



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم والبحث العلمي

RE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة

كلية العلوم الطبيعية والحياة

قسم الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الخلوية والجزيئية

Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Caractérisation phytochimique et évaluation de l'effet antioxydant et anti-hyperglycémiant de *Zizyphus lotus* L de la région de l'Oued d'Algérie

Présenté et soutenu par :

ATTAL ADRA ET ATTAL MANEL

Le : 25/06/2018

Membres du jury :

Président du jury : MAAMERI-HABIBATNI ZINEB, MCA, l'université Frères Constantine 1

Rapporteur : MADI AICHA, MCB, l'université des frères Mentouri constantine 1

Examinatrices : MOSBAH ASMA, MCA, l'université des Frères Mentouri Constantine 1

HALMI SIHEM, MCB, l'université des Frères Mentouri Constantine 1

Remerciements

Nos remerciements les plus profonds et inexprimables, s'adressent avant tout à *ALLAH* le tout puissant, de m'avoir accordé la force, la santé et le courage afin de pouvoir accomplir ce modeste travail.

Nous tenons à adresser nos très sincères remerciements à Notre directrice de mémoire madame Madi Aicha *maitre de conférences à l'université des frères Mentouri Constantine 1 pour son encadrement, sa disponibilité, sa patience, son efficacité, son aide, son soutien et sa simplicité dans l'orientation.*

Comme nous ne pouvons pas oublier à remercier la présidente de jury Madame Habibatni Zeineb, maitre de conférences à l'université des frères Mentouri Constantine 1 et les examinatrices madame Mesbah Asma, maitre de conférences à l'université des frères Mentouri Constantine, et madame Halmi Sihem maitre de conférence à l'université des frères Mentouri d'avoir acceptées d'évaluer notre travail.

Nous adressons nos remerciements à nos collègues et amies qui nous ont aidés dans la réalisation de ce mémoire et spécialement Meriem, Hamama, Nahla, Zaki et Aymen .

Au personnel du laboratoire de biochimie pour leur aide en particulier Madiha, Houssin, Ammar et Nabil.

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

Dédicaces

Je dédie ce travail

Aux êtres les plus chers : Mes parents

*A Ceux qui sont les plus chères au monde, nos parents que dieu protège
En témoignage de nos profondes affectations. Qu'ils sachent que ce travail est en
partie le fruit de leur soutien*

J'espère qu'ils trouveront dans ce travail toute ma reconnaissance et tout mon amour.

À mes chers frères : Khirou et son fils : Siradj et Taim ,Khaled

*À mes chères sœurs : Soumia et son fils «Adem »,Sara et son fils « Amir »,Chahra
et Souha,*

À mon jumelle : ADRA

Je vous remercie pour votre soutien moral, ta patience et votre dévouement

À toute ma famille paternelle Attal et maternelle Benmaaza

*À mes amies d'université, Meriem, Hamama, Nahla Sabrina, Karima, Khadîdja, Imen,
Bouchra*

A mes ami(e)s de la promotion de master BA. Promotion 2017-2018

Manel



Dédicace

Je dédie ce travail

À mes très chers parents

Ma mère safia et mon père youcef

A ceux qui m'ont toujours encouragé pour que je réussisse dans mes études.

Pour leurs sacrifices et leurs soutiens tous au long mes étude.

Là où je suis arrivée aujourd'hui c'est à vous mes chers

Parents que je le dois, que Dieu vous garde.

À mon jumelle et binôme : Manel

À mes très chères sœurs : Soumia et Sara ; Chahra et Souha.

À mes très chers frères : Khirou et Khaled

À mes chères amies :

Que j'ai vécu avec elles des beaux moments au cours de mon cursus à l'université.

Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible, je vous dis merci.

Adra 



Sommaire

Remerciement.....	I
Dédicace.....	III
Liste des abréviations.....	XI
Liste des tableaux.....	XIII
Liste des figures.....	XIV
Introduction.....	01
Revue bibliographique.	
Chapitre 1 : Etude botanique de la plante <i>Zizyphus lotus</i>	
I. Etude botanique sur le <i>zizyphus lotus</i>	03
I.1. Systématique de la plante	03
I.2. Description botanique.....	03
I.3.Distribution dans le monde	04
I.4.Composition biochimique	04
I.5. Activités biologiques et thérapeutiques de <i>Zizyphus lotus</i> L.....	05
I.5.1.Activités anti oxydant et anti-inflammatoires.....	05
I.5.2.Activités antimicrobiennes.....	06
I.5.3.Activités antiulcérogènes	06
I.6.Usages traditionnelles	06
Chapitre II : Les métabolites secondaires	
Les métabolites secondaires	07
I. Composées phénoliques	07
I.1.Définition.....	07
I.2.Structure chimique	07

I.3.Applications industrielles des polyphénols	07
I.4.Classification des composées phénoliques	08
I.4.1.Acides phénoliques.....	08
I.4.2.Les flavonoïdes	09
I.4.2.1.Définition	09
I.4.2.2.structure	09
I.4.2.3Localisation et distribution.....	09
I.4.2.4Classification des flavonoïdes	10
I.4.2.5.Biosynthèse des flavonoïdes.....	12
I.4.2.6.Biodisponibilité des flavonoïdes	14
I.5.Activités biologiques des polyphénols	14
Chapitre III : Activités biologiques des plantes médicinales	
I .Activité antioxydant.....	15
I.1.Introduction	15
I.2.Stress et radicaux libres.....	15
I.2.1.Définition de Stress	15
I.2.2.Qu'est-ce qu'un radical libre ?.....	16
I.2.2.1.Origine des radicaux libres.....	16
I.2.2.1.1.Source endogène.....	16
I.2.2.1.2.Source exogène	16
I.2.2.2.Espèces réactives de l'oxygène(ERO)	16
I.2.2.3.D'autres espèces réactives de l'oxygène	17
I.2.3.Conséquence du stress oxydatif.....	17
I.3.Pouvoir oxydatif.....	17

I.4. Antioxydants et système de défense	17
I.4.1. Antioxydants enzymatiques.....	18
I.4.2. Antioxydants non enzymatiques	18
I.4.2.1. vitamine C ou acide ascorbique.....	18
I.4.2.2. vitamine E.....	19
I.4.2.3. Caroténoïdes.....	19
I.4.2.4. Polyphénols	20
II. Activité hypoglycémiante.....	20
II.1. Définition du diabète.....	20
II.2. Classification de diabète	20
II.2.1. Le diabète de type 1.....	20
II.2.2. Le diabète de type 2.....	20
II.3. La régulation de la glycémie	20
II.4. Les antidiabétiques : de l'efficacité à la toxicité	21
II.5. La phytothérapie du diabète.....	21
II.6. Mécanismes d'action des plantes antidiabétiques	21
Partie expérimentale	
Chapitre I: Matériel et méthodes	23
I. Matériel	23
I.1. Matériel végétal.....	23
I. 1.1. Choix des plantes	23
I.1.2. Collecte du matériel végétal	23
I.1.3. Matériel de laboratoire	24
I.2. Matériel animal :	24

II. Méthodes.....	24
II.1.Préparation des extraits	24
II.1.1.Préparation de l'extrait de l'éther de pétrole (EEp)	25
II.1.2.Préparation de l'extrait hydroalcolique(EHALC)	26
II.2.Screening phytochimique.....	28
II.2.1.Test des alcaloïdes	28
II.2.2.Test des Saponines.....	28
II.2.4.Teste des tanins.....	28
II.2.5.Test Tanins vrai.....	28
II.2.6.Test des flavonoïdes.....	29
II.2.7.Test des Quinones libre	29
II.2.8.Test des Stérols et poly terpènes	29
II.2.9. Test de sucres réducteurs.....	29
II.2.10.Test des flavonoïdes glycosides	29
II.3. Dosage spectrophotométrique	29
II.3.1Dosage des polyphénols totaux	29
II.3.2.Dosage des flavonoïdes totaux	30
II.4.Activités anti-oxydantes (<i>In-vitro</i>)	31
II.4.1. Evaluation de l'activité antioxydant par diphényl picrylhydrazyl (DPPH)	31
II.4.2. Le pouvoir réducteur (PR).....	32
II.5.Activité hypoglycémiante	33

II.5.1.1.Effets dose-réponse d’EMZI sur la glycémie des rats en hyperglycémie (provoquée par le glucose)	34
II.5.1.2.Effets dose-réponse d’EMZI sur la glycémie des rats normoglycémiques.	34
Chapitre II : Résultat et discussion	
I. Criblage phytochimique	36
II. Dosage sepectrophotométrique.....	40
II.1.-Dosage des polyphénols totaux	40
II.2-Dosage des flavonoïdes.....	41
III. Evaluation de l’activité antioxydante par diphényle-picryl-hydrazyl (DPPH)	42
IV. Pouvoir réducteur	44
V. Activité Anti hyper et Hypoglycémiante de l’extrait méthanolique de <i>zizyphus lotus</i>	46
V.1.Effets dose-réponse d’EMZI sur la glycémie des rats en hyperglycémie (provoquée par le glucose)	46
V.2Effets dose-réponse d’EMZI sur la glycémie des rats normoglycémiques	48
Conclusion	50
Références bibliographiques	
Les annexes	
Résumé	

Liste des Abréviations

T° : Température

% : Pourcentage

°C : Degré Celsius

Abs : Absorbance.

Ac. : Acide

AlCl₃ : Chlorure d'aluminium.

C : Carbone

DO : Densité optique.

DPPH : 2,2-diphényl-2-picryl-hydrazyle

Eag : Equivalent Acide Gallique

EEp : Extrait d'éther de pétrole

EHMet : Extrait Hydrométanolique

EMZI : Extrait méthanolique de zizyphus lotus

ERO : Espèce réactives de l'oxygène.

FCR : Réactif De Folin Ciocalteu

Fe+3 : Fer Ferrique.

Fe2+ : Fer Ferreux.

FeCl₃ : Chlorure de fer.

FRAP Ferric Reducing Antioxidant Power.

GAE: Gallic Acid Equivalent

Gly; glycémie

Kg ; kilogramme

H ; heure

HCl : Acide chlorhydrique.

K₃Fe (CN) ₆ : Ferricyanure de potassium.

KOH :

I(%) : Inhibition (Pourcentage)

Ic₅₀ : Concentration Inhibitrice A 50%.

IP : intra péritonéale

L : litre

MeOH : méthanol

OTF : Oligomères flavonoïques totaux

µg : Microgramme

Mg : Milligramme

Mg+2 : Magnésium

mg/g : milligramme par gramme.

mg/kg : milligramme par kilogramme

ml : Millilitre

µm : Micromole

µm : Micromètre

mn; minute

nm; nanomètre

PC: poids corporelle

PI; pourcentage d'inhibition

OMS; L'organisation Mondiale De La Santé

RL : radicaux libres

ROS : Réactive oxygen species.

UV : ultra-violet

Liste des tableaux

Tableau 1 : Pourcentage des compositions primaires du <i>Zizyphus lotus</i>	04
Tableau 2 : Composition en métabolites secondaires des différentes organes du <i>Zizyphus lotus</i>	05
Tableau 3 :Différents classe des flavonoïdes.....	11
Tableau 4 : Variations de la glycémie des rats témoins et traités Résultats des réactions de caractérisation des principaux métabolites secondaires contenus dans l'extrait méthanolique de <i>zizyphus lotus</i>	36
Tableau 5 :Teneurs en polyphénols totaux.....	41
Tableau 6 : Teneurs en flavonoides totaux.	42
Tableau 7 : Pourcentage de réduction chez les rats témoins et traités en hyperglycémie...	47
Tableau 8 : Pourcentage de réduction chez des rats normoglycémiques.....	48

Liste des figures

Figure 1 : Plante zizyphus lotus L.....	03
Figure 2 : Structure de base des flavonoïdes	09
Figure3 : Voies de biosynthèse de différentes classes des flavonoïdes (Remesy et al.1, 1996).....	13
Figure 4 : Déséquilibre de la balance entre antioxydants et pro-oxydants.....	15
Figure 5 : Action des antioxydant au cours du métabolisme des dérivés	19
Figure 6 : Régénération de la vitamine E via l'action de la vitamine C lors de la peroxydation lipidique	19
Figure 7 : Broyage de <i>Zizyphus Lotus</i>	23
Figure 8 : rats albinos	24
Figure 9 : Préparation de l'extrait éther de pétrole	25
Figure 10 : Evaporation a l'aide d'un rota vapeur	26
Figure 11 : Extrait d'éther de pétrole	26
Figure 12 : Préparation de l'extrait hydrométanolique	27
Figure 13 : Extrait hydrométanolique	27
Figure 14 : dosage des polyphenols	30
Figure 15 : Gamme de la rutine préparée pour le dosage des flavonoïdes	31
Figure 16 : Résultat de DPPH.....	32
Figure 17 : resultat de pouvoir reducteur	33
Figure 18 : Injection des rats	34
Figure 19 : Préparation d'EMZL.....	34
Figure 20 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique.....	40
Figure 21 : Courbe d'étalonnage de la rutine.....	41
Figure 22 : Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de l'acide ascorbique	42
Figure 23 : Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration d'extrait.....	43
Figure 24 : Valeurs d'IC50 de l'acide ascorbique et de l'extrait méthanolique.....	44
Figure 25 : Pouvoir réducteur de l'extrait méthanolique et l'acide ascorbique.....	45

Introduction

Introduction

La phytothérapie est la science des plantes médicinales (**Provost ,1991**), elle vient du mot grec « phuton » : plante et « Thérapie » : traitement, signifie traitement par les plantes (**Carillon, 2000**). L'utilisation des plantes en phytothérapie est très ancienne et connaît actuellement une région d'intérêt auprès du public, selon l'Organisation Mondiale de la Santé (**OMS, 2003**).

Les plantes médicinales ont toujours eu un rôle de grande importance sur la santé des êtres humains (**Carillon, 2000**). A l'heure actuelle, les substances naturelles dans les plantes sont encore le premier réservoir de nouveaux médicaments. Elles représentent près de 60% des médicaments, dont nous disposons (**OMS, 2000**). Les 40% restants ou médicaments de synthèse sont souvent nées de la modification chimique de molécules ou parties de molécules naturelles prises comme tête de séries (**Fouché et al., 2000**)

Les plantes peuvent être considérées comme des bibliothèques de petites molécules de métabolites secondaires des composés organiques avec une diversité structurale qui, autrement, ne pourrait pas être disponibles dans un laboratoire de synthèse chimique (**Bindseil et al., 2001; Koehn et al., 2005**). Ces molécules sont douées des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie, en alimentation, en cosmétologie et en dermatopharmacie, parmi ces composés on retrouve, les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tannins, les lignanes, les terpènes et les flavonoïdes (**Bahorun, 1997**).

Dans ce contexte, et dans le but de valoriser le patrimoine végétal, notre travail est basé sur une caractérisation phytochimique, ainsi qu'une évaluation des activités biologiques notamment, l'activité antioxydante et hypoglycémiant des extraits méthanoliques de la partie aérienne de *zizyphus lotus L.*

Ce mémoire est subdivisé en deux grandes parties : une partie théorique qui englobe et rassemble des données théoriques sur les plantes médicinales, les métabolites secondaires et les activités biologiques.

La seconde partie concerne la partie expérimentale, qui comporte deux chapitres, l'un sur le matériel et méthodes de travail ; et le deuxième chapitre regroupe l'ensemble des résultats qui seront suivis par une discussion.

Les résultats de nos travaux ayant pour objet une démarche contributive sur le screening phytochimique, l'antioxydant et l'hypoglycémiant des extraits organiques des notre plantes ; ce qui a permis d'une part, de mettre en évidence leur richesse en métabolites secondaires, ainsi de quantifier

les teneurs en composés phénoliques que renferment ces espèces végétales et d'évaluer leur pouvoir antioxydant et antihyperglycémiant et hypoglycémiant.

Une conclusion générale résume l'ensemble des résultats issus de cette étude et présente les perspectives de recherche concernant toutes les étapes à réaliser dans l'avenir, afin de confirmer l'efficacité hypoglycémiant *in vivo* de cette plante testée.

Partie I:

Revue Bibliographique

Chapitre I

Etude botanique de la plante

Zizyphus lotus L

I. Etude botanique sur le zizyphus lotus

I.1. Systématique de la plante

Règne : Végétal.

Embranchement : *Spermatophytes*.

Sous embranchement : *Angiospermes*.

Sous-classe : *Dicotylédone*.

Ordre : *Celastrales*.

Famille : *Rhamnacées*.

Genre : *Zizyphus*.

Espèce : *Zizyphus. Lotus*

Nom vernaculaire : Sedra (QQuezel *et al.*, 1962).

I.2. Description botanique

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

C'est un arbrisseau sous forme de buisson ne dépassant pas 2,5m à 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 al.*,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 , 1999 ; Claudine , 2007).

Un fruit ovoïde -olong, ayant la forme et la grosseur d'une belle olive. D'abord vert puis 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. (Bayer *et al.*, 2000).



Figure 1 : Plante *zizyphus lotus L*

I.3. Distribution dans le monde

Le genre *Zizyphus* renferme environ 100 espèces localisé principalement 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**).

En Algérie :

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

I.4. Composition biochimique

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

Les tableaux (01) et(02) représentent les différentes compositions en métabolites primaires et secondaires.

Tableau 1 : Pourcentage des compositions primaires du *Zizyphus lotus* (**Chouaibi, 2011**).

Métabolites primaires	Pourcentage %
Protéines	19.11%
Carbohydrates	40.87%
Lipides	32.92 %
Sucre	20 %

Tableau 2 : Composition en métabolites secondaires des différents organes du *Zizyphus lotus*

Organe végétal	Composition chimique	Références
Feuilles	Flavonoïdes tanins et alcaloïdes. saponines de type dammarane : -jujuboside B -jujubogenin glycoside	(Bekir <i>et al.</i> , 2010) (Macuek <i>et al.</i> ,2004)
Ecorces de racines	Flavonoïdes tanins Alcaloïde	(Le crouéour <i>et al.</i> , 2002)
Fruits	flavonoïdes, tannins et Saponines.	(Abdoul-Azize <i>et al.</i> , 2013)

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

I.5.1. Activités anti oxydant et anti-inflammatoires

Plusieurs études signalées que les extraits de *Zizyphus lotus* possèdent des effets anti-inflammatoires et des propriétés antioxydantes. Dont elle est riche en nombreux composés antioxydants tels que les acides phénoliques, flavonoïdes, alcaloïdes et saponines. Ces composants ont été montrés pour prévenir le stress oxydatif et l'inflammation par réduction des espèces réactives de l'oxygène (ROS).

Fait intéressant, nombreux *in vitro* les études ont démontré la capacité des différentes parties de *zizyphus lotus* pour piéger les radicaux libres, par exemple, dans la peroxydation lipidique, entraînant des dommages cellulaires .De plus, chez les rats diabétiques, l'extrait aqueux de *zizyphus lotus* racines et feuilles fortement augmente le taux d'hémolyse et de glutathion réductase et diminue l'activité de la catalase (Souleymane,2016) .

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 al.*,2007) ont montré que les saponosides

et les OTF des écorces de racine de *Zizyphus lotus* . 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 méthanolique) et l'extrait des feuilles possèdent des activités anti-inflammatoire et analgésique (**Borgi et al.,2008**).

I.5.2.Activités antimicrobiennes

Des études faites par (**Ghédira et al.,1995**) ont montré qu'un alcaloïde de cette espèce présente une activité antibactérienne significative. Mais beaucoup de groupes de recherches ont étudié l'activité antimicrobienne des extraits de plantes médicinales telles que *Zizyphus lotus*, ils ont trouvé que ces extraits sont actifs non seulement contre les bactéries mais aussi contre les champignons, les levures et les virus (**Jürgen et al., 2009**).

I.5.3.Activités antiulcérogènes

Les extraits aqueux des racines, des feuilles et des fruits de *Zizyphus lotus L.* possèdent une activité antiulcérogénique grâce à la présence des tanins et des flavonoïdes connus par leur effet gastroprotecteur (**Borgi et al., 2008**).

I.6.Usages traditionnelles

Zizyphus lotus est une plante médicinale utilisée dans la médecine traditionnelle de nombreux pays comme sédatif, analgésique, tonique et anti-inflammatoire (**Claudine, 2007 ; Mounni, 2008 ; Ghedira, 1994**). Elle est également, utilisée pour soigner le tube digestif et le foie (**Baba., 1999**).

Les racines sont utilisées contre les maladies vénériennes comme la syphilis et la blennorragie (**Kheraro et al.,1974**). Le décocté des racines est utilisé par les personnes diabétiques comme hypoglycémiant (**Lahlou, 2002 ; Allali, 2008**).

Selon De pommier (**1988**) les racines astringentes prises en décoction soigne la diarrhée et est utilisée dans le traitement des hémorroïdes

Les feuilles de *Zizyphus lotus* sont utilisées contre les piqures des vipères au Sahara (**Benchalah, 2004**), et les fruits sont préconisés dans le traitement de la gorge et les affections respiratoires (**Baba, 1999 ; Borgi, 2007**).

Chapitre 2 :
Les métabolites secondaires

Métabolites secondaires

Les plantes possèdent des métabolites dits « secondaires » par opposition aux métabolites primaires qui sont les protéines, les glucides et les lipides. Les métabolites secondaires sont classés en plusieurs grands groupes : parmi ceux-ci, les composés phénoliques, les terpènes et stéroïdes et les composés azotés dont les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activité biologique (Ali *et al.*, 2001 ; Li *et al.*, 2007)

I. Composés phénoliques

I.1. Définition

Les polyphénols sont des molécules synthétisées par les végétaux lors du métabolisme secondaire pour se défendre contre les agressions environnementales. Ils sont localisés dans différentes parties des plantes selon l'espèce végétale et le groupe polyphénolique considérés.

Ces composés regroupent une multitude des molécules et représentent l'un des groupes les plus importants présents dans le règne végétal.

Comme définition, nous pouvons dire que les polyphénols sont des composés phénoliques hydrosolubles, de poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Dalton, et ayant, outre les propriétés habituelles des phénols, la capacité de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et autres protéines (Dangles *et al.*, 1992 ; Hagerman *et al.*, 1998., Sarni-Manchado *et al.*, 2006).

I.2. Structure chimique

Les polyphénols regroupent un vaste ensemble de substances chimiques comprenant au moins un noyau aromatique, et un ou plusieurs groupes hydroxyles, en plus d'autres constituants (Bamforth., 2000). Ces composés manifestent une grande diversité de structure : quinones, coumarines, acides phénoliques, flavonoïdes, tanins, stilibénoïdes, lignanes, et xanthones. (stalikas , 2007).

I.3. Applications industrielles des polyphénols

Selon les propriétés qu'ils possèdent, les polyphénols, ont été exploitées dans de nombreux domaines industriels : en agroalimentaire, en cosmétique et dans l'industrie pharmaceutique.

Les propriétés antimicrobiennes de certains polyphénols comme les flavan-3-ols, les flavanols et les tanins, il est désormais possible de développer des conservateurs alimentaires et de nouvelles

thérapies dans de nombreuses maladies infectieuses en considérant la résistance microbienne face à certains traitements antibiotiques (**Daglia, 2012**).

La capacité antioxydante de composés comme les polyphénols est utilisée dans l'alimentation pour lutter contre la peroxydation lipidique et ainsi permettre une meilleure stabilisation des denrées alimentaires.

Les polyphénols sont également préconisés pour améliorer la stabilité de pigments de jus colorés, d'arômes alimentaires. Aussi ils rentrent dans la composition des produits pharmaceutiques et cosmétiques. (**Moure et al., 2001**).

Enfin, l'effet de certains flavonoïdes en médecine humaine est de plus en plus étudié dans le traitement de certaines maladies, et particulièrement pour le contrôle du virus de l'immunodéficience, le principal responsable du SIDA (**Sartori., 2003**).

I.4. Classification des composées phénoliques

I.4.1. Acides phénoliques

Ce sont des composés phénoliques possédant une fonction acide en plus de la fonction phénol. Ils sont représentés par deux sous classes, les dérivés de l'acide hydroxy-benzoïque et l'acide hydroxy-cinnamique (**Bruneton, 2008**).

-Les acides benzoïques incluent l'acide gallique, l'acide protocatéchique, vallique et l'acide syringique qui a en commun le cycle C6-C1 (**Balasundram et al., 2005**).

Cette catégorie est abondante dans les végétaux et les aliments notamment les épices, les fraises et les oignons (**Manach et al., 2005**).

-Les acides hydroxy-cinnamique : Ce sont des composés aromatiques avec trois carbones latéraux dans la chaîne C6-C3 dont l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide coumarique et l'acide sinapique sont les plus connus.

I.4.2. Flavonoïdes

I.4.2.1.1 Définition

Le terme flavonoïde provenant du latin "flavus", signifiant "jaune", désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des poly phénols.

Ce groupe comprend comme son nom l'indique des composés jaunes mais aussi d'autres couleurs. ou incolores.

Des remèdes à base de plantes renfermant ces composés sont utilisés en médecine traditionnelle à travers le monde entier (**Delporte *et al.*, 1999**).

I.4.2.2. Structure

Les flavonoïdes ont tous la même structure chimique de base, ils possèdent un squelette carboné de quinze atomes de carbones constitué de deux cycles aromatiques (A) et (B) qui sont reliés entre eux par une chaîne en C3 en formant ainsi l'hétérocycle (C) (**Figure1**)

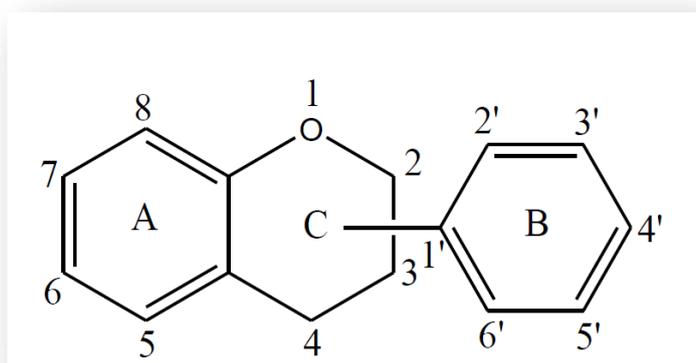


Figure 2 : Structure de base des flavonoïdes

Généralement, la structure des flavonoïdes est représentée selon le système C6-C3-C6 formant une structure de type diphenyle propane dont des groupements hydroxyles, oxygènes, méthyles, ou des sucres peuvent être attachés sur les noyaux de cette molécule. (**Di Carlo *et al.*, 1999**).

I.4.2.3. Localisation et distribution

Les flavonoïdes possèdent une large répartition dans le monde végétal, ils sont distribués dans les feuilles, les graines, l'écorce et les fleurs des plantes (**Medic *et al.*, 2003**).

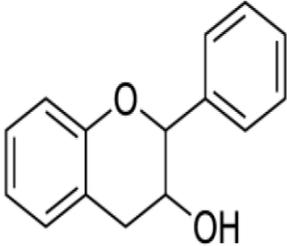
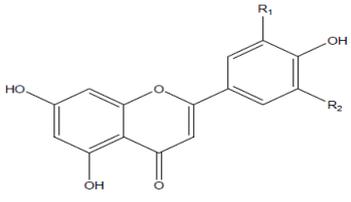
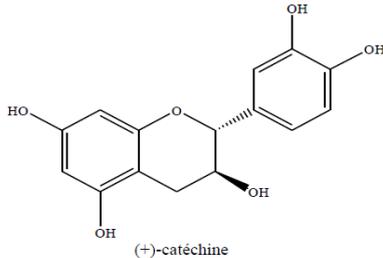
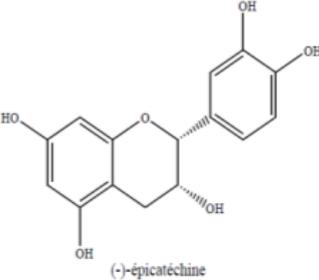
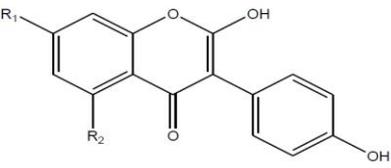
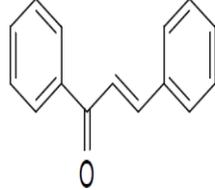
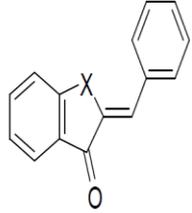
Les flavonoïdes sont trouvés dans les fruits, les légumes, les noix, les herbes, les épices, aussi bien que dans le thé et le vin rouge. Ils sont consommés régulièrement avec l'alimentation humaine qui nous apporte environ 75 mg de flavonoïdes par jour. En effet, le thé, les agrumes, les pommes, l'huile

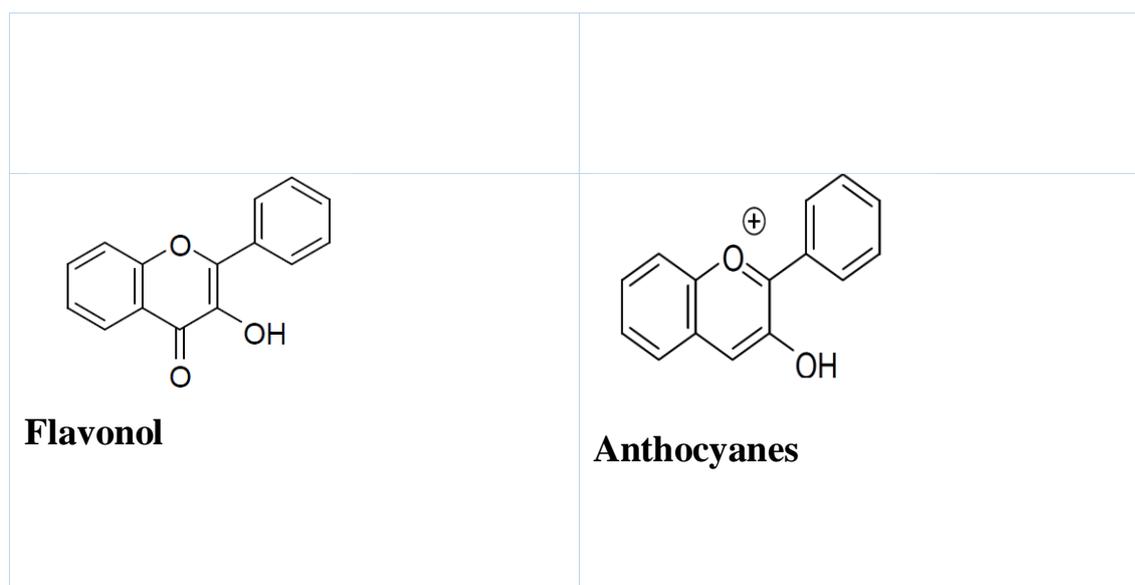
d'olive, les oignons, le cacao et plusieurs autres fruits et légumes sont très riches en flavonoïdes, les flavonols et les flavonols y seraient les plus abondants (Schewe *et al.*, 2003).

I.4.2.4. Classification des flavonoïdes

La nature chimique des flavonoïdes dépend de leur classe structurale, de degré d'hydroxylation et de méthylation, de degré de polymérisation, des substitutions et des conjugaisons sur le cycle C c'est-à-dire la présence : de double liaison C2-C3, du groupe 3-O et la fonction 4-oxo (YAO *et al.*, 2004). Ils se répartissent en plusieurs classes des molécules dont les plus importants sont représentés dans le tableau 3.

Tableau 1 : Différents classe des flavonoïdes (sartori-thiel.,2003 ;Hallagas et al.,2004)

<p>Flavanols</p> 	<p>Flavones</p> 
<p>Flavan-3-ols</p>  <p>(+)-catéchine</p>  <p>(-)-épicatéchine</p>	<p>Isoflavone</p> 
<p>Chalconnes</p> 	<p>Aurone</p> 



I.4.2.5. Biosynthèse des flavonoïdes

La formation de ces molécules flavonoïques s'effectue par un intermédiaire connu tétrahydroxychalcone à partir du quel se différencient plusieurs types des flavonoïdes. (Bouheroum.,2007).

Le squelette moléculaire de base a une double origine : 3 molécules d'acétylCoA pour le cycle A qui dérive de la voie acétate malonate, une molécule de p-coumaryl pour le cycle B qui dérive de la voie shikimate et aussi pour l'hétérocycle C. C'est alors à partir de la chalcone ainsi formée par cette condensation chimique que vont être mis en place les flavonoïdes appartenant aux diverses classes, en particuliers des pigments comme les anthocyanes et les flavonols, ou encore certains monomères de type flavonols dont la polymérisation conduira aux tannins condensés.

La biosynthèse des différents groupes de flavonoïdes implique un ensemble complexe de réactions comprenant des hydroxylations, méthylations, oxydations, réductions glycosylations... (Sarmi *et al.*, 2006).

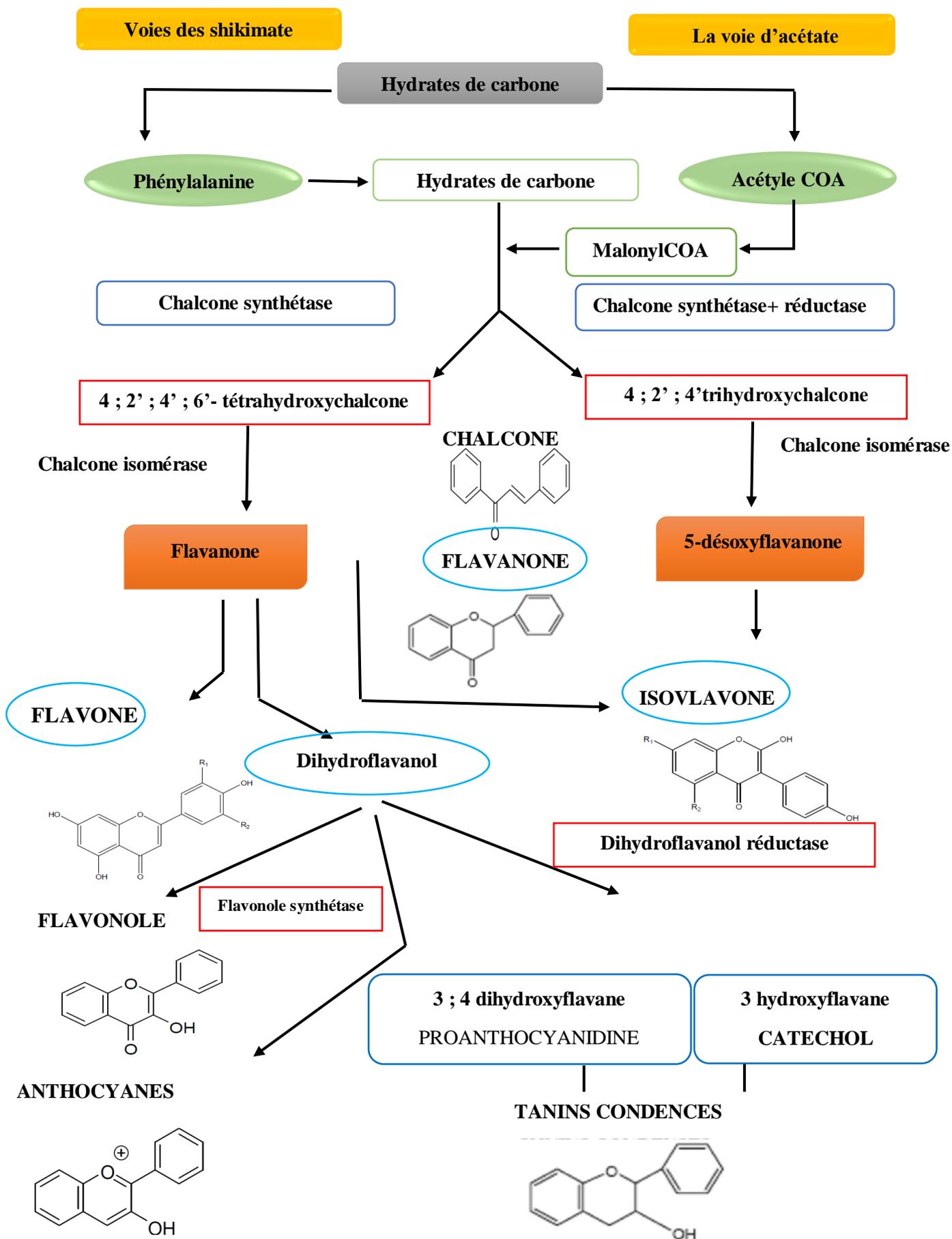


Figure 3 : Voies de biosynthèse de différentes classes des flavonoïdes (Remesy et al., 1996)

I.4.2.6. Biodisponibilité des flavonoïdes

Les effets des flavonoïdes sur la santé ne dépendent pas seulement de leurs niveaux de consommation mais aussi de leur biodisponibilité. Peu d'études systématiques ont été menées sur la pharmacocinétique des flavonoïdes chez l'homme. Toutefois, d'après des expériences faites sur des flavonoïdes provenant de l'alimentation, il apparaît que seuls les flavonoïdes sous forme de génines (ou aglycones) sont susceptibles d'être absorbés. L'hydrolyse des liaisons hétérosidiques (reliant la génine à la chaîne sucrée) n'intervient que dans le côlon où les micro-organismes dégradent simultanément les flavonoïdes d'origine alimentaire. Le foie est largement impliqué dans le métabolisme des flavonoïdes absorbés (Hollman *et al.*, 1998 ; Walle, 2004).

I.5. Activités biologiques des polyphénols

Les polyphénols sont parmi des substances bioactives les plus, thérapeutiquement, utiles. Ces composants sont présents dans les légumes, les fruits et plusieurs autres sources alimentaires, en conséquence la prise régulière de légumes et des fruits est très recommandée parce que les polyphénols qu'ils contiennent jouent un rôle important dans la réduction du risque des maladies chroniques et dégénératives (Apak *et al.*, 2007).

Comme antioxydant, les polyphénols peuvent protéger les cellules contre les dommages oxydatifs et, par conséquent, limiter le risque de plusieurs maladies dégénératives associées au stress oxydatif. Les polyphénols jouent, aussi, un rôle dans la prévention des maladies cardiovasculaires, cancer, ostéoporose, diabète, et des maladies neurodégénératives. La consommation des polyphénols limite le développement des lésions athéromateuses, inhibe l'oxydation de lipoprotéine de basse densité, qui est considérée comme le mécanisme clé dans les lésions endothéliales qui se produisent dans l'athérosclérose (D'Archivio *et al.*, 2007).

Chapitre I.I.I.:

Les Activités Biologiques

I .Activité antioxydante

I.1.Introduction

Il existe de nos jours un intérêt croissant vis-à-vis 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, 2005).

I.2.Stress et radicaux libres

I.2.1.Définition de Stress

Des molécules peroxydases appelées radicaux libres ou espèces réactives de L'oxygène (ERO) sont produites quotidiennement dans l'organisme. Ces dernières sont cependant contrôlées par les antioxydants. Un stress oxydatif survient lorsque l'équilibre est rompu en faveur des radicaux libres (figure 03). Toutefois, une production excessive de ces molécules réactives ou une insuffisance des mécanismes antioxydants peut déséquilibrer la balance oxydant/antioxydant (Christophe, 2011 ; Papazian *et al* .,2008).

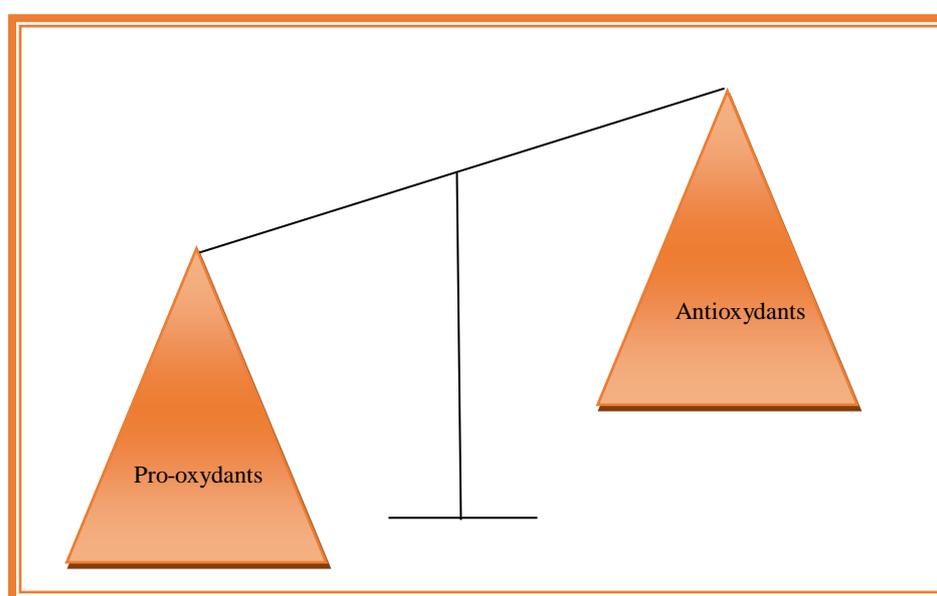


Figure 4 : Déséquilibre de la balance entre antioxydants et pro-oxydants

Ce déséquilibre peut avoir diverses origines, telle que l'exposition aux radiations ionisantes (exposition importante au soleil, radioactivité artificielle ou naturelle), la pollution, le contact avec certains pesticides et solvants, la consommation de tabac et d'alcool, la prise de certains médicaments,

la pratique du sport intensif et tout processus susceptible de surcharger les réactions de détoxication hépatique, notamment une perte de poids importante (**Poirier, 2004 ; Médart, 2009**).

I.2.2. Qu'est-ce qu'un radical libre ?

Un radical libre (RL) est une espèce chimique, morceau de molécule ou simple atome, capable d'avoir une existence indépendante (« libre») en contenant un ou plusieurs électrons célibataires (électron non apparié sur une orbitale). Cela lui confère une grande réactivité donc une demi-vie très courte. En effet, ce RL aura toujours tendance à remplir son orbitale en captant un électron pour devenir plus stable : il va donc se réduire en oxydant un autre composé. (**Osman, 2011**). L'ensemble des radicaux libre et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène (**Favier, 2003**).

I.2.2.1. Origine des radicaux libres

a) Source endogène

Les réactions enzymatiques, dont plusieurs d'entre elles sont considérées comme source principale des ROS ex ; NADPH oxydase, lipoxygénase, xanthine oxydase (enzyme dans le foie).

b) Source exogène

L'environnement et le mode de vie sont également responsables de la création et de l'accumulation de radicaux libres dans l'organisme.

Ces facteurs environnementaux incluant des agents cancérigènes non-génotoxiques peuvent directement, ou indirectement, être impliqués dans la génération de radicaux libres (xénobiotiques, activation des leucocytes...). Les rayonnements UV induisent la synthèse de $O_2^{\bullet-}$, OH^{\bullet} , 1O_2 et d' H_2O_2 l'intermédiaire d'agents photo sensibilisants (**Sumaya, 2004**).

L'oxyde d'azote (NO) et le dioxyde d'azote (NO_2) présents dans notre mode de vie (tabagisme, radiations ionisantes, champs électriques, polluants industriels...), ainsi qu'une alimentation (raffinée, riche en graisses saturées et en sucre, consommation d'alcool...), sont autant d'éléments favorisant la genèse de radicaux libres (**Mena et al., 2009**).

I.2.2.2. Espèces réactives de l'oxygène (ERO)

Notre organisme a besoin d'énergie pour fonctionner correctement. Les cellules transforment les nutriments apportés par l'alimentation en énergie et en eau. Cette Transformation génère environ 2% de molécules d'oxygène (**Edeas, 2005**).

L'oxygène peut s'avérer délétère en raison de son caractère oxydant, il est à l'origine de la formation des dérivés plus réactifs appelés espèces réactives de l'oxygène (**Ichai, 2011**).

- **Anion super oxyde $O_2^{\bullet-}$**

L'anion super oxyde : la molécule d'oxygène, mise en présence d'une quantité d'énergie suffisante, peut acquérir un électron supplémentaire et former ainsi l'anion super oxyde $O_2^{\bullet-}$. Cet anion intervient comme facteur oxydant dans de nombreuses réactions.

- **Radical hydroxyle OH^{\bullet}**

Il est très réactif vis-à-vis des structures organiques et joue un rôle initiateur dans l'auto-oxydation lipidique. (HADI, 2004).

- **Peroxyde d'Hydrogène (H_2O_2)**

Provient d'une réaction entre deux anions super oxyde qui met fin au processus radicalaire. IL s'agit d'un oxydant beaucoup moins puissant (Halimi, 2006).

I.2.2.3.D'autres espèces réactives de l'oxygène

Les espèces réactives de l'oxygène comprennent non seulement les radicaux libres oxygénés mais aussi les radicaux libres dérivant d'autres espèces que l'oxygène par exemple :

L'acide hypochloreux ($HClO$), le monoxyde d'azote NO^{\bullet} qui se combine aisément avec l' $O_2^{\bullet-}$ pour former le peroxyde d'azote ($ONOO^-$) (Moussard, 2006), qui est un oxydant puissant et diffusible, capable d'endommager de nombreuses molécules organiques (Haleng, 2007).

I.2.3.Conséquence du stress oxydatif

Le principal danger des radicaux libres vient des dommages qu'ils peuvent provoquer lorsqu'ils réagissent avec des composants cellulaires importants, tels que l'ADN (Hadj, 2009). Les lipides (peroxydation), les protéines (Jacob, 2007)...etc. Cette oxydation provoque des dommages sur tout l'organisme, accélérant le vieillissement (maladies cardiovasculaires et neuro-dégénératives, cancer, diabète...) (Pincemail, 2003) et la dégradation des cellules et des tissus (Bonnet *et al.*, 2010)

I.3.Pouvoir oxydatif

L'organisme est capable, dans une certaine mesure, de limiter les dommages dus aux radicaux libres, grâce à des mécanismes de défense enzymatiques et chimiques développés au cours de l'Évolution (Hennebelle, 2006).

I.4. Antioxydants et système de défense

Les antioxydants peuvent être définis comme toute substance qui, présente à faible concentration par rapport au substrat oxydable, est capable de ralentir ou d'inhiber l'oxydation de ce substrat. Cette définition fonctionnelle s'applique à un grand nombre de substances, comprenant des enzymes aux

propriétés catalytiques spécifiques, mais aussi de petites molécules hydro- ou liposolubles. Cette grande variété physico-chimique autorise la présence d'antioxydants dans tous les compartiments de l'organisme, qu'ils soient intracellulaires, membranaires ou extracellulaires. (Cano *et al.*, 2006)

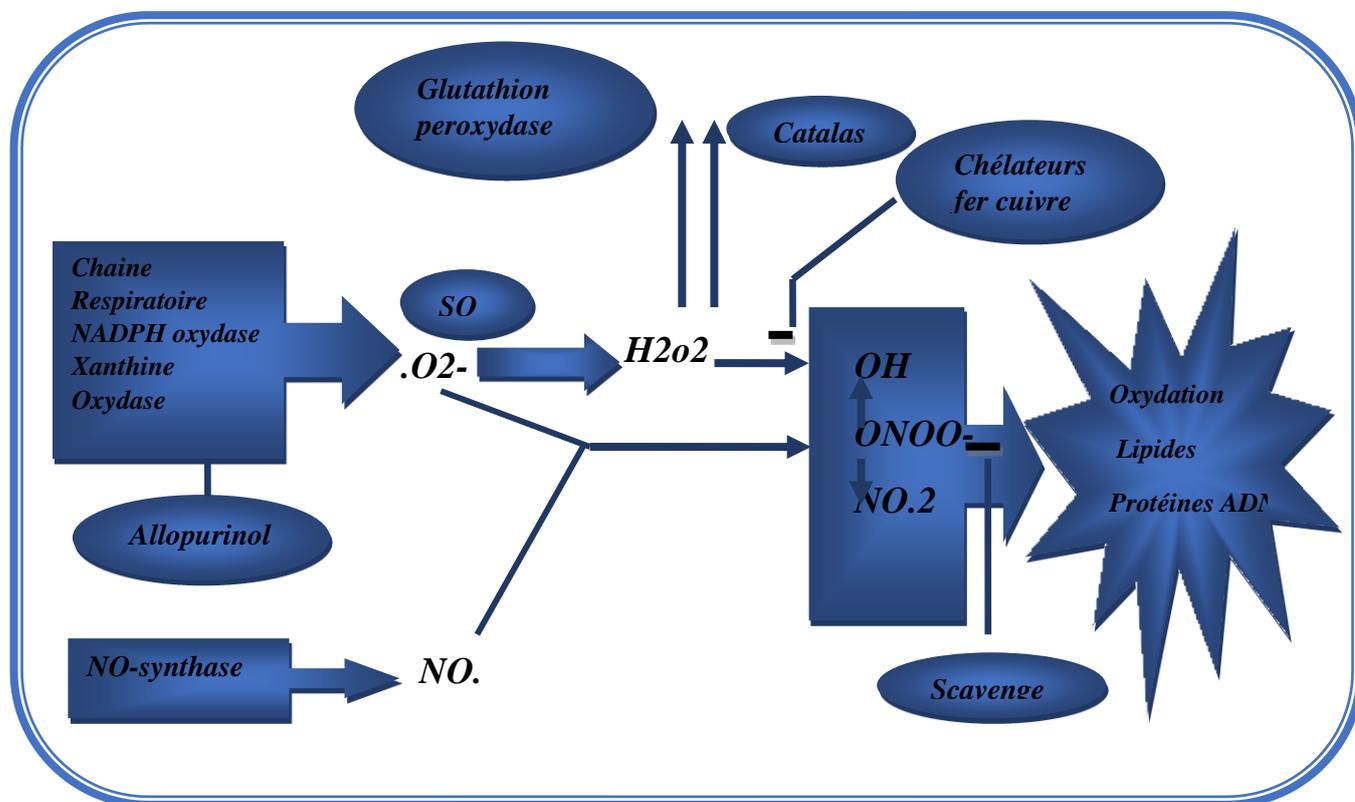


Figure 5 : Action des antioxydants au cours du métabolisme des dérivés

réactifs de l'oxygène (Cano *et al.*, 2007)

I.4.1. Antioxydants enzymatiques

Les principaux systèmes enzymatiques antioxydants plus efficaces chez les mammifères ainsi que chez les plantes sont la superoxyde dismutase, la catalase et le glutathion peroxydase (Mates *et al.*, 1999; Sharma *et al.*, 2012).

I.4.2. Antioxydants non enzymatiques

I.4.2.1. vitamine C ou acide ascorbique

La vitamine C n'est pas synthétisée par l'organisme. C'est une molécule hydrosoluble présente dans la plupart des fruits et légumes (non synthétisée par l'Homme). Elle est connue pour son action protectrice contre l'oxydation membranaire (Retsky *et al.*, 1999).

C'est un antioxydant puissant hydrosoluble, capable de piéger ou neutraliser à des concentrations très faibles les espèces réactives de l'oxygène (Carr, 1999 ; Césarini, 2004).

La vitamine C permet la régénération du radical tocophéroxyde (Vit E•), formé au cours de la réaction de protection antiradicalaire, en tocophérol. Elle réduit la glycosylation et augmente l'activité des enzymes antioxydantes (**Chen *et al.*, 2000 ; Kojo, 2004**).

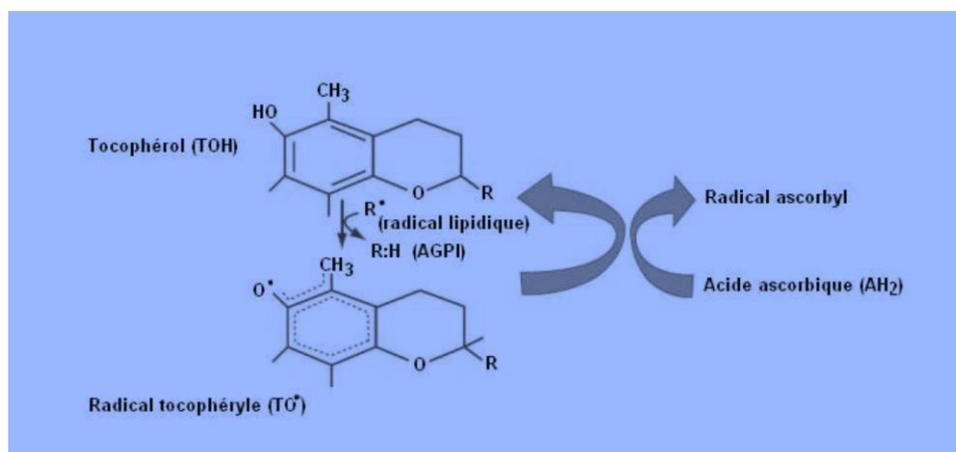


Figure 1: Régénération de la vitamine E via l'action de la vitamine C lors de la peroxydation lipidique

I.4.2.2.vitamine E

C'est le terme générique utilisé habituellement pour désigner les différents tocophérols et tocotriénols (ensemble de 8 molécules dont 4 tocophérols et 4 tocotriénols, Ce sont de bons antioxydants alimentaires, mais surtout leur rôle physiologique chez l'Homme, comme protecteurs des structures membranaires et des lipoprotéines ou pour lutter contre le stress oxydant. (**Kaiser *et al.*, 1990; Yoshida *et al.*, 1993**).

I.4.2.3.Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments fabriqués par les végétaux. Les plus importants sont le bêta-carotène, l'alpha-carotène, la lutéine, la zéaxanthine et le lycopène. Ce sont eux qui donnent aux fruits et légumes des couleurs orange, rouge et jaune. Leur fonction essentielle est de protéger les plantes. La plupart des caroténoïdes ont une propriété antioxydante (**Causse, 2005**) comme ils le font pour les plantes, ils ont des effets bénéfiques sur notre santé (**Rodriguez *et al.*,2004**).

Ce sont d'excellents piègeurs d'espèces radicalaires particulièrement vis-à-vis de la lipoperoxydation des phospholipides membranaires grâce à leurs structures (**Packer *et al.*, 1981**).

Les caroténoïdes sont des substances polyéniques caractérisées par un système de doubles liaisons conjuguées. Le nombre de doubles liaisons conjuguées varie de 7 à 15 (**Guillaume, 1999**)

I.4.2.4.Polyphénols

Les composés phénolique set en particulier les flavonoïdes, ont la capacité antioxydante qui peut prendre plusieurs formes dans la régulation du stress oxydatif, vis-à-vis les effets délétères des radicaux libres.

Ces composants peuvent intervenir en captant directement les radicaux libres, ou inhibant les enzymes responsables de la génération des ROS, ou en captant les cations métalliques (**Fuorroci, 2006 ;Marfak, 2003**).

II. Activité hypoglycémiant

II.1.Définition du diabète

Le diabète est un trouble métabolique caractérisé par la présence d'une hyperglycémie attribuable à un défaut de la sécrétion d'insuline ou de l'action de l'insuline, ou des deux.

II.2.Classification de diabète

Il est classique de distinguer deux grandes variétés de diabète : le diabète de type 1 et le diabète de type 2.

II.2.1.Diabète de type 1

L'hyperglycémie est due à une carence absolue en insuline, Cette forme de diabète comprend les cas attribuables à un processus auto-immun conduisant à la destruction auto-immune des cellules β des îlots de Langerhans (**Boumaza, 2009**).

II.2.2.Diabète de type 2

La carence en insuline est relative et l'hyperglycémie est liée à l'association, à des degrés divers, d'une insulino-résistance hépatique et périphérique et d'une insulino-pénie (**Boumaza, 2009**).

II.3.Régulation de la glycémie

La régulation de la glycémie met en jeu le système hormonal, ainsi que plusieurs organes (foie et pancréas principalement). Cette régulation fait partie des processus de maintien de l'homéostasie du glucose au sein de l'organisme. L'augmentation de la glycémie stimule la sécrétion d'insuline par les endocrinocytes bêta des îlots pancréatiques. L'insuline accroît la capacité des tissus insulino-dépendants de transporter le glucose à travers leur membrane plasmique. Une fois à l'intérieur des cellules, le glucose est oxydé pour fournir de l'énergie ou alors il est converti en glycogène

(glycogénogénèse) qui est ensuite emmagasiné. Lorsque la glycémie diminue, le stimulus qui déclenche la libération d'insuline cesse. Un grand nombre d'hormones sont hyperglycémiantes (le glucagon, les glucocorticoïdes et l'adrénaline pour n'en nommer que quelques-unes) mais l'insuline est la seule hormone hypoglycémiante, celle-ci est absolument essentielle à l'utilisation du glucose par les cellules de l'organisme. Sans insuline, il est à peu près impossible au glucose de pénétrer dans les cellules pour fournir de l'énergie (**Freychet, 1978**).

II.4. Phytothérapie du diabète

Depuis longtemps, la phytothérapie du diabète a pris sa part que ce soit dans la médecine traditionnelle ou la recherche scientifique. Citons à titre d'exemple quelques plantes médicinales traditionnellement utilisées et scientifiquement évaluées pour leur activité antidiabétique : *Zygophyllum cornutum*, *Centaurea corcubionensis* (**Chucla, 1987**), *Juniperus communis* (**Sanchez et al., 1993**), *Trigonella foenum* (**Shani et al., 1974**) et plusieurs d'autres. Actuellement, avec l'émergence de la notion du stress oxydant qui semble jouer un rôle primordial dans les complications et les lésions des organes associées au diabète (**Gupta et al., 2008**), les plantes antidiabétiques ont pris un grand intérêt comme source énorme d'antioxydant (**Halliwell, 2009**). Des études faites sur des plantes médicinales ont révélé leur effet antidiabétique accompagné de leur effet.

II.5. Mécanismes d'action des plantes antidiabétiques

Une très grande variété de mécanismes est impliquée dans la baisse du niveau de glucose dans le sang. Ceci est dû à la grande variété de classes chimiques des constituants hypoglycémiantes provenant des plantes. Certains de ces composés se révèlent véritablement hypoglycémiantes et pourraient avoir un potentiel thérapeutique, alors que d'autres produisent simplement une hypoglycémie comme effet parallèle de leur toxicité, particulièrement hépatique. (**Jarald et al., 2008**)

L'activité antidiabétique des plantes peut dépendre de plusieurs mécanismes :

- Réduction de la résistance à l'insuline.
- Stimulation de la sécrétion d'insuline à partir des cellules bêta ou/et inhibition du processus de dégradation de l'insuline.
- Apport de quelques éléments nécessaires comme le Calcium, le Zinc, le Magnésium, le Manganèse et le Cuivre pour les cellules bêta.
- Effet protecteur de la destruction des cellules bêta.
- Augmentation le nombre de cellules bêta dans les îlots de Langerhans.
- Inhibition de la réabsorption rénale du glucose.
- Inhibition de bêta-galactosidase, alpha-glucosidase et alpha-amylase.

- Prévention du stress oxydatif, qui peut être impliqué dans le dysfonctionnement des cellules bêta.
- Stimulation de la glycogénèse et de la glycolyse hépatique ;
- Diminution des activités du cortisol (**kashikar *et al.*, 2011**).

Partie II: Expérimentale

*Chapitre I ;
Matériels et méthode*

Chapitre I : Matériel et méthodes

I. Matériel

I.1. Matériel végétal

I. 1.1.Choix de la plante

L'intérêt de ce travail est la valorisation d'une plante médicinale (*Zizyphus. Lotus*) poussant à l'état spontané dans la région de l'oued (Algérie) par l'étude de son activité antioxydant et hypoglycémiant. La plante étudiée été choisie essentiellement sur la base de leur intérêt et leur fréquence d'emploi.

I.1.2. Collecte du matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des feuilles de *Zizyphus. Lotus* récoltée dans la région de l'oued en février 2018 (Algérie) sécher à l'air libre à température ambiante avant utilisation

Après séchage, les feuilles ont été broyées à l'aide d'un pour obtenir des particules fines de l'ordre de 2mm.



Figure 1: broyage de *Zizyphus Lotus*

I.1.3. Matériel de laboratoire

- ✓ Spectrophotomètre
- ✓ Etuve.
- ✓ Rota vapeur (Büchi).
- ✓ Balance de précision.
- ✓ Agitateur.
- ✓ Autoclave.

I.2. Matériel animal :

L'étude *in vivo* a été réalisée sur 15 rats Albinos femelles pesant entre 130 et 150g, issues de l'animalerie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université des Frères Mentouri, Constantine1, Algérie.

Les rats ont été gardés dans des cages individuelles dans un environnement standardisé, avec une température ambiante et accès libre à l'eau et à l'aliment.



Figure 2 : rats albinos

II. Méthodes

II.1. Préparation des extraits

Le matériel végétal de *Zizyphus Lotus* a été utilisé dans la préparation des extraits par macération successive par deux solvants de polarité croissante (l'éther de pétrole et le méthanol).

II.1.1.Préparation de l'extrait de l'éther de pétrole (EEp)

L'extraction par l'éther de pétrole a pour but d'entraîner les graisses ainsi que les substances lipophiles et la chlorophylle.

Une macération d'éther de pétrole a également été effectuée sur 150 g avec 350 ml d'éther et placés sous agitation pendant 24 h .Après filtration, Chaque étape d'extraction est refaite trois fois avec renouvellement du solvant .A la fin de l'extraction, d'extrait organique (**EEp**) est été concentré sous vide au rotavapor (BÜCHI) aux températures 40C°, Puis ces extraits ont été séchés à l'air libre dans des boites de pétrie.

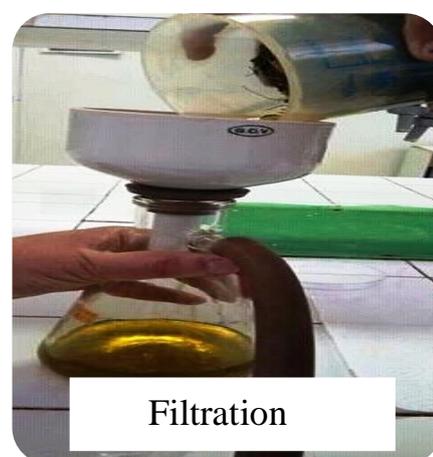


Figure 3 : Préparation de l'extrait éther de pétrole.



Figure 4 : Evaporation à l'aide d'un rota vapeur.



Figure 5 : l'extrait d'éther de pétrole.

II.1.2. Préparation de l'extrait hydrométhanolique (EHMet)

La deuxième extraction a été faite avec le méthanol qui extrait les composés polaires.

La matière végétale a été mise à macérer dans le système solvant suivant : 70% volumes de méthanol + 30% volumes de l'eau distillée et placés sous agitation pendant 24 h. Après filtration, Chaque étape d'extraction est refaite trois fois avec renouvellement du solvant.

A la fin de l'extraction, l'extrait organique (EHMet) est été concentré sous vide au rotavapor (BÜCHI) aux températures 40C°, Puis ces extraits ont été séchés à l'air libre dans des boîtes de pétrie.

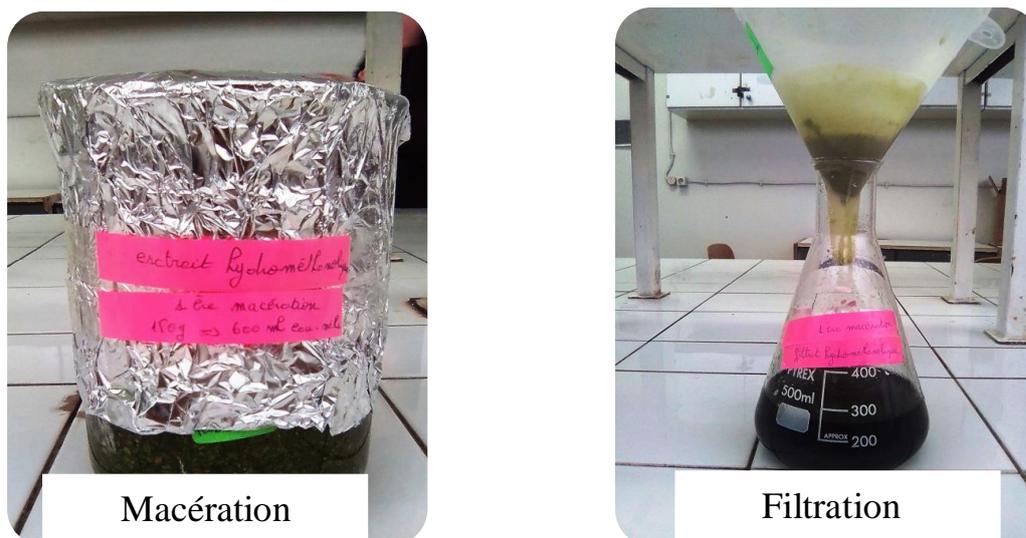


Figure 6 : Préparation de l'extrait hydrométhanolique.



Figure 13 : extrait hydrométhanolique.

II.2. Screening phytochimique

Ce sont des analyses qualitatives qui permettent de déterminer les différents groupes chimiques contenus dans un organe végétal. Ce sont des réactions physicochimiques qui permettent de définir la présence ou non de métabolites secondaires : alcaloïdes, quinones, flavonoïdes, saponines, tanins, stérols et sucres réducteurs.

II.2.1. Test des alcaloïdes

Dans des tubes à essai introduire 2 ml de l'extrait méthanolique Acidifier le milieu par quelques gouttes de HCl à 50%.

La formation d'un précipité jaune, après rajout de quelques gouttes du réactif de Mayer indique la présence d'alcaloïdes (N.Dohou *et al.*,2003).

II.2.2. Test des Saponines

La détection des saponines est réalisée en ajoutant un peu d'eau à 1 ml de l'extrait aqueux. Par la suite, cette solution est fortement agitée. Après 15 min de repos.

La détection des saponines se traduit par la persistance d'une mousse d'au moins 1 cm après les 15 minutes. (Dohouet *al.*,2003, Koffiet *al.*, 2009)

II.2.3. Test des phénols

Dans un tube à essai introduire 2 ml de l'extrait hydro méthanolique ensuite ont été mélangé avec 2 ml de l'éthanol à 96%.L'ajout de quelques gouttes de FeCl₃ permet l'apparition d'une coloration qui indique la présence de phénols (Najjaa *et al.*,2011).

II.2.4. Teste des tanins

Leur détection consiste à traiter 5 ml de l'extrait avec 5 ml de la liqueur de Fehling, la formation d'un précipité rouge brique après 2 à 3 min de chauffage au bain-marie à 70°C indique une réaction positive (Yves-Alain Bekroet *et al.*, 2007).

II.2.5. Test Tanins vrai

Dissoudre 2mg d'extrait dans 2ml d'eau distillée ajouter quelque gouttes D'HCL, puis chauffer au bain marie bouillant (90°C).

La formation d'un précipité rouge indique la présence des tanins vrais.

II.2.6. Test des flavonoïdes

Dans un tube à essai, introduire 5ml d'extrait hydro méthanolique, ensuite, ajouter quelques gouttes de HCl et quelques copeaux de magnésium. L'apparition d'une coloration rose ou rouge indique la présence des flavonoïdes. (Najjaa *et al.* ,2002).

II.2.7. Test des Quinones libre

Dissoudre 2mg d'extrait d'éther de pétrole dans 2ml d'eau distillée La présence de quinone libre est confirmée par l'ajout de quelques gouttes de NaOH (1/10), lorsque la phase aqueuse vire au jaune, rouge ou violet (Dohou *et al.* ,2003).

II.2.8. Test des Stérols et poly terpènes

Dans un tube à essai, dissoudre 2mg d'extrait d'éther de pétrole dans 2ml d'anhydride acétique, ajouter 1ml d'acide sulfurique. L'apparition, à l'interphase, d'un anneau violet, virant au bleu puis au vert, a indiqué une réaction positive (Koffi *et al.*, 2009).

II.2.9. Test de sucres réducteurs

Ils ont mis en évidence par l'ajout de 2ml de la liqueur de Fehling, à 2ml de l'extrait hydro méthanolique, puis chauffer 2 à 3min au bain marie (70°C).

La formation d'un précipité rouge brique indique la présence de sucres réducteurs (Yves-Alain Bekro *et al.*, 2007).

II.2.10. Test des flavonoïdes glycosides

Leur détection consiste à traiter 2ml de l'extrait hydro méthanolique avec 1ml de KOH à 1%.

L'apparition d'une coloration jaune indique la présence des flavonoïdes glycosides (Saima *et al.*, 2014).

II.3. Dosage sepectrophotométrique

II.3.1 Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué avec le réactif colorimétrique de Folin-Ciocalteu selon la méthode décrite par (Hua-Binli *et al.*, 2007). Le réactif précédent est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). ce réactif réduit, lors de l'oxydation des phénols, La coloration bleue produite est proportionnelle à la teneur en phénols totaux. Le dosage consiste à prendre un volume de 200 μ l de l'extrait dissous dans l'eau distillée (avec dilution convenable) ont été mélangés avec 1ml de réactif de Folin- Ciocalteu (dilué 10 fois par l'eau distillée)., après 4min, 800 μ l de carbonate de sodium Na_2CO_3 (7,5%) ajouté à la solution, puis le volume est ajusté à 3ml avec l'eau distillée, puis placer les tubes à l'ombre pendant 2 heures à 37°C. L'absorbance de l'extrait a été mesuré par spectrophotomètre à 760 nm.

Les concentrations des polyphénols de l'échantillon sont déterminées à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique (0-0.1mg/ml)

Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par un gramme de l'extrait (mg EAG/g d'extrait). (Clémentine *et al.*, 2012).



Figure 14 : dosage des poly phénols.

II.3.2. Dosage des flavonoïdes totaux

La méthode du trichlorure d'aluminium (**Bahorun *et al*, 1996**) est utilisée pour déterminer la teneur en flavonoïdes totaux dans l'extrait hydrométhanolique de *zizyphus lotus*.

Le protocole consiste à mettre dans un tube à essai 1ml de l'extrait (avec dilution convenable), puis 1ml d'une solution d' $AlCl_3$ (2% dans le méthanol) a été ajouté. Après 10 minutes de réaction, l'absorbance est lue à une longueur d'onde de 430nm.

La courbe d'étalonnage des flavonoïdes est effectuée en utilisant la Rutine à une concentration allant de 0 à 0.1mg/ml. La quantité des flavonoïdes dans l'extrait est déterminée suite à l'équation de régression linéaire déduite à partir de la courbe d'étalonnage et exprimée en milligramme équivalent de rutine par gramme d'extrait (mg RE/g extrait). (**Madi, 2018**)



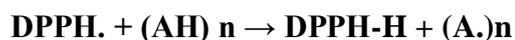
Figure 15 : Gamme de la rutine préparée pour le dosage des flavonoïdes.

II.4. Activités antioxydantes (*In-vitro*)

II.4.1. Evaluation de l'activité antioxydant par diphenyl picryl hydrazyl (DPPH)

Le Diphényle picryl-hydrazyl (DPPH), un radical libre stable, violet en solution et présentant une absorbance caractéristique à 517 nm. Cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényle picryl-hydrazine par un composé à propriété antiradicalaire, entraînant ainsi une décoloration (l'intensité de la coloration est inversement proportionnelle à la capacité des

antioxydants présents dans le milieu à donner des protons). On peut résumer la réaction sous la forme de l'équation suivant (halmi, 2015) :



Où (AH) n représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH (violet) pour le transformer en Diphényle picryl hydrazine (jaune). Ceci permet de suivre la cinétique de décoloration à 517 nm.

La solution de DPPH a été préparée par la solubilisation de 2,4mg de DPPH dans 100ml de méthanol (elle ne se conserve pas plus de 2jours à -5C° et à l'obscurité). Un volume de 200µl de l'extrait (à différentes concentrations) a été ajouté à 4ml de la solution de DPPH. Le mélange réactionnel a été agité vigoureusement et incubé 30 min à l'obscurité.

Les absorbances ont été mesurées à 517nm.

L'Acide ascorbique a été utilisé comme antioxydant de référence.

Les concentrations des échantillons et de l'acide ascorbique dans le milieu réactionnel sont comprises de 0 à 1mg/ml. (Cristina *et al.*, 2009).

La capacité de piégeage du radical libre est ensuite calculée à travers le pourcentage d'inhibition :

$$\% \text{Inhibition} = [(A_{\text{Control}} - A_{\text{d'extrait}}) / A_{\text{control}}] \times 100$$



Figure 76 : Résultat de DPPH

II.4.2. pouvoir réducteur (PR)

L'activité réductrice du fer FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) de notre extrait est déterminée selon la méthode décrite par Oyaizu M en 1986 basée sur la réduction du Fe^{3+} présente dans le complexe $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en Fe^{2+} .

1ml de l'extrait à différentes concentrations (de 0 à 1 mg/ml) est mélangé avec 2ml d'une solution tampon phosphate à 0,2 M (PH 6,6) et 2ml d'une solution de ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ à 1%. L'ensemble est incubé au bain marie à 50°C pendant 20 min, puis refroidit à la température ambiante, ensuite, 2ml d'acide trichloracétique (TCA) à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction, les tubes sont centrifugés à 3000 rpm pendant 10 min, 2ml de surnageant sont mélangés à 2,5ml de l'eau distillée et 2ml d'une solution de 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 distillé qui permet de calibrer l'appareil (UV-VIS spectrophotomètre). Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (Hubert, 2006).



Figure 17 : Résultat De Pouvoir Réducteur

II.5. Activité hypoglycémiant

II.5.1. Etude de l'activité de l'extrait méthanolique de *Zizyphus lotus*

(EMZI) sur la glycémie de rat

La glycémie des rats est mesurée à l'aide d'un glucomètre de marque Accu-Cheik Active et des bandelettes réactives. Dans cette étude, les rats sont mis à jeun pendant 16 heures avant les expériences. Les substances sont administrées par voie intra-péritonéale (IP).



Figure 18 : Injection des rats en IP



Figure 19 : Préparation d'EMZI

II.5.1.1. Effets dose-réponse d'EMZI sur la glycémie des rats en hyperglycémie (provoquée par le glucose)

Pour cette étude, 15 rats sont utilisés. Ils sont repartis en 5 lots de 3 rats.

- ✓ Lot 1 : rats témoins positives qui reçoivent 0.5ml du glucose (50%).
- ✓ Lot 2 : rats négatives qui reçoivent 0.5ml du glucose puis administration de 0.5ml de glycophage (substance de référence).
- ✓ Lot 3 : administration de 0.5ml de glucose puis l'injection de 0.5ml de l'EMZI à la dose de 100 mg/kg de PC.
- ✓ Lot 4 : administration de 0.5ml de glucose puis l'injection de 0.5ml de l'EMZI à la dose de 250 mg/kg de PC.
- ✓ Lot 5 : administration de 0.5ml de glucose puis l'injection de 0.5ml de l'EMZI à la dose de 500 mg/kg de PC.

La glycémie des rats de chaque lot est mesurée juste avant l'administration (t0) des substances puis, après le traitement, elle est mesurée à 30 minutes, 1 heures, 2heures, et après 3heures et le pourcentage de réduction de l'hyperglycémie provoquée est ensuite calculé.

Le prélèvement de sang est effectué au niveau de veine marginale de la queue.

La détermination de la glycémie se fait avec un Glucomètre (Accu Cheik). La goutte de sang ponctionnée est déposée sur la zone active d'une bandelette. La lecture de la glycémie se fait automatiquement.

II.5.1.2.Effets dose-réponse d'EMZI sur la glycémie des rats normoglycémiques.

Pour cette étude, 12rats sont utilisés. Ils sont repartis en 4 lots de 3 rats. (Les rats sont mis à jeun pendant 16 heures avant les expériences).

- ✓ Lot 1 : rats témoins qui reçoit 0.5 ml eau distillé.
- ✓ Lot 2 : administration de 0.5ml de l'EMZI a la dose de 100 mg/kg de PC.
- ✓ Lot 3 : administration de 0.5ml de l'EMZI à la dose de 250 mg/kg de PC.
- ✓ Lot 4 : administration de 0.5ml de l'EMZI à la dose de500 mg/kg de PC.

La glycémie des rats de chaque lot est mesurée juste avant l'administration (t0) d'EMZI puis, après le traitement, elle est mesurée à 30 minutes, 1 heures, 2heures, et après 3heures et le pourcentage de réduction est ensuite calculé.

Résultats

Et Discussion

I. Criblage phytochimique

Le screening phytochimique consiste à détecter les différents métabolites secondaires existants dans la partie aérienne de *zizyphus lotus*.

Ces tests photochimiques sont réalisés sur les extraits préparés dans différents solvants (eau - méthanol, éther de pétrole).

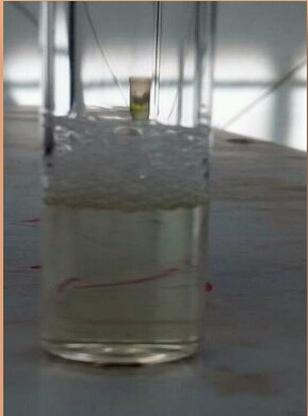
La détection de ces composés est basée sur des essais de solubilité des constituants, des réactions de précipitation et de turbidité, un changement de couleur spécifique.

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 4 : Résultats des réactions de caractérisation des principaux métabolites secondaires contenus dans l'extrait méthanolique de *zizyphus lotus*.

Métabolites Secondaires	Présence/ absence	Coloration	Photographie de résultat
Alcaloïdes (test de Mayer)	+++	Précipité jaune	

<p>phénols</p>	<p>++</p>	<p>Brune verdâtre</p>	
<p>Tanins</p>	<p>+++</p>	<p>Brune verdâtre</p>	
<p>Tanins vrai</p>	<p>+++</p>	<p>Précipite rouge</p>	

<p>Quinones libre</p>	<p>++</p>	<p>Jaune</p>	
<p>Saponines</p>	<p>+++</p>	<p>Une mousse de 2cm</p>	
<p>Stérols et poly terpènes</p>	<p>+++ (stérols)</p>	<p>Anneau vert</p>	

<p>Sucres réducteurs</p>	<p>++</p>	<p>Rouge brique</p>	
<p>Flavonoïdes</p>	<p>++</p>	<p>Rose</p>	
<p>Flavonoïdes glycosides</p>	<p>+++</p>	<p>Jaune</p>	

(+) Résultat faiblement positif, (++) Résultat positif, (+++) Résultat fortement positif.

L'analyse phytochimique de l'extrait méthanolique de zizyphus lotus montre que cette plante contient les composés phénoliques suivant ; les flavonoïdes, flavonoïdes glycosides, alcaloïdes, tannins, tannins vrai, saponine, stérol et poly terpène, sucre réducteur et quinone libre avec une quantité qui diffère d'un composé à un autre.

Tous ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Borgi et al. (2007). Où l'analyse phytochimique faite sur l'extrait méthanolique des feuilles montre la présence des composés phénoliques (les flavonoïdes, les tanins et les saponines...etc.).

II. Dosage sepectrophotométrique

II.1.-Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux dans les extraits de *zizyphus lotus* a été effectué par la méthode sepectrophotométrique de Folin ciocalteu(FCR).

La teneur en polyphénols totaux est exprimée en mg équivalent d'acide gallique par g d'extrait . On utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée par l'acide gallique (Figure20).

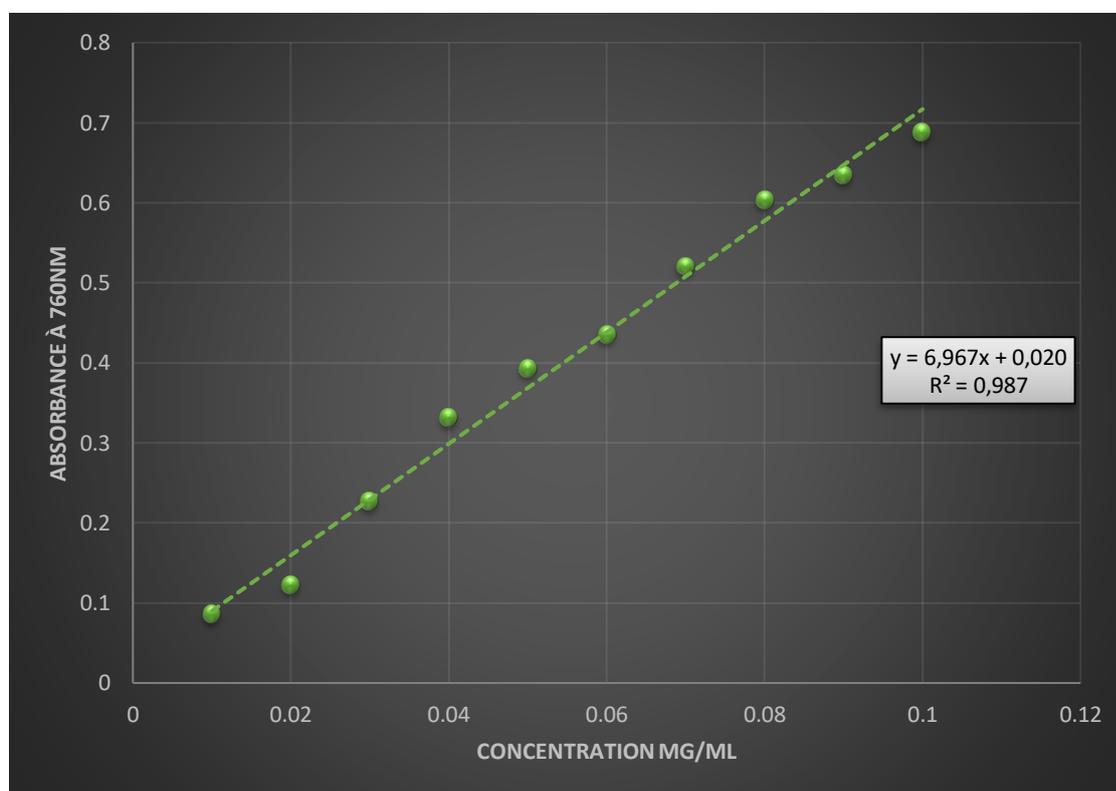


Figure 10 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique.

La teneur en polyphénols totaux dans l'extrait méthanolique de *zizyphus lotus* est de l'ordre de 56.8mg GAE/g d'extrait.

Tableau 5 : Teneurs en polyphénols totaux

Extrait	Teneurs en polyphénols
Hydrométhanoliques	56.8 mg/g d'extrait

Notre extrait est apparait moins riche en polyphénols par comparaison avec les résultats obtenus par Bakchiche et Gherib (2014) dont la valeur est de l'ordre de 108.04mg/g dans l'extrait hydro alcoolique des fruits et feuilles de *Zizyphus lotus*.

Le contenu polyphénolique varie qualitativement et quantitativement d'une plante à autre, cela peut être attribué à plusieurs facteurs :

-Facteurs climatiques et environnementaux : la zone géographique, sécheresse, sol, agressions et maladies...etc. (Ebrahimi *et al.*, 2008).

- Le patrimoine génétique, la période de la récolte et le stade de développement de la plante (Miliauskaset *al.*, 2004).

- La méthode d'extraction et la méthode de quantification peuvent également influencer l'estimation de la teneur des phénols totaux (Lee *et al.*, 2003).

II.2-Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé par la méthode de trichlorure d'aluminium (Ahn *et al.*, 2007).

La Rutine considérée comme contrôle positif a permis de réaliser une courbe d'étalonnage d'où on a calculé la teneur en flavonoïdes des différents extraits de la plante qui est exprimée en mg équivalent de la Rutine (ER) par gramme d'extrait. (figure21).

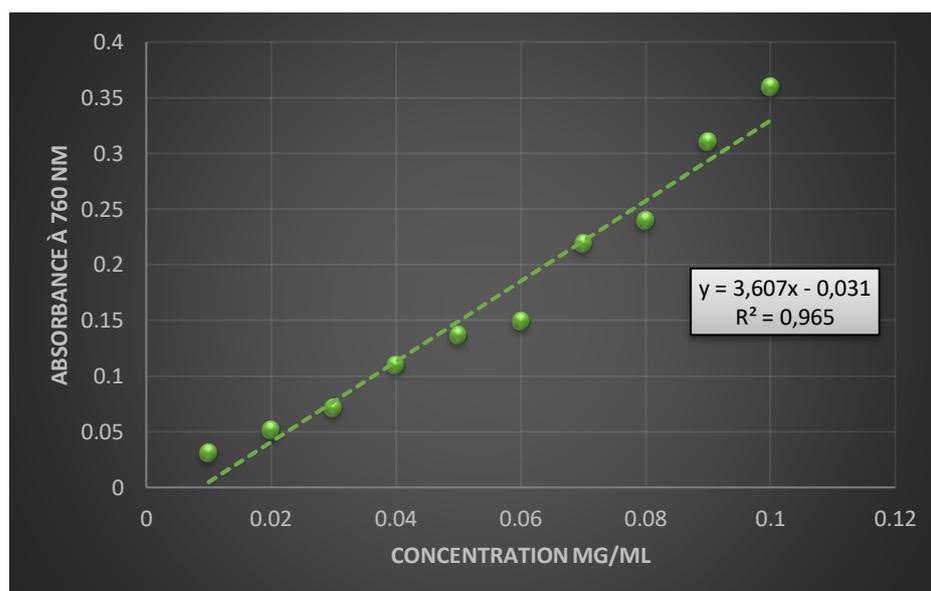
**Figure 21** : Courbe d'étalonnage de la rutine.

Tableau 6 : Teneurs en flavonoïdes totaux

Extrait	Teneurs en flavonoïdes
Hydrométhanoliques	35.04 mg/g d'extrait

La teneur en flavonoïdes totaux dans l'extrait méthanolique de *zizyphus lotus* est de l'ordre de 35.04mg RE/g d'extrait.

D'après les résultats obtenus on constate que notre extrait est plus riche en flavonoïdes par comparaison avec les résultats obtenus par Bakchiche et Gherib (2014) dont la valeur est de l'ordre de 14.32 mg/g dans l'extrait hydro alcoolique des fruits et feuilles de *Zizyphus lotus*.

D'après les résultats précédents, on constate que dans l'extrait méthanolique, la teneur en polyphénols est supérieure que celle des flavonoïdes

III. Evaluation de l'activité antioxydante par diphenyle-picryl-hydrazyl (DPPH)

La mesure de l'absorbance (ou densité optique DO) a été effectuée par spectrophotométrie à 517 nm. A partir des valeurs obtenues, nous avons calculé les pourcentages d'inhibition en utilisant la formule donnée auparavant. Les valeurs obtenues ont permis de tracer la courbe (**figure23**) de la variation du pourcentage d'inhibition en fonction de différentes concentrations d'extraits de la plante. Nous avons déterminé graphiquement la concentration correspondante à 50 % d'inhibition (IC50), qui constitue l'activité antioxydante des extraits étudiés.

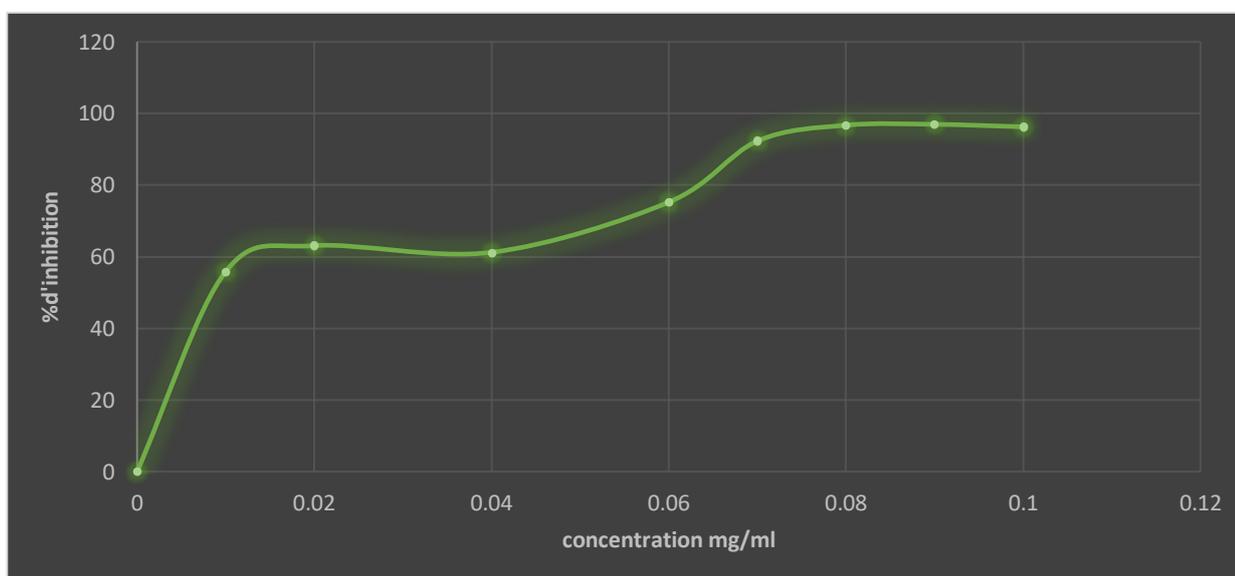


Figure 22 : Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de l'acide ascorbique

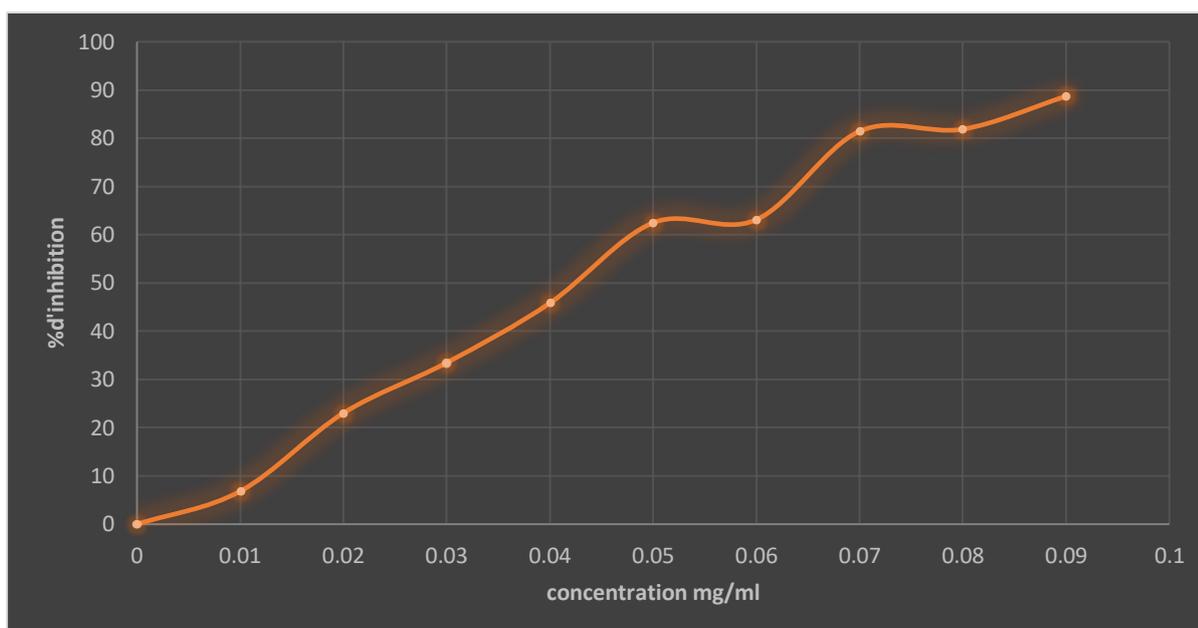


Figure 23 : Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration d'extrait

L'activité antioxydante de l'extrait méthanolique d'*zizyphus lotus a* été évaluée par leur activité inhibitrice sur une solution méthanolique du DPPH, les résultats seront comparés avec le standard qui est l'acide ascorbique.

A partir des courbes des taux d'inhibition, nous avons pu déduire graphiquement les valeurs d'IC50 de l'AC ascorbique et de l'extrait méthanolique de la plante étudiée (**figure24**).

La valeur de L'IC50 est inversement proportionnelle à la capacité antioxydante (taux d'inhibition I%) d'un composé, car elle reflète la quantité d'antioxydant requise pour neutraliser 50% de la concentration initiale du radical libre dans le milieu. Plus la valeur d'IC50 est faible, plus l'activité anti radicalaire d'un composé est appréciable.

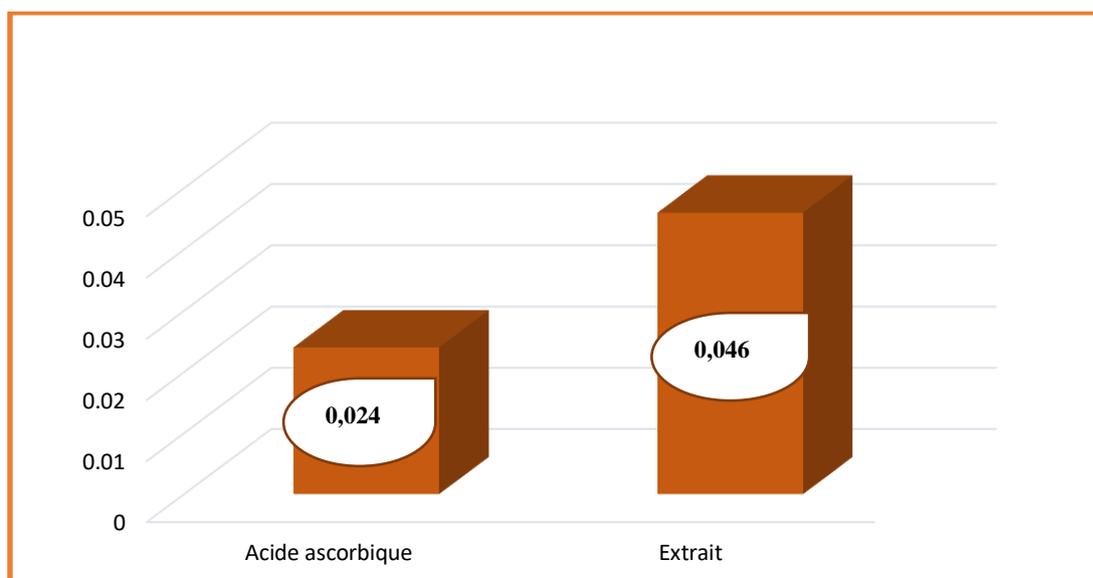


Figure 24 : Valeurs d'IC50 de l'acide ascorbique et de l'extrait méthanolique

L'extrait méthanolique des feuilles de *zizyphus lotus* ont une activité antioxydante très importante leur IC50 est 0,046mg/ml, dont sa valeur est plus proche à celle d'acide ascorbique dont la valeur est de l'ordre de 0,024mg/ml.

Nos résultats sont accords avec ceux obtenue par Bakchiche et Gherib (2014) dont la valeur d'IC50 est de l'ordre de 0.042 mg/ml.

Il a été démontré que les molécules antioxydant telles que l'acide ascorbique, tocophérol, flavonoïdes et les tanins réduisent et décolorent le DPPH en raison de leur capacité à céder l'hydrogène (**De Pooter et al., 1986**), ceci peut être expliqué par la forte teneur en flavonoïdes, et polyphénols.

IV. Pouvoir réducteur

L'activité antioxydante d'extrait de la plante étudiée *zizyphus lotus* a été évalué en utilisant la méthode de FRAP (Ferric reducing antioxydant power).

Cette dernière est un essai simple, rapide et reproductible. Il est universel peut être appliqué aussi bien chez les plantes que les plasmas et dans les extraits organiques et aqueux (**Li et al., 2008**).

L'activité réductrice du fer est estimée par la concentration efficace(CE50) qui correspond à une absorbance égale a0.5.les valeurs de CE50 sont obtenues à partir de la courbe de régression linéaire entre la concentration de l'extrait et la densité optique (**khadhari et al.,2012**).

La présence des réducteurs dans les extraits des plantes provoque la réduction de Fe³⁺/ complexe ferricyanide à la forme ferreux. Par conséquent, Fe²⁺ peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu dans le milieu réactionnel à 700nm. (**Chung et al., 2002**).

La figure 25 représente le pouvoir réducteur de l'acide ascorbique, et de l'extrait méthanolique de *zizyphus lotus* à différentes concentrations.

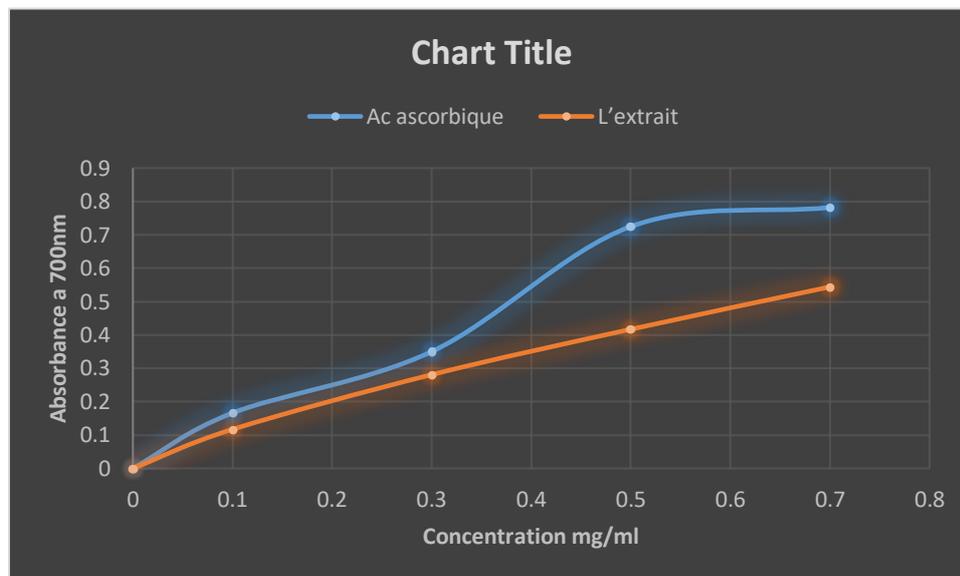


Figure 25 : Pouvoir réducteur de l'extrait méthanolique et l'acide ascorbique.

D'après nos résultats, nous avons remarqué chez l'extrait testé l'augmentation de la réduction du fer est proportionnelle aux concentrations utilisées, C'est à dire le pouvoir réducteur et les concentrations dépendantes.

A une absorbance de 0,5nm, le pouvoir réducteur de l'extrait méthanolique *zizyphus lotus* est égale à CE50= 0.618mg/ml et cette valeur, elle est nettement moins forte à celui de l'acide ascorbique (CE50=0.380mg/ml) (Figure 25).

Donc ces résultats montrent la présence des composés phénoliques tels que les polyphénols, les flavonoïdes dans l'extrait MET qui possèdent la propriété de piéger les radicaux libres et de réduire les oxydants.

Nos résultats sont en accord avec ceux trouvé par Bakchiche et Gherib (2014) que l'extrait méthanolique de *zizyphus lotus* possède une activité important par la méthode de FRAP.

V. Activité Anti hyper et Hypoglycémiante de l'extrait méthanolique de *zizyphus lotus*

V.1.Effets dose-réponse d'EMZI sur la glycémie des rats en hyperglycémie (provoquée par le glucose)

Chez un groupe des rats témoins négatifs, l'administration de glucose à 50% entraîne une hyperglycémie significative qui apparaît au bout de 30 mn. (**Voir tableau7**)

Chez un groupe des rats témoins positifs, l'administration de glucose à 50% et de glycophage entraîne une hyperglycémie significative qui apparaît au bout de 30 mn

Chez un groupe des rats traités, l'administration de glucose et l'EMZL à différents doses (100mg, 250mg, 500 mg) entraîne une hyperglycémie significative qui apparaît aussi au bout de 30 mn. (**Voir tableau7**)

La variation de la glycémie chez les rats témoins et traités :

Les témoins :

Chez les témoins négatifs (après administration de glucose)

On constate une réduction de la glycémie de 7.96% à T60 qui passe à 9.73% à T120, cette diminution a atteint 12.38% à T180. (**Tableau 7**)

Chez les témoins positifs (après administration de glucose puis glycophage.)(**Tableau 7**).

On constate une réduction de la glycémie de 10.13% à T60 qui passe à 42.56% à T120, cette diminution a atteint 43.24% à T180.

Les rats traités :

- A la dose 100mg/kg

On constate une réduction importante de la glycémie de 35.8 % à T60 qui passe à 47.05% à T120, cette diminution atteint 57.22% à T180.

- A la dose 250mg/kg

On constate une faible réduction de la glycémie de 3.5% à T60 qui passe à 6.14% à T120, cette diminution a atteint 13.15% à T180.

- A la dose 500mg/kg :

On constate une réduction de la glycémie de 2.45% à T60 qui passe à 9.31% à T120, cette diminution reste constante à T180 (32.84%). (**Tableau 7**).

Tableau 7 : Pourcentage de réduction chez les rats témoins et traités en hyperglycémie

	Avant	30min	1heur	2heur	3heur
Témoin(+)	0.72±0.26	1.13±0.53	1.04±0.42	1.02±0.05	0.99±0.13
%Réduction		0	10.13	42.56	43.24
Témoin(-)	0.8±0.05	1.48±0.08	1.33±0.11	0.85±0.33	0.84±0.14
%Réduction		0	7.96	9.73	12.38
100 mg	1.13±0.085	1.87±0.11	1.20±0.17	0.88±0.09	0.80±0...06
%Réduction		0	35.8	47.05	57.22
250mg	0.54±0.11	2.28±0.43	2.20±0.27	2.14±0.22	1.98±0.06
%Réduction		0	3.5	6.14	13.15
500mg	1.26±0.22	2.04±0.55	1.99±0.60	1.85±0.64	1.37± 0.30
%Réduction		0	2.45	9.31	32.84

Parmi ces résultats on trouve que la dose 100mg/kg d'EMZI a donné une meilleur activité anti hyperglycémiant par rapport au d'autres doses. (**Tableau7**).

La variation de la glycémie obtenue après administration d'EMZI a la dose 100mg/kg est plus importante par rapport au celle du groupe témoins positives.

V.2 Effets dose-réponse d'EMZI sur la glycémie des rats normoglycémiques

Chez les rats témoins et traités, on constate une diminution de la glycémie tous les 4 heures (**Tableau8**).

La variation de la glycémie chez les rats témoins et traités :

Les témoins :

Chez les témoins On constate une réduction de la glycémie de 7.81% à T60 qui passe à 32.81% à T180.

Les rats traités :
- A la dose 100mg/kg

On constate une réduction importante de la glycémie de 20.97% à T60 qui passe à 41.95% à T120, cette réduction a atteint 45.45% à T180.

- A la dose 250mg/kg

On constate une faible réduction de la glycémie de 18.43% à T60 qui passe à 13.47% à T120, cette réduction a atteint 38.70% à T180.

- A la dose 500mg/kg :

On constate une réduction de la glycémie de 19.42% à T60 qui passe à 24.46% à T120, cette réduction a atteint à 25.17% à T240.

Tableau 8 : Pourcentage de réduction chez des rats normoglycémiques.

	Avant	30min	1heur	2heur	3heur
Témoin	0.44 ±0.11	0.64±0.12	0.59±0.04	0.51±0.11	0.43±0.11
%Réduction		0	7.81	20.31	32.81
100mg	1.21 ±0.05	1.43 ±0.09	1.13± 0.39	0.83± 0.03	0.78 ±0.06
%Réduction		0	20.97	41.95	45.45
250mg	0.75 ±0.54	1.41± 0.09	1.15± 0.11	1.22 ±0.38	0.87 ±0.23
%Réduction		0	18.43	13.47	38.70
500mg	1.29 ±0.11	1.39± 0.15	1.12± 0.80	1.05 ±0.69	1.04 ±0.37
%Réduction		0	19.42	24.46	25.17

Parmi ces résultats on trouve que la dose 100mg/kg d'EMZl a donné une meilleur activité hypoglycémiant par rapport au d'autres doses.

La variation de la glycémie obtenue après administration d'EMZl a la dose 100mg/kg est plus importante par rapport au celle du groupe témoins.

En concluent que l'extrait méthanolique *zizyphus lotus* possède une activité hypoglycémiant important.

Les résultats de cette étude sont en accord avec les travaux de (Yansambou .,2002) qui ont montré une diminution de 56,02% de la glycémie pour le macéré des feuilles de *Zizyphus mauritiana* à la dose de 150mg/kg chez les lapins lors de test sur l'hyperglycémie temporaire.

D'autres travaux d'(Adama et al., 2016) montrent l'effet hypoglycémiant chez les différentes espèces de genre *zizyphus*.

Conclusion

Conclusion

La biodiversité végétale de Sahara est caractérisée par la présence des plantes médicinales riche en métabolites secondaires ayant un grand pouvoir thérapeutique contre plusieurs maladies.

Ce travail avait pour objectifs d'évaluer l'activité antioxydante et hypoglycémiant de l'extrait des feuilles de *zizyphus lotus* qui sont utilisés en pharmacopée traditionnelle comme sédatif, analgésique, tonique et anti-inflammatoire... etc.

Le criblage phytochimique mis en évidence la présence des composés phénoliques, les flavonoïdes, les tannins, les tannins vrais, les saponines, les alcaloïdes, les quinones libres, les sucres réducteurs et les stérols et poly terpène avec une quantité qui diffère d'un composé à un autre.

Le dosage des phénols totaux de l'extrait méthanolique par la méthode du Folin-ciocalteu a montré une teneur égale à 56.8mg GAE/g d'extrait.

D'autre part, le dosage des flavonoïdes par la méthode d'AlCl₃ a révélé une teneur égale à 35.04mg RE/g d'extrait sec. On trouve que la plante est plus riche en polyphénols que des flavonoïdes.

L'activité antioxydante des extraits des feuilles est évaluée par le test antiradicalaire qui consiste à estimer la capacité de piégeage du radical libre DPPH, les résultats obtenus montrent que l'extrait possède un grand pouvoir antioxydant dont la valeur d'IC₅₀ est 0.046 mg/ml.

D'autre part, la méthode du pouvoir anti oxydant par Réduction du Fer (FRAP) montre que l'extrait méthanolique possède un pouvoir réducteur élevé.

En perspective, il serait fort intéressant de compléter cette étude *in vitro* par une expérience *In vivo* et de s'en assurer de l'innocuité totale chez un modèle animal de choix, à même capable de vérifier d'autres propriétés biologiques comme l'activité hypoglycémiant.

L'étude de l'activité hypoglycémiant a permis de démontrer une activité hypoglycémiant importante de l'extrait chez les rats à la dose de 100mg/kg,

En fin, la biodiversité des plantes médicinales traditionnelles constitue un réservoir assez important de métabolites secondaires pour la recherche dans le futur.

Annexes

Annexes :

I-Criblage phytochimique :

I-1-Préparation de la solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) 1/10 :

1/10 c'est-à-dire 0,1N

Masse molaire NaOH = 40 g/ mol

$$40\text{g} \rightarrow 1\text{N}$$

$$X\text{g} \rightarrow 0,1\text{N} \quad \text{Donc } X = 4 \text{ g}$$

$$4\text{g} \rightarrow 1000 \text{ ml}$$

$$X\text{g} \rightarrow 50 \text{ ml} \quad \text{Donc } X = 0,2 \text{ g}$$

Dissoudre 0,2 g de NaOH dans 50 ml d'eau distillée (solution mère).

Faire la dilution 1/10 c'est-à-dire prendre 1 ml de la solution mère et compléter avec 9ml d'eau distillée.

I-2-Préparation de réactif de Mayer :

-Chlorure de Mercure (HgCl_2) 2,70g

-Iodure de Potassium (KI) 10g

-Eau Distillée 20 ml

I-3-Préparation solution de chlorure ferrique (FeCl_3) à 1% :

Dissoudre 1 g chlorure ferrique dans 100 ml d'eau distillée.

I-4-Préparation de la Liqueur de Fehling :

Solution A :

Dans un erlenmeyer de 250 ml : Dissoudre 7g de sulfate de cuivre penta hydraté dans 100 ml d'eau distillée.

Solution B :

Dans un erlenmeyer de 250 ml : Dissoudre 34,6 g de tartrate double de sodium et de potassium, 10 g d'hydroxyde de sodium dans 100 ml d'eau distillée.

I-4-Préparation de la solution d'hydroxyde de potassium (KOH) :

Dissoudre 1 g d'hydroxyde de potassium dans 100 ml d'eau distillée.

II-Dosage des polyphénols totaux :

II-1-Préparation de Folin-Ciocalteu 1/10

Mélanger 1ml de Folin-Ciocalteu avec 9 ml d'eau distillée.

II-2-Préparation de carbonate de sodium 7,5 %

$$7,5g \rightarrow 100ml$$

$$Xg \rightarrow 50ml \quad \text{Donc } X = 3,75g$$

Dissoudre 3,75g de carbonate de sodium dans 50ml d'eau distillé.

II-3-Préparation de standard (acide gallique) 0,1 mg/ml

$$0,1mg \rightarrow 1ml$$

$$Xmg \rightarrow 20ml \quad \text{Donc } X = 2 \text{ mg}$$

Dissoudre 2mg d'acide gallique dans 20ml d'eau distillé.

II-4-Préparation de l'extrait 1mg/ml

Dissoudre 10 mg d'extrait méthanolique brut dans 10 ml de méthanol (solution mère).

Faire la dilution 2/10 c'est-à-dire prendre 2 ml de la solution mère et complétée avec 8 ml de méthanol

III-Dosage des flavonoïdes :

III-1-Préparation de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) 2% :

$$2\% \text{ c'est-à-dire } 2g \rightarrow 100ml$$

$$Xg \rightarrow 50 \text{ ml} \quad \text{Donc } X = 1 \text{ g}$$

Dissoudre 1g de trichlorure d'aluminium dans 50 ml de méthanol.

III-2-Préparation de standard (Rutine) 0,1 mg/ml :

$$0,1mg \rightarrow 1ml$$

$$Xmg \rightarrow 10ml \quad \text{Donc } X = 1 \text{ mg}$$

Dissoudre 1mg de la Rutine dans 10ml d'eau distillée

Références

Bibliographiques

Références bibliographiques

- Abdoul-Azize S., Bendahmane M., Hichami A, Dramane.G., Simonin.A, Benammar.C., Sadou.H., Akpona.S., El Boustani.ES., A. Khan.N. (2013),** Effects of *Zizyphus lotus L.* (Desf.) polyphenols on Jurkat cells signaling and proliferation, 15(2) :364–371.
- AdamaDénou, Yacouba Sawadogo, Mahamane Haïdara, AdiaratouTogola, RokiaSanogo, Drissa Diallo, (2016)** Activité antidiabétique des racines de *Zizyphus mauritiana* Lam (Rhamnaceae) et des feuilles de *Zizyphus mucronata* Willd (Rhamnaceae) chez le lapin
- Ahn, M; Kumazawa, S; Usui, Y; Nakamura, J; Atsuka, M; Zhu, F., Nakayama, T.(2007).** Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of China. Food Chemistry. 101: 1400-1409.
- Aissa F, (1999).** Encyclopédie des plantes utilisées, Flore d'Algérie et du Maghreb -Substance végétale, Edition Librairie Moderne, Rouïba, 145p
- Ali N.A.A., Julish W.D., Kusunick C., Lindesquist U.(2001).** Screening of yamani medicinal plant for antibacterial and cytotoxic activities. Journal of Ethnopharmacology. Pp173-179.
- Allali, H., Benmehdi, H., Dib, M.A., Tabti, B., Ghalem, S., and Benabadj, N,(2008).** Phytotherapy of diabetes in west Algeria. *Asian Journal of Chemistry*, 20 (4):2701-2710.
- Amany M., Basuny. Shaker M., Arafat and Hoda A, .Frag,(2013).** Utilisation from fruits and leaves of Napek (*Zizyphus spina-christi L.*) As a source of bioactive Components. *International Journal of Chemical and Natural Science*, 1:29-36.
- Apakr, (2007).** Guclu K, Demirata B, Zyurek M ,Celik ES, Comparative evaluation of various total antioxidant capacity Assays applied to phenolic compound with the CUPRAC, Assay molecules , 12 :1496-1547
- BabaAissa F, (1999).** Encyclopédie des plantes utilisées. Flore d'Algérie et du Maghreb Substance végétale, Edition Librairie Moderne, Rouïba, 145p
- Bahorun T, (1997).** Substances naturelles actives : la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. Food and agricultural research council. Mauritius. Pp 83-94.
- Bakchiche, B., and Gherib., A, (2014)** .Activités antioxydantes des polyphénols extraits de plantes médicinales de la pharmacopée traditionnelle d'Algérie.

- Balasundram N., Sundram K. et Samman S. (2005).** Phenolic compounds in plants and agriindustrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*. **99**: 191–203.
- Bamforth CW,(2000)** .Perceptions of beer foam. *J. Inst. Brew.*, 106: 229-38.
- Barrou B., Bitker MO., Grimaldi A., Debré P. et Richard F. (2004).** Transplantation pancréatique: indications, résultats et perspectives. *Encyclopédie médico-chirurgicale-Endocrinologie* 1:43-53.
- Beaudeau, J.-L., Delattre, J., Therond, P., Bonnefont-Rousselot, D., Legrand, A. & Peynet, J. (2006).** Le stress oxydant, composante physiopathologique de l'athérosclérose. *Immuno-analyse & Biologie spécialisée* **21**, 144–150.
- Bekir S et Adnan N Y. (2010).** Phenolic, alpha-tocopherol, beta-carotene and fatty acid Composition of four promising jujube (*Zizyphus jujube* Miller) selections? *23(7)*: 706–710
- 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.
- Bindseil K.U., Jakupovic J., Wolf D., (2001).** Pure compound libraries; a new perspective for natural product based drug discovery. *Drug Discov. Today*. Pp 840-847.
- Bruneton J,(2008).** Acides phénols. In: *Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales*. Ed: Tec & Doc. Lavoisier, Paris. p 198-260
- .Bonnet, C., Alamigeon, F. & Micheels, P. (2010).** Guide complet des soins esthétiques : du coté de ma vie. *Edition Eyrolles*, p 14.
- Bonnet, J.(2001).** Larousse des arbres - Dictionnaire des arbres et des arbustes p. 512.
- Borgi ,W., Bouraoui , A., and Chouchane., N.(2007).** Antiulcerogenic activity of *Zizyphus lotus* (L.) extracts. *Ethnopharmacology*, 112(2) : 228-231.
- Boumaza A,(2009).** Effet de l'extrait méthanolique de *Zygophyllum cornutum* coss contre le stress oxydant associé au diabète sucré et les organes en relation. Mémoire de Magister en Biologie cellulaire et moléculaire. Université Mentouri, Constantine. Pp. 30-32.
- Boutabet K,(2007).** Etude pharmacochimique de l'extrait de propolis au cours d'un Stress oxydatif rénal induit par la doxorubicine. Thèse de Magistère de l'université de Jijel.
- Burkill, HM,(1997).** The useful plants of west tropical Africa, 2eme edition, volume 4, Edition the trusters of Royal Botanic Garden Kew, 96P.
- Cano, N., Barnoud, D., Schneider, S. M., Vasson, M.-P., Hasselmann, M. & Leverve, X. (2006).** Traité de nutrition artificielle de l'adulte. *Edition Springer*, p 255.

Carillon, E.(2000). La phytothérapie face à l'évolution médicale Fouché, J., Marquet, A., and Hambuckers, A. Les plantes médicinales de la plante au médicament, Observation du monde des plantes.

Carr, A. Frei, B. (1999): Does vitamin C act as pro-oxidant under physiological Conditions? *FASEB J.* **13**(9), 1007-1024.

Catoire C., Zwang H and Bouet C. (1994). Le jujubier ou le *Zizyphus lotus*. Fruits oubliés. Article n°1.

Causse, C, (2005). Les secrets de santé des antioxydants : C'est naturel, c'est ma santé. *Alpen éditions s.a.m.*, p 30.

Césarini, J.-P,(2004) : Le sélénium : actualités. *John LibbeyEurotext Edition*, p 14.

Chen, K., Sun, J., Carr, AC., Morrow, JD. Zeind, J., and Frei, B. (2000). VitaminCsuppresses oxidative lipid damage in vivo, even in the presence of iron overload.

Christophe, P. & Christophe S. (2011). Physiologie, pathologie et thérapie de la reproduction chez l'humain. *Edition Springer*, p 84.

Chucua M.T., Lamela M., Gato A. et Cadavid I. (1987). Centourea corcubionensis. A study of its hypoglycaemic activity in rats. *Planta Medica* 107-109.

Chung Y.C., Chang C.T., Chao W.W., Lin C.F., Chou S.T, (2002). Antioxidative activity and safety of the 50% ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Pp 2454–2458.

Claudine, R,(2007). Le nom de l'arbre : le grenadier, le caroubier, le jujubier, le pistachier et l'arbousier. Actes sud leMajan, 1eredition France, p. 45-62.

Clémentine, B., Mathieu, S., Elena, V., Ilonka, S. (2012). Etude de l'extraction de Composés phénoliques à partir de pellicules d'arachide (*Arachishypogaea* L.), *Revue de Génie Industriel*.p 37.

D'Archivio M , (2007).Felisi C , Benedetto R, Garguilo R ,Giovannini C, Masella R, Polyphenol, dietary source and bioavailability, *Annist super sanita*, 43(4):348-361s.

Daglia, M,(2012). "Polyphenols as antimicrobial agents." *Current Opinion in Biotechnology* **23**(2): 174-181.

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

Delporte, G., Mascolo, N., Izzo, A., (1999). *Life, Scien.*, 65(4), 337-53.

De Pooter H.L., Schamp N.(1986). Comparaison of the volatils composition of some *Calaminthasatureja* species. In : *Progress in essential oil research*. Edition E-J. Brunk, Walter De Gruyter. Berlin. Pp139-150.

- Dey lucey M.D., Anoja S., Attele D.D.S. et Chun-Su Yuan M.D. (2002).** Alternative therapies for type 2 diabetes. *Alternative medicine Review* 7: 45-58.
- Di Carlo G., Mascolo N., Izzo A.A., et Capasso F. (1999).** Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs, *Life. Sci.* 65 (4): 337-53.
- Dirckx J.H.(1998).** The honeyed siphon: diabetes mellitus past, present and future. *Perspectives Fall* 35-41.
- Dohou .n, k. Yamni, s. Tahrouch, l.m. idrissihassani, a.badoc, n. Gmirathymelae. (2003).** screening phytochimiqueD'uneendémique ibéro-marocaine, *thymelaealythroides*, 142, 61-78.
- Ebrahimi N.S., Hadian J., Mirjalili M.H., Sonboli A., et Yousefzadi M. (2008).** Essential oil composition and antimicrobial activity of *Thymus caramanicus*at differentphonological stages. *Food chemistry.*, **110** : 927-931.
- Edeas, M,(2005).** Les secrets de santé du thé : c'est naturel, c'est ma santé. *Alpen Editions s.a.m.*, p 18.
- Favier, A, (2003).** Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique.p 110.
- Freychet P., Corvol P. et Desbuquois B. (1978).** Aspects fondamentaux et physio-pathologiques. Paris : Edition Hermann, p. 358.
- Fuorucci S,(2006).** Activités biologiques de composés de la famille des flavonoïdes : Approches par des méthodes de chimie quantique et deNice Sophia Antipolis
- Ghedira, K., Chemli, R., Caron, C., Nuzillard, J., and Zeches,M.(1994).** Four cyclopeptidealkaloids from *Zizyphus lotus*. *Phytochemistry*, 38:767-772.
- Guillaume, J, (1999).** Nutrition et alimentation des poissons et crustacés : Du labo au terrain. *Edition Quae*, p 229.
- Guinebert E., Durand P., Prost M., Grinand R., Bernigault R. (2005).** Mesure de la résistance aux radicaux libres. *Sixièmes Journées de la Recherche Avicole*. Pp : 554-558.
- Gupta R.K., Kesari A.N., Diwakar S., Tyagi A., Tandon V., Chandra R. et Watal G. (2008).** *In vivo* evaluation of ant-oxidant and anti-lipidimic potential of *Annona scanosa* aqueus extract in type 2 diabetic models. *Journal of ethnopharmacolog* 118:21-25.
- HADI M,(2004)** La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres ; études et applications thérapeutiques. Thèse Présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur en Sciences de l'Université Louis Pasteur Domaine : Pharmaco chimie. 155p.
- Hadj Salem, J, (2009).** Extraction, Identification, caractérisation des activités biologiques de flavonoïdes de *Nitrariaretusa*et synthèse de dérivés acyles de ces molécules par voie enzymatique. Thèse de Doctorat : Université de LORRAINE

Hagerman AE, Riedl KM, Jones GA, Sovik KN, Ritchard NT, Hartzfeld PW, Richel TL. (1998).

High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. *J. Agric.Food Chem.*, 46: 1887-92.

Halenge, J,(2007). Le stress oxydant. p628

Halliwell B,(2009). The wanderings of a free radical. *Free radical biology & Medicine* 46: 531-542.

Halmi, S, (2015). Etude botanique et phytochimique approche biologique et Pharmacologique d'opuntia ficus, diplôme de doctorat, biotechnologie végétale. p17, 20 25.57.

HanenNajjaa, Sami Zouari, Ingrid Arnault, Jacques Auger, EmnaAmmar et Mohamed Neffati, (2011). Différences et similitudes des métabolitessecondaires chez deux espèces du genre *Allium*, *Allium roseum*L. et *Allium ampeloprasum*L.158 (1), 111-123.

Hennebelle, T,(2006). "Investigation chimique, chimiotaxonomique et pharmacologique de Lamiales productrices d'antioxydants." *ChimieOrganique et MacromoléculaireDocotrat*: 303

Hollman P.C.H.,Katan M.B. (1998). Bioavailability and health effects of dietary flavonols in man. *Arch. Toxicol.suppl.* 25 : 237-239.

Hubert J, (2006).Caractérisation biochimique et proprié(tés biologiques desmicronutriments du germe de soja. Etude des voies de sa valorisation en nutrition et santéhumaines, Thèse pour lobtention du Diplôme de Doctorat à l'Institut Nationale Polytechniquede Toulouse, Ecole Doctorale des Sciences Ecologiques, Vétérinaires, Agronomiques etBioingénieries.

Ichai, C., Quintard, H. &Orban, J.-C. (2011). Désordres métaboliques et réanimation : de la physiopathologie au traitement, *Edition Springer*, p 427

Jacob, L. (2007). L'insuffisance rénale aiguë. *Edition Springer*, p 88.

Jarrige, R. &Ruckebusch, Y. (1995). Nutrition des ruminants domestiques : Ingestion et digestion. *Editions Quae*, p 57.

E.Jarald, (2008) Diabetes and herbal medicine. *Iranian Journal of Pharmacology and therapeutics* : 7: 97-106.

Kaiser, S., P. Di Mascio, M. E. Murphy et H. Sies (1990)."Physical and chemical scavenging of singlet molecular oxygen by tocopherols." *Archives of Biochemistry and Biophysics* 277(1): 101-108.

Kerharo, J. et Adams, G. (1974). La pharmacopeeSenegalaise traditionnelle Plantes medicinales et toxiques. Editions Vigot et freres. Paris. 1011P.

- Kirsh, M. & De Groot, H. (2002).** Formation of peroxyxynitrite from reaction of nitroxyl anion with molecular oxygen. *Journal of Biological Chemistry* **277**(16), 13379-13388.
- Koehn F.E., Carter G.T.(2005).** The evolving role of natural products in drug discovery. *Nat Rev Drug Discov.* Pp 206-220
- Koffi N., Beugré K., Guédé N.Z., Dossahoua T., Laurent A.(2009).** Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Sciences et Nature.* Pp 1-15
- Kojo, S ., (2004).** Vitamin C: basic metabolism and its function as an index of oxidative stress. *Curr Med Chem*, 11(8): 1041-64.
- 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.
- LeCroueour G ., Thepenier P ., Richard B ., Petermann C ., Ghedira K ., Zeches-Hanrot M. (2002).** Lotusine G: a new cyclopeptide alkaloid from *Zizyphus lotus*. *Fitoterapia*, 73:63-68.
- Lee K.W., Kim Y.J., Lee H.J., ET Lee C.Y. (2003).** Cocoa has more phenolic Phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Food chemistry.*, **51** : 7292-7295.
- Li H.B., Cheng K.W., Wong C.C., Fan K.W., chen F., Tian Y.(2007).** Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fraction of selected microalgae. *Food Chemistry.* Pp 771-776.
- Li H.B., Wong C.C., Cheng K.W., Feng C.(2008).** Antioxidant properties *in vitro* and total Phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. *Lebensmittel- Wissenschaft and Technology.* Pp 385–390.
- Maciuk A ., Lavaud C ., Thepentier P., Jacquier M-J ., Ghedira K and Zeche-Hanrot.(2004).** Four New Dammarane Saponins from *Zizyphus lotus* . *Journal of Natural Products*, 67 :1639-1643.
- Manach C., Williamson G., Morand C., Scalbert A., Remesy C. (2005).** Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *American Journal of Clinical Nutrition.* **81**: 230S-242S.
- Marfak A. 2003.** Radiolyse gamma des flavonoïdes. Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools : formation de dépsides. Thèse de doctorat de l'université de Limoges.
- Marles R.J. et Farnsworth N.R. (1994).** Plants as sources of antidiabetic agents. *Economic and Medicinal Plant Research* 6:149-187.
- Mates, J. M., C. Pérez-Gomez et I. N. De Castro.(1999).** "Antioxidant enzymes and human diseases." *Clinical Biochemistry* **32**(8): 595-603

- Médart, J. (2009).** Manuel pratique de nutrition: L'alimentation préventive et curative. *Editions De Boeck Supérieur*, p 49.
- Mena, S., A. Ortega et J. M. Estrela.(2009).**"Oxidative stress in environmental-induced carcinogenesis." *Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* **674**(1-2): 36-44.
- Miliauskas. G., Venskutonis P.R., et Van Beek T.A. (2004).** Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extract. *Food chemistry.*, 85: 231-237.
- Mounni, S.(2008).** Etude de la fraction glucidique des fruits de *Celtisaustralis*L., *Crataegus azarolus*L. *Crataegus monogyna*Jacq., *Elaeagnusangustifolia*L., et *Zizyphus lotus* L., Mémoire deMagistère en Agronomie, Université de Batna.
- Moure, A., J. M. Cruz, D. Franco, J. Manuel Dominguez, J. Sineiro, H. Dominguez, M. J. Nunez et J. Carlos Parajo .(2001).** "Natural antioxidantsfromresidual sources." *Food Chemistry***72** (2): 145-171.
- Moussard, C. (2006).** Biochimie structurale et métabolique, *Edition De Boeck Supérieur*, p 336.
- Niki E. (2010).**Assessment of Antioxidant Capacity *in vitro* and *in vivo*. *Free Radical Biology and Medicine* 49: 503-515.
- Organisation mondiale de la santé. (2000).**Principes méthodologiques généraux pour la recherche et l'évaluation relatives à la médecine traditionnelle.
- Organisation mondiale de la santé. (2003).** Médecine traditionnelle
- Osman, A. M. (2011).** Multiple pathways of the reaction of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH•) with (+)-catechin: Evidence for the formation of a covalent adduct between DPPH• and the oxidized form of the polyphenol. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **412**, 473.
- Packer, J. E., Mahood, J. S., Mora-Arellano, V. O., Slater, T. F., Willson, R. L. &Wolfenden, B. S. (1981).** Free radicals and singlet oxygen scavengers: reaction of a peroxy-radical with beta-carotene, diphenyl furan and 1,4-diazobicyclo (2,2,2)-octane. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **98**, 901-906.
- Papazian, L. & Roch, A. (2008).** Le syndrome de détresse respiratoire aiguë, *Edition Springer*, p 153.
- Pincemail, J. &Defraigne, J.-O. (2003).** Le CoEnzyme Q10 ou ubiquinone : un antioxydant particulier. *Vaisseaux, Coeur, Poumons* **18** (2), 55-60.
- Poirier, J. (2004).** L'indispensable pour vivre en santé, *Edition Merlin*, p 72.
- Provost, M. (1991).** Les plantes qui guérissent, Quebec. ISBN 2-89406-054-8, p. 12.

- Punt, W., Marks, A., and Hoen, P. (2003).** Rhamnaceae, *Review of palaeobotany and palynology*, 123:57-66.
- QQuezel P et Santa S.(1962).**Nouvelle flore de l'Algérie et régions désertiques méridionales.Tome2. *Centre national de la recherche, Paris* ,565p.
- Retsky, K. L., K. Chen, J. Zeind et B. Frei. (1999):**"Inhibition of copper-induced LDL oxidation by vitamin C is associated with decreased copper-binding to LDL and 2-oxohistidine formation." *Free Radical Biology and Medicine* **26**(1-2): 90-98.
- Rice-Evans.,(2002).**"MAPK signaling in neurodegeneration: Influences of flavonoids and Of nitric oxide." *Neurobiology of Aging* **23**(5): 861-880
- Rsaissi N. et Bouhache M. (2002).** La lutte chimique contre le jujubier .Programme National de transfert de Technologie en Agriculture (PNTTA), DERD (Ed) Rabat. (94): 4p.
- Rodriguez-Amaya, D. B. & Kimura, M. (2004).** Harvestplus handbook for carotenoid analysis. *Technical Monograph Series*, p 3.
- Saima Hamid, AdilaSahar, Farnaz Malik, ShahzadHussain, RashidMahmood, Kazi Muhammad Ashfaq, Tanveer Akhtar Malik, AbbasHassan and Asif Hanif Chaudhry.(2014).** Physico- chemical investigation and antioxidant activity studies on extracts of *Eruca sativa* seed.International Journal ofPharmaceutical Chemistry. Pp 160-165.
- Sanchez de Madina F., Gamez M.J., Jiménez I., Jiménez J., Osuna J.I. et Zarzuelo A. (1993).** Hypoglycemic activity of junper "Berries". *Planta Medica* 6:197-200
- Sarni-Manchado P, Cheynier V.(2006).**Les polyphénols en agroalimentaire, Ed. Lavoisier (Tec & Doc), Paris, , 300-398.
- Sartori-Thiel A.,(2003).** Activités anti-microbiennes d'extraits végétaux enrichis en polyphénols. Science et Agronomie ED 380 Doctorat: 177.
- Shani J., Goldschmied A., Joseph B., Ahronson Z. et Sulman F.G. (1974).** Hypoglycaemic effect of *Trigonella Joenum- graecum* and *lupinus Termis* (Leguminosae) seeds and their major alkaloids in Alloxan-diabetic and normal rats. *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie* 210: 27-37.
- Sharma, P., A. B. Jha, R. S. Dubey et M. Pessarakli. (2012).** "Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions." *Journal of Botany*: 1-26.
- Servais S.(2002).** Altérations mitochondriales et stress oxydant pulmonaire en réponse à l'ozone : effets de l'âge et d'une supplimentation en Oméga-3. Thèse de doctorat de l'université de Claude Bernard

Souleymane Abdoul-Azize.(2016). Potential Benefits of Jujube (*Zizyphus Lotus* L.) Bioactive Compounds for Nutrition and Health

Stalikas C.D.,(2007).extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoides review.J.Sep.sci.30:3268-3295

Sumaya Martinez, M. T. (2004). "Valorisation d'hydrolysats de co-produits de crevettes : étude de l'activité antiradicalaire et antioxydante, fractionnement des substances actives et effet de la glycation." *Microbiologie* Doctorat : 188.

V.Kashikar et al. (2012).Indigenous remedies for diabetes mellitus. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences; 3 (3): 22-29.

Walle T. (2004). Absorption and metabolism of flavonoids. *Free RadicBiol Med* **36**: 829-837.

-Waston, L., and Dallwitz, M.J, M.J. (1992).The families of flowering plants. Heart Disease Risk FactorStudy. Am J ClinNutr, 77:133-8.

YansambouH.(2002).Eudephytochimique et activité hypoglycémiante de *Zizyphusmauritain*Lam. Rhamnaceae. Thèse de pharmacies, Bamako, 82.

Yoshida, H., G. Kajimoto et S. Emura .(1993)."Antioxidant effects of d-tocopherols at different concentrations in oils during microwave heating." *Journal of the American Oil Chemists' Society* **70**(10): 989-995.

Yves-Alain Bekro, Boua B. BOUA, Fézan H. TRA BI et Ehouan E. ÉHILÉ.(2007).Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthiana* (Baill.)Herend. et Zarucchi (Caesalpinaceae), 217 – 225.

ملخص

لوتس نبات طبي معروف في الجزائر تحت اسم سيدرا العامي، يستخدم في الطب التقليدي للعديد من البلدان كمسكن ومضاد للالتهابات وخافض لسكر الدم.

هذه الدراسة هي مساهمة علمية في تحديد بعض المركبات الكيميائية الضوئية، فضلا عن دراسة بعض الأنشطة البيولوجية في المختبر والحيوي لمستخلص الميثانول من أوراق زهرة اللوتس

وهذا ما يؤكده التحليل الكمي القائم على الفحص ومجموع البولي فينول والفلافونويد الكلي، والذي يبلغ إجمالي محتوى

لبولي فينول فيه 56.8 مللي غرام مكافئ الغاليك/ غرام من المستخلص ومحتوى إجمالي الفلافونيدات هو من أجل 35.04 ملغم المكافئ الروتين/غرام من المستخلص.

تبين دراسة النشاط المضاد للأكسدة بواسطة طريقة دفينيل بكريل ايدرازيل أن المستخلص له قدرة كبيرة على احتجاز هذا الجذر

اظهرت طريقة الطاقة المضادة للأكسدة عن طريق الحد من الحديد

ان المستخلص لديه قدرة عالية على التقليل.

وأظهر الاختبار الدوائية التي أجريت في الجسم الحي في الجرذان الويستار ان المستخلص الميثانولي لديه قدرة عالية على تخفيض نسبة السكر في الدم بجرعة مئة ملغرام/كيلوغرام.

الكلمات الرئيسية: لوتس، المركبات الفينولية، نشاط مضادات الأكسدة الفلافونويد، والنشاط الخافض لنسبة السكر الدم

Résumé

Zizyphus lotus une plante médicinale connu dans l'Algérie sous le nom vernaculaire Sedra, utilisée dans la médecine traditionnelle de Nombreux pays, analgésique, et anti-inflammatoire. Hypoglycémiant.

Cette étude est une contribution scientifique à la détermination de certains composés photochimiques, ainsi que l'étude de quelques activités biologiques in- vitro et in-vivo de l'extrait méthanolique des feuilles de *Zizyphus lotus*.

L'analyse qualitative de cet extrait par les tests colorimétrique a révélé la présence des composés phénoliques, les flavonoïdes, les tannins, les tannins vrai les saponines, les alcaloïdes, les quinones libre, les sucres réducteurs et les stérols et poly terpène.

Ceci est confirmé par une analyse quantitative basée sur le dosage, des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux, dont la teneur en polyphénols totaux est de l'ordre de 56.8mg GAE/g d'extrait sec, et la teneur en flavonoïdes totaux est de l'ordre de 35.04mg RE/g d'extrait sec.

L'étude de l'activité antioxydante par la méthode du DPPH montre que l'extrait possède un grand pouvoir de piéger ce radical avec des CI50 de l'ordre de 0,046mg/ml, la méthode du pouvoir anti oxydant par Réduction du Fer (FRAP) montré que l'extrait méthanolique possède un pouvoir réducteur élevé.

Le test pharmacologique réalisé in vivo chez les rats *albinos Wistar*, a montré que l'extrait méthanolique de *Zizyphus lotus L.* possède une meilleur activité hypoglycémiant à la dose 100mg/kg.

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

Abstract

Zizyphus lotus a medicinal plant known in Algeria under the vernacular name Sedra, used in traditional medicine of many countries, analgesic, anti-inflammatory and Hypoglycemic.

This study is a scientific contribution to the determination of certain photochemical compounds, as well as the study of some in vitro and in-vivo biological activities of the methanolic extract of leaves of *Zizyphus lotus*.

The qualitative analysis of this extract by colorimetric tests revealed the presence of the compounds phenolics, flavonoids, tannins, true tannins, saponins, and alkaloids, free quinones, reducing sugars and sterols and polyterpene.

This is confirmed by a quantitative analysis based on the assay, total polyphenols and total flavonoids, whose total polyphenol content is of the order of 56.8mg GAE/ g of dry extract, and the content of total flavonoids is of the order of 35.04 mg RE / g of solids.

The study of the antioxidant activity by the method of DPPH shows that the extract has a great power to trap this radical with IC 50 of the order of 0.046 mg / ml, the method of antioxidant power by Reduction of Iron (FRAP) showed that the methanolic extract has a high reducing power. The pharmacological test carried out in vivo in Wistar albino rats, has shown that the methanolic extract of *Zizyphus lotus L.* has a better hypoglycemic activity at a dose of 100 mg. /Kg.

Key words: *Zizyphus lotus*, Phenolic compounds, flavonoid antioxidant activity, hypoglycemic activity.

Année universitaire : 2017/2018 Présenté par : ATTALADRA

ATTAL MANEL

Mémoire pour l'obtention du diplôme de master en biochimie

Option : biochimie appliqué.

Thème : Etude de l'activité biologique de l'extrait aqueux des feuilles du *Zizyphus lotus*

Résumé :

Zizyphus lotus une plante médicinale connu dans l'Algérie sous le nom vernaculaire Sedra, utilisée dans la médecine traditionnelle de Nombreux pays comme sédatif, analgésique, tonique et anti-inflammatoire

Cette étude est une contribution scientifique à la détermination de certains composés photochimiques, ainsi que l'étude de quelques activités biologiques in- vitro et in-vivo de l'extrait méthanolique

des feuilles de *Zizyphus lotus*.

L'analyse qualitative de cet extrait par les tests colorimétrique a révélé la présence des composés phénoliques, les flavonoïdes, les tannins, les tannins vrai les saponines, les alcaloïdes, les quinones libre, les sucres réducteurs et les stérols et poly terpène.

Ceci est confirmé par une analyse quantitative basée sur le dosage, des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux, dont la teneur en polyphénols totaux est de l'ordre de 56.8mg GAE/g d'extrait, et la teneur en flavonoïdes totaux est de l'ordre de 35.04mg RE/g d'extrait.

L'étude de l'activité antioxydante par la méthode du DPPH montre que l'extrait possède un grand pouvoir de piéger ce radical avec des CI50 de l'ordre de 0,046mg/ml. La méthode du pouvoir anti oxydant par Réduction du Fer (FRAP) montré que l'extrait méthanolique possède un pouvoir réducteur élevé.

Le test pharmacologique réalisé in vivo chez les rats *albinos Wistar*, a montré que l'extrait méthanolique de *zizyphus lotus L.* possède un meilleur hypoglycémiant à la dose 100mg/kg.

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

Jury d'évaluation :

Président du jury : MAAMERI-HABIBATNI Zineb (maitre de conférence B) Université Freres Mentouri 1

Rapporteur : MADI Aicha (maitre de conférences B) Université Freres Mentouri 1

Examineur : Mosbah Asma (maitre de conférence A) Université Freres Mentouri 1

Halmi Sihem (maitre de conférence B) Université Freres Mentouri 1

Date de soutenance : 25/06/2018

