011 \mu\text{g ECT} / \text{mg}$ d'extrait), et pour l'extrait aqueux : les composés phénoliques($33,06 \pm 4,75 \mu\text{g EAG} / \text{mg}$ d'extrait), les flavonoïdes ($6,68 \pm 0,29 \mu\text{g EQ} / \text{mg}$ d'extrait) et les tanins ($0,042 \pm 0,005 \mu\text{g ECT} / \text{mg}$ d'extrait).

L'étude de l'activité antioxydante par la méthode du pouvoir anti oxydant par Réduction du Fer (FRAP) a révélé une grande activité antioxydante de l'extrait méthanolique par comparaison avec l'extrait aqueux.

L'activité antimicrobienne a été déterminée sur trois souches bactériennes (Gram+ et Gram-) par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosés solides montre une grande activité antibactérienne de l'extrait méthanolique par comparaison avec l'extrait aqueux.

Mots clés: *Zizyphus lotus*, activité antioxydante, activité antibactérienne, composé Phénoliques, flavonoïdes, tannins.

Laboratoire de recherche :Biochimie RDC ; Zoologie ; Microbiologie ;

Date de soutenance :28 /06/2017