



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم الكيمياء الحيوية و البيولوجيا الخلوية و الجزيئية
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 Moléculaire et Santé

Intitulé :

Etude de l'activité biologique de l'extrait Aqueux des feuilles du *Zizyphus lotus L*

Présenté et soutenu par :

Le : 16 /06/2015

HAMZA KARIMA

MEZIANI AMAL

Jury d'évaluation :

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

Rapporteur : DJAMAI ZOUGHLACH SOUMIA (M-A- UFM Constantine).

Examineurs : M^{elle} BAHY AHLEM (M-A-UFM Constantine).

Année universitaire
2014 - 2015

Remerciement

Avant tout, je remercie ALLAH de m'avoir donné la volonté afin d'arriver à la finalité de ce modeste travail.

Je souhaite remercier très chaleureusement M^{lle} DJEMAI ZOUHRELAÏCHE SOUMIA maitre assistante A à UFM constantine-, ma directrice de mémoire.

Merci pour ton encadrement, ta disponibilité, ta patience, ton efficacité et surtout ta rigueur scientifique.

Merci pour ton aide et ton regard critique qui m'ont été grandement utiles au cours de ma mémoire et lors de la rédaction de ce manuscrit, et aussi en leur fournissant les réactifs manquants et leur gentillesse.

Mes remerciements s'adressent également à Monsieur NECIB professeur à l'UFM Constantine- pour le grand honneur de présider le jury.

Mes vifs remerciements vont aussi à M^{lle} BAH AHLEM, maitre assistance A à UFM constantine- pour l'honneur d'avoir accepté d'examiner ce travail et pour ces conseils les plus importants, merci pour ton gentillesse.

Merci pour M^{lle} BOUCHLOUKH WARDIA maitre assistante A à UFM constantine- pour leur aide, leur conseils, leur gentillesse.

Merci à tous le membre du département de biochimie et biologie moléculaire et cellulaire à UFM Constantine- pour leur aide dans la réalisation de cette étude .Merci à tous les membres du Département de biochimie surtout BONDARSA NABILE .

Enfin, pour leur soutien sans faille et permanent, je tiens à remercier de tout cœur mes parents, mes frères et mes amies.

Merci

JE DÉDIE CE MODESTE TRAVAIL À :

AVANT TOUT CHOSE, JE DÉDIE LE DIEUX, LE TOUS PUISSANT, POUR M'AVOIRE D'ONNÉ

LA FORCE ET LA PATIENCE.

AMON ENCADREUR DJAMAI ZOUGHLACHE SOUMIA POUR LEUR CONSEILLE, LEUR

PRESENCE, ET LEUR PATIENCE.

À MON PÈRE :

**HAMZA SALAH, LA LUMIERE DE MA VIE ET, MERCI POUR TOUTE QUE VOUS AVEZ FAIT POUR MOI
CONCERNANT MON ÉDUCATION QUI ABOUTIT AUJOURD'HUI À LA RÉALISATION DE CETTE ÉTUDE.
MERCIE PAPA POUR SON SACRIFIÉ, POUR LEUR CONSEILLE, MERCI POUR TOUT ENCOURAGEMENT
POUR FINI MES ÉTUDES ET MES PROFONDS SENTIMENTS. EN DERNIER J'AI DIT ELLAH YAHFADOK**

(AMEN).

À MAMAN :

**BOULHOUCATE ZAHIA POUR M'AVOIR DONNÉE LA VIE ET LA JOIE DE VIVRE. TA BONNE
ÉDUCATION, TES CONSEILS ET TES BÉNÉDICTIONS N'ONT JAMAIS FAIT DÉFAUT, QUE DIEU LE TOUT
PUISSANT T'ACCORDE SON PARADIS ÉTERNEL (AMEN). J'AIME BEAUCOUP**

MAMAN

À MES FRÈRES RABIAE ET HOSSINE ET TES MARIE FADILA ET LINDA, ET À MES PETITS

TADJ, ISLAM, LADE, YA AKOUB.

À MON HOMONYME, SORIA, ET SON MARIE DJAMEL

À MES BELLES SŒURS

(NOARA, FATIMA, FATIHA, SOUHAILA, AMAL, MERIEME, WAFI, MOUNA, CHOUBAILA) JE N'OUBLIE

PAS

TES MARIE SURTOUT FARAS, LAZHAR, HICHAM,

À TOUTE MES BELLES PETITE, RAHMA ET ROKIA, ASSIA ET SOUNDOUS, SALSABIL ET SERINE,

AMINA, HANAN, YOUNESS, ADAM, YAHIA, LOUAL, NOUFEL.

À MES PETITS FRÈRE MOUHAMED, HAMZA, KHEIRDINE, ABDO, HICHAM, KARIM ET HATEM

JE DÉDIE MON BINÔME AMAL POUR LEUR AIDE, LEUR PRÉSENCE ET LEUR EFFICACITÉ.

À TOUTES MES AMIES, SALI, SABRINA, WISSAM, FATI*2, KENZA, FARAH, SOUSOU, MERIEM*2

À MON TRÈS CHER GÉMEAU :

MONSAF, ET À TOUTE MA 2^{ème} FAMILLE, LA FAMILLE KARAOUT. ET SURTOUTS AMI MOULOUD POUR

TOUT ENCOURAGEMENT.

MERCI POUR TOUTES LES PERSONNES QUI MA DONNE UNE AIDE OU UNE CRITIQUE SOIT CONNUT OU

NON.

KARIMA.

Résumés

Les extraits naturels de plantes contiennent une variété de composés phénoliques auxquels sont attribuées diverses activités biologiques. Dans la présente étude on a tenté d'évaluer l'activité antioxydante et antibactérienne de l'extrait aqueux préparé à partir des feuilles du *Zizyphus lotus*.

L'analyse qualitative de cet extrait par les testes préliminaires et la CCM a révélé la présence des composés phénoliques, des tanins, des flavonoïdes, des alcaloïdes et des saponines ; ce ci est confirmé par une analyse quantitative basée sur le dosage , des composés phénoliques, des tanins , et des flavonoïdes dont les valeurs sont : pour les composés phénoliques(204.5 ± 7.44 ug EAG / mg d'extrait) , les tanins (38.4 ± 13.61 ug ECT / mg d'extrait) et les flavonoïdes (2.7 ± 0.50 ug EQ / mg d'extrait).

L'étude de l'activité antioxydante par la méthode du thiocyanate de fer a révélé une grande activité antiperoxydation de l'extrait aqueux. Le test du DPPH a montré un pouvoir antiradicalaire faible avec une $IC_{50} = 32093.33 \pm 724.60$ ug/ml.

Le test de blanchissement de β -carotène a avéré que l'activité d'inhibition de l'extrait Aqueux (63.56 ± 0.51) est similaire à celle de l'acide gallique.

Le test de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux a montré que l'extrait testé est actif avec toutes les souches bactériennes testées avec un degré déférent. Dont la zone d'inhibition la plus grande avec *Klebsiella pneumoniae* ($13,66 \pm 1,52$ mm).

Mots clés : *Zizyphus lotus*, activité antioxydante , antiperoxydation, antiradicalaire, β -carotène ,activité antibactérienne, composés Phénoliques, flavonoïdes, tannins.

Abstract

Natural extracts of plant contain a variety of phenolics compounds which are attributed diverse biological activities.

In this way we are tried to evaluate the antioxidant and the antibacterial activities in the aqueous extract of the leaves of *Zizyphus lotus*

The qualitative analysis of this extract by screening test and CCM showed the presence of phenolics compounds, tannins, flavonoids, alkaloids and saponin .

This is confirmed by a quantitative analysis based in the dosage of phenolics compounds (204.5±7.44 ug EAG / mg of extract), flavonoids(2.7±0.50 ug EQ / mg of extract) and tannins(38.4±13.61 ug ECT / mg) which values are the study of antioxidant activity by ferric thiocyanat method has showed a highest antiperoxidation activity for Aq extract .The DPPH test has showed a low antiradical activity with IC 50=32093.33±724.60

The bleaching test of β-carotene has exhibited that the inhibitory activity of the Aq extract (63.56±0.51) similar at that of the acid gallique

The antiml activity of the Aq extract has showed that this extract is active against all bacterial strains tested with a different level which the highest zone of inhibition with *Klebsiella pneumoniae* (13,66±1,52mm).

Key words: *Zizyphus lotus*, antioxidant activity , antiperoxidation, antiradical, β-carotene , antibacterial activity, Phenolics compounds, flavonoid, tannin.

المخلص

تحتوي المستخلصات الطبيعية النباتية على تنوع هائل في الجزيئات و المركبات الفينولية التي تعود إليها مختلف النشاطات البيولوجية, وفي هذا الصدد قمنا بتقييم النشاطية ضد الأكسدة و النشاطية ضد البكتيريا للمستخلص المائي لأوراق نبات السدر .

التحليل النوعي لهذا المستخلص بواسطة الاختبارات التمهيدية و كروماتوغرافيا الطبقات الرقيقة كشف عن وجود المركبات الفينولية, الفلوفونويدات, الصباغ, القلويات و المركبات الصابونية, وهذا ما أكد بواسطة التحليل الكمي المعتمد أساسا على حساب تراكيز المركبات الفينولية الصباغ و الفلوفونويدات بحيث كانت القيم كالتالي المركبات الفينولية 204.5 ± 7.44 ميكروغرام مكافئ الغاليك/مغ, الفلوفونويدات 2.7 ± 0.050 ميكروغرام مكافئ الكارسيئين/مغ) و الصباغ (13.61 ± 38.4 ميكروغرام مكافئ الكاثشين/مغ).

أظهرت دراسة النشاطية ضد الأكسدة بطريقة تيوسيانات الحديد فعالية كبيرة للمستخلص المائي, أما تقييم النشاطية ضد الاكسد باختبار DPPH كشف عن فعالية ضعيفة للمستخلص ضد الجذور الحرة مع $IC_{50} = 32093.33$ ميكروغرام/ميليغرام

دراسة النشاطية ضد الأكسدة بطريقة إل- β -كار وتين أظهرت نشاطية منع أكسدة للمستخلص المائي (0.51 ± 63.56 تقارب نشاطية حمض الغاليك

تقدير النشاط ضد الميكروبات لهذا للمستخلص المائي اثبت فعاليته مع جميع الأنواع البكتيرية المستعملة في هذا الاختبار بدرجات مختلفة حيث أظهر منطقة منع بكتيري كبيرة 13.66 ميليمتر لكليسيلا بنومونيا

الكلمات المفتاحية: السدر, النشاطية ضد الأكسدة الليبيدية, النشاط ضد الجذور الحرة, β كار وتين, النشاط ضد البكتيريا, المركبات الفينولية, الفلوفونويدات, الصباغ.

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction générale

Partie I

Synthèse bibliographique

Chapitre I. Généralités sur le *Zizyphus lotus*

I.1. Etude botanique	01
I.1.1. Appellations.....	01
I.1.2. Position systématique.....	01
I.1.3. Caractéristiques.....	01
I.2. Répartition géographique.....	02
I.3. Composition biochimique du <i>Zizyphus lotus</i>	03
I.3.1. Métabolites primaires.....	03
I.3.2. Métabolites secondaires.....	04
I.4. Activités biologiques et thérapeutiques de <i>Zizyphus lotus L.</i>	04
I.4.1. Activités antiulcérogènes.....	05
I.4.2. Activités anti-inflammatoires et antianalgésiques.....	05
I.4.3. Activités antimicrobiennes.....	05
I.4.4. Activités antioxydants.....	05

Chapitre II. Les composés phénoliques

II. Les métabolites secondaires.....	06
II.1. Les polyphénols.....	06
II. 1.1. Classification des polyphénols.....	07
II.1.2. Rôle des composés phénoliques.....	07
II. 1.3. principale classe des composés phénoliques.....	08

II. 1.3.1 Les flavonoïdes.....	08
II.1.3.1.1.Structure chimique.....	08
II.1.3.1.2Classification des flavonoïdes.....	09
II.1.3.1.3 biosynthèse des flavonoïdes	10
II-1.3.1.4.Localisation et distribution des flavonoïdes	11
I.1.3.1.5.Biodisponibilité des flavonoïdes.....	11
I II.1.3.1.6.Activités biologiques des flavonoïdes	12
II.1.3.1.6.1.Activité antioxydant.....	12
II.1.3.1.6.2. Activité antimicrobienne.....	12
II.1.3.1.6.3. Effets antiallergiques.....	13
II.1.3.1.6.4.Autres activités des flavonoïdes.....	13
II.1.3.2.Les tanins.....	13
II.1.3.2.1. Classification biochimique	14
II.1.3.2.1.1.Les tanins hydrolysables.....	14
II.1.3.2.1.2.Tanins condensés (proanthocyanidines).....	14
II.1.3.2.2. Localisation et distribution	15
II-1.3.2.3. Activités biologiques et thérapeutiques des tanins.....	15
II.1.3.2.3.1. Activité antioxydant des tanins.....	16
II.1.3.2.3.2. Inhibition enzymatique.....	16
II.1.3.2.3.3. Activité thérapeutique due à l'astringence.....	16
II.1.3.2.3.4. Activités antimicrobiennes des tanins.....	17
II.1.3.2.3.5.L'activité antivirale.....	17
II.1.3.2.3.6.Autre activité des tanins	18

Chapitre III. Le stress oxydant

III-1- Le stress oxydatif.....	19
III-2- Les espèces réactives de l'oxygène.....	19
III-3- Les radicaux libres.....	19

III-3-1- Le radical superoxyde.....	20
III-3-2- Le radical hydroxyle.....	21
III-3-3- Le peroxyde d'hydrogène.....	21
III-4- Les conséquences moléculaires du stress oxydatif.....	21
III.5.Les antioxydants.....	22
III.5.1. Les antioxydants enzymatiques.....	22
III.5.2. Les antioxydants non enzymatiques.....	23
III.6. Mécanisme d'action des antioxydants.....	23

Partie II

Etude Expérimental

Chapitre I. Matériel et méthodes

I.1. Matériel	24
I.1.1. Matériel végétale	24
I.2. Méthodes	24
I.2.1. Préparation de l'extrait aqueux à partir des feuilles du <i>Zizyphus lotus</i>	24
I.2.2. Analyse de l'extrait du <i>Zizyphus lotus</i>	26
I.2.2.1. Analyse qualitative de l'extrait du <i>Zizyphus lotus</i>	26
I.2.2.1.1. Tests préliminaires.....	26
I.2.2.1.1.1. Caractérisation des composés phénoliques	26
I.2.2.1.1.2. Caractérisation des Flavonoïdes	27
I.2.2.1.1.3. Caractérisation des Tanins condensés	27
I.2.2.1.1.4. Différentiation des tanins	27
I.2.2.1.1.5. Caractérisations des saponines	27
I.2.2.1.1.6. Caractérisation des alcaloïdes	28
I.2.2.1.2. Chromatographie sur couche mince	28
I.2.2.2. Analyse quantitative de l'extrait aqueux des feuilles du <i>Zizyphus lotus</i>	29
I.2.2.2.1. Dosage des polyphénols totaux	29
I.2.2.2.2. Dosage des Flavonoïdes	29
I.2.2.2.3. Dosage des tanins condensés	29
I.2.2.3. Activités biologiques	30
I.2.2.3.1. Activités antioxydants	30
I.2.2.3.1.1. Méthode du thiocyanate de fer (FTC)	30

I.2.2.3.1.2. Effet scavenger du radical DPPH	32
I.2.2.3.1.3. Teste de décoloration de B-carotène.....	33
I.2.2.3.2. Activités antimicrobiennes	33
I.2.2.4. Analyses statistiques.....	35

Chapitre II. Résultats et discussion

II.1. Préparation d'extrait aqueux à partir des feuilles du <i>Zizyphus lotus</i>	36
II.2. Analyse de l'extrait aqueux du <i>Zizyphus lotus</i>	36
II.2.1. Analyse qualitative de l'extrait aqueux des feuilles du <i>Zizyphus lotus</i>	36
II.2.1.1 Tests préliminaires	36
II.2.1.2. Chromatographie sur couche mince	37
II.2.2 Analyse quantitative d'extrait aqueux des feuilles du <i>Zizyphus lotus</i>	39
I.3. Activités biologiques	42
II.3.1. Activité antioxydant.....	42
II.3.1.1. Méthode du thiocyanate de fer (FTC).....	42
II.3.1.2. Effet scavenger du radical DPPH	44
II.3.1.3. Test du blanchissement du β -carotène.....	47
II.3.2. Activité antimicrobienne	48

Conclusion générale

Références bibliographiques

Liste des abréviations

ABS : Absorbance

AlCl₃ : trichlorure d'aluminium

ATPase : adénosine tris phosphatase

Aq : extrait aqueux

APR : Pouvoir antiradicalaire

BAW: n-Butanol/Acide acétique/eau

CCM: Chromatographie sur couche mince

D.O : Densité optique

DPPH : 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl

ERO : espèces réactifs de l'oxygène

ROS : espèces réactifs oxygénées

EAO : espèce réactive de l'oxygène

EC₅₀: Concentration effective à 50%

ECh : Echantillon

Ext : Extrait

FTC : Thiocyanate de fer

FeCl₃: trichlorure de fer

GSH : glutathion réduit

IC₅₀: Concentration inhibitrice à 50%

µg EAG/Mg d'extrait: microgramme d'équivalent acide gallique par milligramme d'extrait

µg ECT/Mg d'extrait : microgramme d'équivalent catéchine par milligramme d'extrait

µg EQ/Mg d'extrait : microgramme d'équivalent quercétine par milligramme d'extrait

NOS : système enzymatique NO synthétase

RF : Rapport frontal

ROS : espèce réactive oxygénée

SD : Standard déviation

SOD : superoxyde dismutase

UV : Ultraviolet

Liste des tableaux

N° de tableau	Titre du Tableau	page
Tableau01.	Pourcentage de la composition primaire des <i>Zizyphus lotus</i>	03
Tableau02.	Composition chimiques de différents organes végétaux du <i>Zizyphus lotus</i>	04
Tableau03.	Les classes les plus importantes des composés phénoliques dans les plantes	07
Tableau04.	Principales espèces réactives oxygénées	19
Tableau05.	Aspect et la couleur extraits des écorces des racines <i>Zizyphus lotus</i>	35
Tableau06.	Résultats des tests préliminaires de quelque métabolite secondaire de l'extrait Aqueux du <i>Zizyphus lotus</i>	37
Tableau07.	Rapports frontaux et couleurs après révélation de l'extrait Aq.....	38
Tableau08.	Teneur des composés phénoliques.....	39
Tableau09.	Activité antiradicalaire d'extrait Aqueux des feuilles du <i>Zizyphus lotus</i>	43
Tableau10.	Activité antimicrobienne de l'E Aq (diamètres des zones d'inhibition de croissance des cultures microbiennes en mm).....	49

Listes des figures

N° de figure	Titres des figures	page
Figure01.	plante de <i>Zizyphus lotus</i> L.	02
Figure02.	Feuilles de <i>Zizyphus lotus</i> L.	02
Figure03.	Fruits <i>Zizyphus lotus</i> L.	02
Figure04.	Fleurs du <i>Zizyphus lotus</i>	02
Figure05.	Aire de répartition du <i>Zizyphus lotus</i> L en Algérie.....	03
Figure06.	Structure de base des flavonoïdes	09
Figure07.	Différents types de flavonoïdes.....	09
Figure08.	Voie de biosynthèse de différentes classes des flavonoïdes.....	10
Figure09.	Piégage des espèces réactives oxygénées par les flavonoïdes.....	12
Figure10.	Structures de l'acide gallique et d'un tanin gallique.....	14
Figure11.	Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie	15
Figure12.	Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie	20
Figure13.	Conséquences cellulaires des EAO	22
Figure14.	Schéma des défenses antioxydantes enzymatiques	22
Figure15.	Origine et réponse cellulaire aux ROS	23
Figure16.	Les feuilles des zizyphus lotus	24
Figure17.	Le Lyophilisateur.....	25
Figure18.	Différentes étapes de préparation d'extrait aqueux	26
Figure19.	La réaction entre la vanilline est les tanins condensés	30
Figure20.	Les trois étapes de la peroxydation lipidique	31
Figure21.	Structure de l'acide linoléique.....	32
Figure22.	Chromatographie sur couche mince d'extrait Aq des feuilles du <i>Zizyphus hlotus</i>	36
Figure23.	Teneur des composés phénoliques en ug/EQ standard /mg.	38
Figure24.	Droite d'étalonnage de l'acide gallique (moyenne ± SD de deux essais).....	39
Figure25.	Droite d'étalonnage de la quercétine (moyenne ± SD de deux essais).....	39
Figure26.	Droite d'étalonnage de la catéchine (moyenne ± SD de deux essais).....	40
Figure27.	Graphe représentant les absorbances à 500 nm en fonction du temps d'incubation des différents échantillons utilisés à 0.1mg/mL en présence d'une émulsion d'acide linoléique.....	41
Figure28.	Réaction d'un antioxydant avec le DPPH.....	42

Figure29. Corrélation linéaire entre la concentration de l'extrait et le pourcentage de l'activité antiradicalaire	43
Figure30. Activite antiradicalaire de standards la quercétine (Chaque valeur représente la moyenne de deux essais)	44
Figure 31. Activite antiradicalaire de l'extrait polaire (Aq)des feuilles du zizyphus lotus (Chaque valeure represente la moyenne de trois répétions)	44
Figure32. Graph représentant les absorbances à 470nm en fonction du temps	45
Figure33. Évaluation du taux d'inhibition des peroxydations lipidiques par la méthode deblanchissement De β -carotène	46
Figure 34. Zones d'inhibitions obtenues de l'extrait aq sur <i>Pseudo a.</i>	47
Figure35. Zones d'inhibitions obtenues de l'extrait aq sur <i>Staph a.</i>	47
Figure36. Zones d'inhibitions obtenues de l'extrait aq sur <i>Klabsiella p.</i>	47
Figure37. Zones d'inhibitions obtenues de l'extrait aq sur <i>Ecoli.</i>	48
Figure38. Zones d'inhibitions obtenues de l'extrait aq sur <i>Acinetobacte b.</i>	48
Figure39. Zones d'inhibitions obtenues de l'extrait aq sur Streptococcus (d)	48
Figure40. Corrélation linéaire entre la concentration de l'extrait et zone d'inhibition d' <i>Acinetobacte baummani</i> , après jour	50

Introduction

générale

Introduction

La phytothérapie est une science des plantes médicinales, elle vient du mot grec « phuton » plante et « Thérapie » : traitement, signifie traitement par les plantes (Carillon, 2000). L'usage de la médecine traditionnelle est très répandu et revêt une importance sanitaire et économique croissante (O.M.S, 2000). En effet, les métabolites secondaires font et restent l'objet de nombreuses recherches in vivo comme in vitro, notamment la recherche de nouveaux constituants naturels tels que les composés phénoliques.

Récemment le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques, et la toxicité des antioxydants synthétiques a conduit de chercher des substances naturelles dotées d'activité antimicrobienne et antioxydante.

Les radicaux libres (RL) en général et les espèces réactives de l'oxygène (ROS) en particulier sont impliqués dans plusieurs pathologies humaines allant de l'inflammation au cancer tout en passant par les maladies cardio-vasculaires, l'arthrite rhumatoïde, le diabète et le processus d'apoptose ; en plus de leur action directe en réagissant avec la plupart des macromolécule.

Dans ce contexte s'inscrit ce présent travail de recherche, dont le but principal est d'étudier les activités antimicrobiennes et antioxydants de l'extrait Aqueux des feuilles du *Zizyphus lotus* (Sedra), plante largement utilisé dans la médecine traditionnelle comme adoucissant dans le traitement de la gorge et les irritations broncho-pulmonaire, un émoullient dans le traitement des furoncles. D'ailleurs, elle possède plusieurs activités thérapeutiques : anti-inflammatoire, analgésique, antiulcérogénique, antifongique et antidiabétique.

Dans ce présent travail, nous avons fixé les objectifs suivants :

- Analyse qualitative de l'extrait aqueux des feuilles du *Zizyphus lotus* et la CCM.
- Analyse quantitative du contenu en polyphénols, et en flavonoïdes et tanins de l'extrait aqueux des feuilles du *Zizyphus lotus*.
- Etude de l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux par la méthode de diffusion en milieu gélosé.
- Etude de l'activité antioxydante de l'extrait aqueux , en utilisant trois méthodes (test du thiocyanate de fer , test au DPPH et test de blanchissement du β -carotène).

PARTIE 01

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUES

CHAPITRE I

Generalités sur le Zizyphus Lotus

I.1. Etude botanique :

Le mot *Zizyphus* vient du grec *Zizyphus*, mais le mot n'apparaît qu'au deuxième siècle (Bonnet, 2001). Il existe plusieurs espèces de ce genre dont quelques un : Le *Zizyphus lotus* L qu'est une plante courante dans la médecine populaire. Sa racine est utilisée en décoction pour traiter les maladies de tube digestif et du foie, Le fruit est surtout employé dans les traitements de l'appareil respiratoire. Elle possède d'autres propriétés, tel que : sa valeur tonique, émolliente et sédative. Elle est utilisée aussi comme une haie défensive. (Kherraze and *al.*, 2010)

I.1.1. Appellations :

- **Nom scientifique** : *Zizyphus lotus* (L.)
- **Nom vernaculaire** : Sedra.
- **Nom Français** : Jujubier sauvage ou jujubier des Lotophages, jujubier, dindonnier. (Baba Aissa, 1999).

I.1.2. Position systématique

Règne :	Végétal.
Embranchement :	<i>Spermatophytes.</i>
Sous embranchement :	<i>Angiospermes.</i>
Sous classe :	<i>Dicotylédone.</i>
Ordre :	<i>Celastrales.</i>
Famille :	<i>Rhamnacées.</i>
Genre :	<i>Zizyphus.</i>
Espèce :	<i>Zizyphus lotus</i> L. (Quezel et Santa, 1962).

I.1.3. Caractéristiques :

Le *Zizyphus lotus* (jujubier) est un arbuste fruitier, épineux (Rsaissi et Bouchache., 2002). Il forme des touffes de quelques mètres de diamètres pouvant atteindre 2m de haut. ses feuilles sont courtement pétiolées, glabres, caduques alternées et ovales à marges entières. Les fleurs sont très visibles de couleurs jaunes avec des sépales ouvertes en étoiles, des petits pétales et un ovaire supère bisexuel et fleurissent en juin (Baba Aissa, 1999 ; Claudine, 2007). Les fruits sont des drupes à noyaux soudés, l'endocarpe mucilagineux appelé "Nbeg" (Rsaissi et Bouchache., 2002).



Figure 02: Plante de *Zizyphus lotus* L.

(Benammar, 2011)



Figure01. Feuilles de *Zizyphus lotus* L

(Milla zghaya 2015)



Figure03: Fruits de *Zizyphus lotus* L.



Figure 04 : Fleur de *Zizyphus lotus* L

(Mila .Grarem, juin 2015).

I.2. Répartition géographique :

Dans le monde :

Le genre *zizyphus* renferme environ 50 espèces des régions tropicales et subtropicales des deux hémisphères. L'une entre elles, *Zizyphus lotus*, est spontanée dans le sud d'Espagne et du Portugal (Bross, 2000). L'aire de répartition du *Zizyphus lotus* L. s'étale sur tout le Nord du Maghreb (Quezel et Santa, 1962). On le rencontre aussi dans les steppes désertiques d'Afrique du Nord et Asie Mineure (Paris et Dillemann, 1960).

En Algérie :

Le *Zizyphus lotus* est répandu dans toute l'Algérie sauf le Tell Algéro-constantinois (Quezel et Santa, 1962).

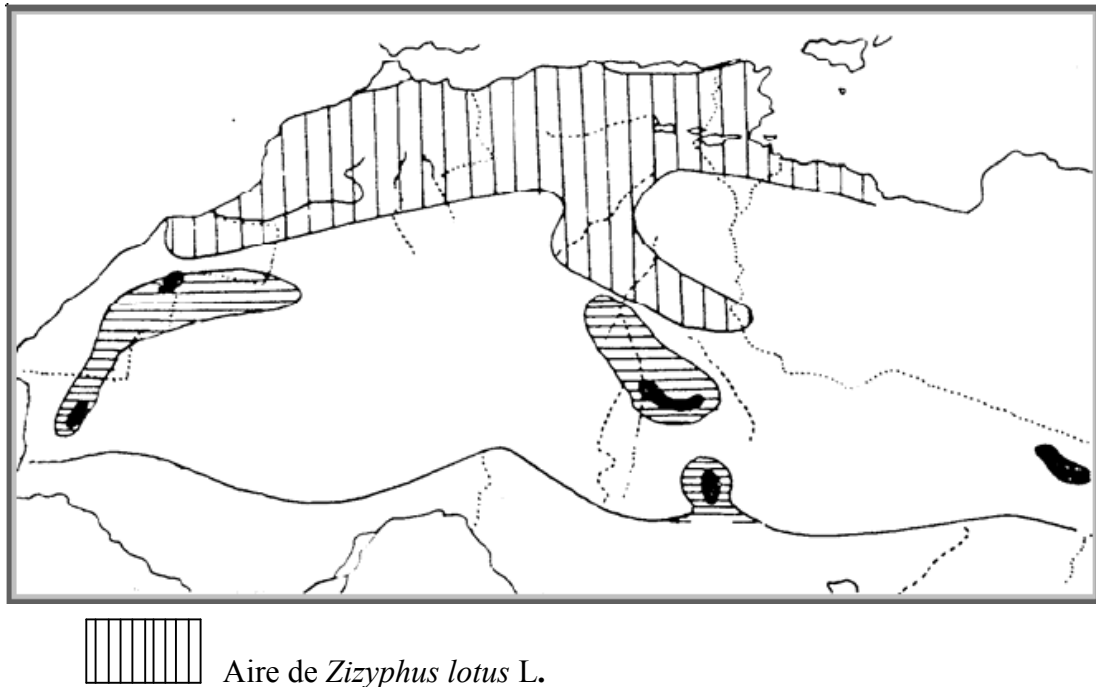


Figure 05. Aire de répartition du *Zizyphus lotus* L en Algérie (Quezel et Santa, 1962).

I.3. Composition biochimique du *Zizyphus lotus*

Les études phytochimiques menées sur le *Zizyphus lotus* montrent la présence des métabolites primaires et secondaires (Catoire *et al*, 1994).

I.3.1. Métabolites primaires

Le tableau ci-dessous indique le pourcentage des différents métabolites primaires dans le *Zizyphus lotus*.

Tableaux 01. pourcentage de la composition primaires des *Zizyphus lotus* (Chouaibi, 2011)

Protéine	19.11%.
Carbohydate	40,87%
Lipides	32.92%

I.3.2. Métabolites secondaires

Le *Zizyphus lotus* est connu par son contenu en molécules biologiquement actives tels que les polyphénols (flavonoïdes, tanins), les triterpènes, les anthraquinones, les alcaloïdes (cyclopeptides et isoquinolides), les saponosides (Borgi et Chouchane, 2006 ; Catoire et al, 1994).

Tableau2. Composition chimiques de différents organes végétaux du *Zizyphus lotus*

Organe végétal	Composition chimique	Références
Feuilles	<ul style="list-style-type: none"> • flavonoïdes, tanins et alcaloïdes. • saponines de type dammarane : <ul style="list-style-type: none"> -jujuboside B -jujubogenin glycoside 	<p>(Bekir et al., 2010)</p> <p>(Macuek et al., 2004)</p>
Ecorces de racines	<ul style="list-style-type: none"> • flavonoïdes • tanins • Alcaloïde. 	(Le crouéour et al., 2002)
Fruits	<ul style="list-style-type: none"> • flavonoïdes, tannins et Saponines. 	(Abdoul-Azize et al., 2013)

I.4. Activités biologiques et thérapeutiques de *Zizyphus lotus* L :

Les différentes espèces du *Zizyphus* sont largement utilisées dans le traitement de certaines maladies (Abu-Zarga et al, 1995 ; Abdel-Zaher et al, 2005; Suksamrarn et al, 2005), actuellement les recherches scientifiques s'intéressent à différentes activités pharmacologiques de *Zizyphus lotus* pour développer et améliorer la médecine moderne,

les plus importants effets sont :

I.4.1. Activités antiulcérogènes

Zizyphus lotus (les feuilles, l'écorce des racines) possède une importante activité antiulcérogénique attribuée à la présence des tanins et des flavonoïdes connus par leur effet gastroprotecteur (Borgi *et al.*, 2006).

I.4.2. Activités anti-inflammatoires et antianalgésiques

L'extrait des saponosides des feuilles possédait des activités anti-inflammatoire et analgésique (Borgi *et al.*, 2008).et aussi les feuilles du *Zizyphus lotus* possèdent des effets analgésiques attribués à leur contenu en principes actifs ; les flavonoïdes et les saponines (Borgi *et al.*, 2007(a) ; Borgi *et al.*, 2008).

I.4.3. 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.4.4. Activité antioxydante

Les concentrations des différentes vitamines (vitamine A, C et E) et les acides gras des racines, tige, feuilles, pulpe de fruits et de graines de *Zizyphus lotus L.* sont évaluées l'effet de leurs extraits aqueux sur le statut antioxydant et de lymphocytes T humains prolifération. (Benammar, 2010).

CHAPITRE II

Generalités sur les composés phénoliques

II. Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes, ils sont divisés principalement en trois grandes familles: Les polyphénols, les terpènes, les alcaloïdes (Lutge et *al* ;2002 ;Abderrazak et Joël, 2007)

Dans notre étude on s'intéresse aux polyphenols spécifiquement les flavonoïdes et les tannins spécialement, et ses activités biologiques.

II.1.Les polyphénols

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux, caractérisés par la présence d'au moins d'un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre (Bruneton, 1999 ; Lugasi et *al* ., 2003).

ils sont des composés phénoliques hydrosolubles, de poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Dalton (; Dangles et *al*. 1992 ; Hagerman et *al* ; 1998 Cheynier et Sarni-Manchado, 2006).

Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieures (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) ; et sont impliqués dans des nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la germination des graines et la maturation des fruits (Boizot et Charpentier, 2006).

Les actions protectrice des polyphenols peuvent comprendre :

- Inhibition des espèces réactives oxygénées
- piégeage des radicaux libre.
- chélation des ions métalliques responsables de la production des E.O.R
- inhibition des enzymes responsable de la production des E.O.R (exemple : xanthine oxidase et cyclooxygenase). (pokorny et *al*.,2001 ; magalha et *al*., 2008).

II. 1.1. Classification des polyphénols

Tableau 03: Les classes les plus importantes des composés phénoliques dans les plantes (Macheix *et al.*; 1990 ; Nagendran ,2006).

Classe	squelette de base	Exemple
phénols simples, benzoquinones	C6	<i>Catechol</i>
acides phénoliques	C6 - C1	<i>p-hydroxbenzeniques</i>
acide hydroxycinnamique, polypropène, coumarine, isocoumarine	C6 - C3	<i>Acide cafeique</i> <i>scopolétine</i>
Naphtoquinone	C6 - C4	<i>Juglone</i>
Xanthone	C6 - C1 - C6	
stilbène, anthraquinone	C6 - C2 - C6	<i>Resviratrol</i>
flavonoïdes, isoflavonoïdes	C6 - C3 - C6	<i>Quercetine, cyanidine</i> <i>D'aidezéine</i>
lignanes, neolignanes	(C6 - C3) 2	<i>Penorésiinol</i>
Lignines catecholmelanine (tannins condensés)	(C6 - C3) n (C6) n C6 - C3 - C6) n	

II.1.2. Rôle des composés phénoliques

Le rôle des composés phénoliques est maintenant reconnu dans différents aspects de l'utilisation que fait l'homme par les végétaux.

Les polyphénols sont partiellement responsables des qualités sensorielles et alimentaires des aliments végétaux (couleur, astringence, amertume, qualités nutritionnelles...).

L'astringence et l'amertume des nourritures et des boissons dépendent de la teneur en polyphénols (Lugasi *et al.*, 2003)

Ils sont également utilisés comme additifs pour l'industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique.

Les composants phénoliques sont des molécules biologiquement actives (King et Young, 1999), ils sont largement utilisés en thérapeutique comme vasoconstricteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antimicrobiens, (Bahorun, 1997 ; Cetkovic et al., 2008) antiradicalaires et antioxydants (Bahorun (1997). Analgésiques. (Da Silva et al., 2005 ; Sutradhar et al., 2008).

hypolipidémiques, hypocholestérolémiantes et anticancérigènes (Gharby et al., 2014).

D'autre part les composés phénoliques représentent un système de défense pour les plantes contre les micro-organismes pathogènes (Harborne et Rees., 1985).

II. 1.3.principales classes des composés phénoliques

II. 1.3.1 Les flavonoïdes

Le terme flavonoïde provenant du latin "flavus", signifiant "jaune", désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (Bruneton, 1999 ; Harborne et Williams, 2000) les flavonoïdes sont des pigments polyphénoliques qui sont responsables dans la plupart des colorations des fleurs et des fruits. Ils possèdent de nombreuses vertus thérapeutiques. Ils sont particulièrement actifs dans le maintien d'une bonne circulation. Certains ont aussi des propriétés anti-inflammatoires et anti-virales, d'autres ont des effets protecteurs sur le foie. Les relations structure-activités antioxydantes des flavonoïdes et des composés phénoliques ont montré que l'activité antioxydante était déterminée par la position et le degré d'hydroxylation (Igor, 2002).

II.1.3.1.1.Structure chimique

Tous les flavonoïdes (plus de 6000 structures) possèdent le même élément structural de base : le noyau flavane (Bruneton, 1999 ; Reynaud et Lussignol, 2005) qui est un diphenylpropane à 15 atomes de carbone (C6-C3-C6) constitué de deux noyaux aromatiques (ou anneaux), que désignent les lettres A et B, reliés par un hétérocycle oxygéné, que désigne la lettre C (Harborne et Williams, 2000) comme le montre la figure 6:

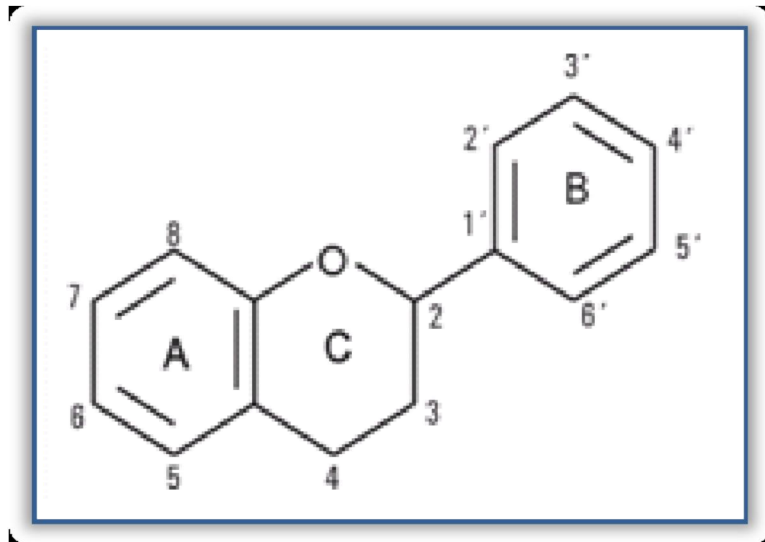


Figure 6 : Structure de base des flavonoïdes (Di Carlo et al., 1999).

II.1.3.1.2. Classification des flavonoïdes

Les flavonoïdes peuvent être subdivisés en plusieurs classes dont les plus importantes sont ci dessous:

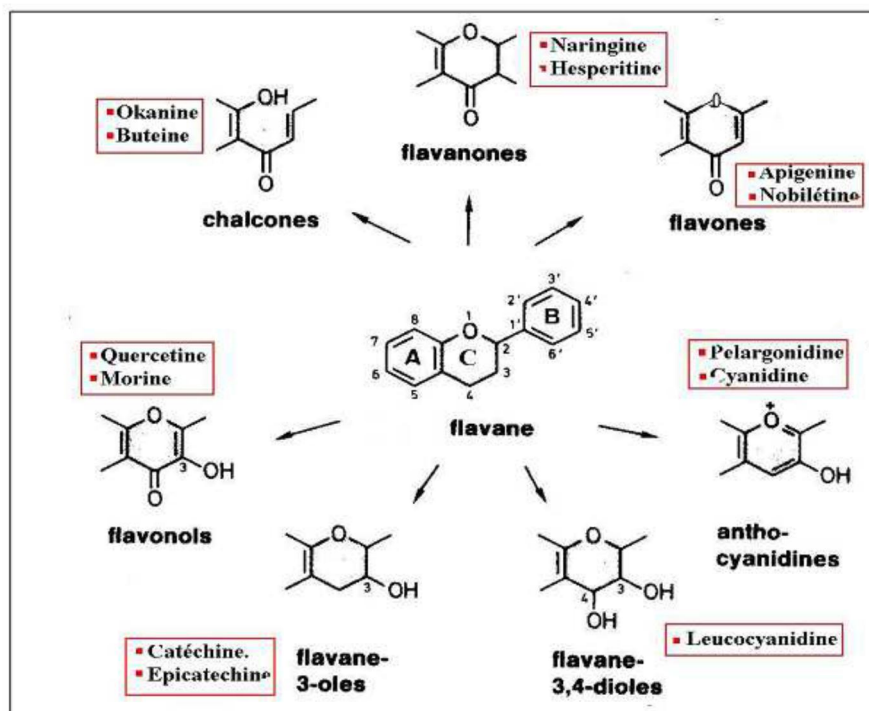


Figure 07 : Différents types de flavonoïdes (Dacosta ,2003 ; Louis, 2004).

II.1.3.1.3. Biosynthèse des flavonoïdes

Voie des shikimate

la voie acetate.

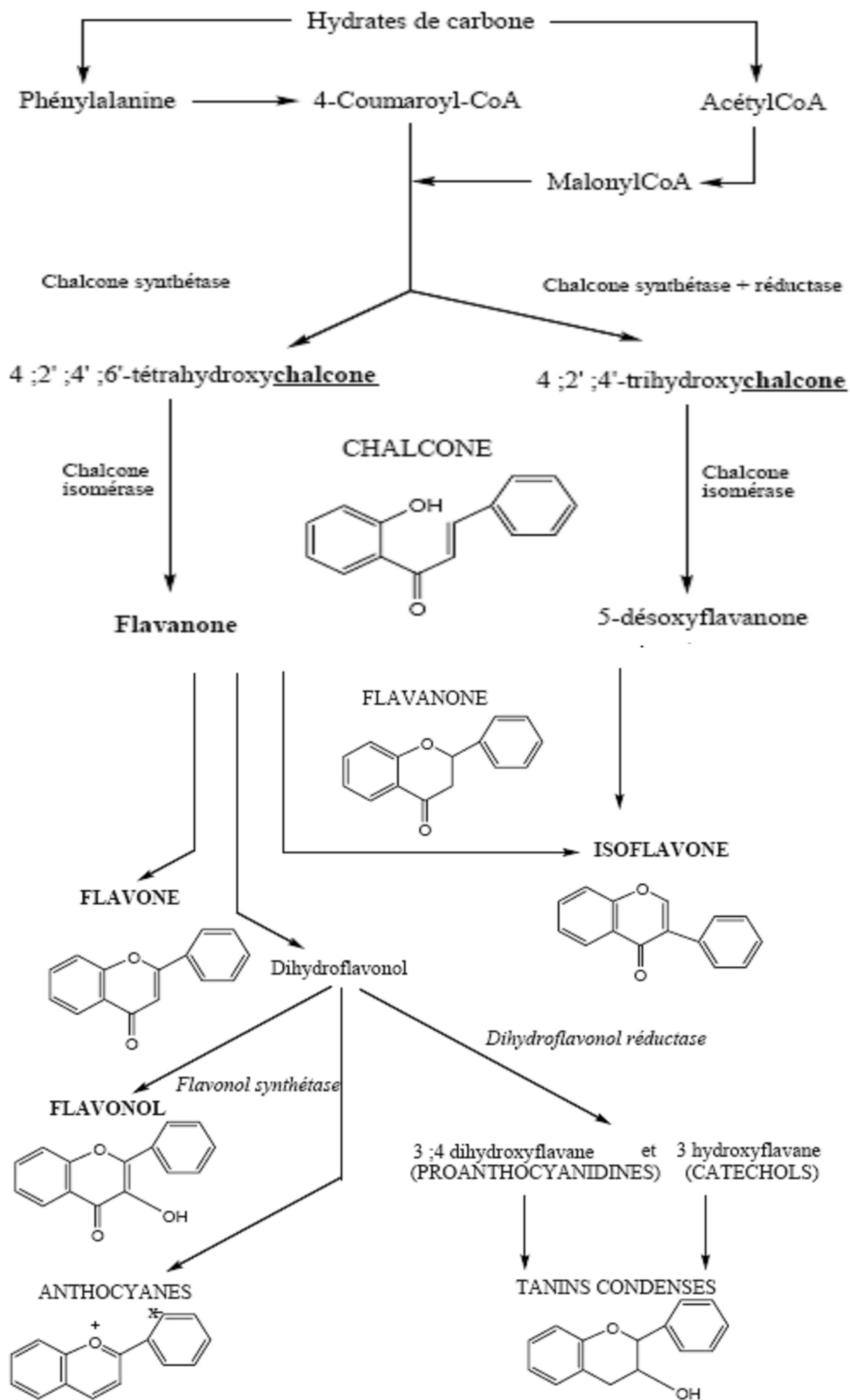


Figure 8. Voie de biosynthèse de différentes classes des flavonoïdes (Remesy et al., 1996)

II-1.3.1.4. Localisation et distribution des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont largement rencontrés dans le règne végétal. On signale environ 2% de la proportion du carbone photosynthétique global incorporé dans la biosynthèse flavonique. Ils sont cependant rares chez les végétaux inférieurs. De plus, leur localisation au sein de la plante est caractéristique. En effet, les flavonoïdes sont omniprésents dans les organes aériens jeunes où ils sont localisés dans les tissus superficiels (Remesy et *al.*, 1996).

Au niveau cellulaire, on a observé que les flavonoïdes, sous forme d'hétérosides, sont dissous dans le suc vacuolaire ou localisés dans les chloroplastes et les membranes des végétaux.

Lorsque les flavonoïdes sont présents dans la cuticule foliaire, il s'agit presque toujours de génines libres dont la lipophilie est accrue par la méthylation partielle ou totale des groupes hydroxyles (Bruneton, 1993).

En définitive, les flavonoïdes possèdent une large répartition dans le monde végétal. Ils sont largement abondants dans les légumes feuilles (salade, choux, épinards, etc.), ainsi que dans les téguments externes des fruits. On les trouve principalement dans les agrumes : citrons, orange, pamplemousses et dans une moindre mesure : abricots, cerises, mûres, raisins, papayes, tomates et sarrasin. On en trouve également en quantité importante dans nombreuses plantes médicinales et très spécifiquement dans les herbes aromatiques comme le thym, le persil, le romarin et le céleri (Bronner et Beecher, 1995 ; Remesy et *al.*, 1996).

II.1.3.1.5. Biodisponibilité des flavonoïdes

Les effets santé des flavonoïdes 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 menées 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 Katan, 1998 ; Walle, 2004).

II.1.3.1.6. Activités biologiques des flavonoïdes

II.1.3.1.6.1. Activité antioxydante

Les flavonoïdes sont reconnus pour leurs nombreuses activités biologiques, ces activités sont attribuées en partie aux propriétés anti-oxydantes de ces composés naturels. Ils sont réagis avec la plupart des espèces réactives oxygénées (Fuhrman et *al.*, 1995).

L'action antioxydante de ces composés ne s'exerce pas seulement par l'inhibition des radicaux libres, mais elle se manifeste aussi par la neutralisation d'enzymes oxydantes et par la chélation d'ions métalliques responsables de la production des espèces réactives de l'oxygène (Halliwell, 1994 ; Cotelle, 2001).

Les flavonoïdes ont une capacité à capturer et désactiver les radicaux libres. Cette activité antiradicalaire nécessite :

- ✓ Une structure orthodiphénolique du cycle B des flavonoïdes.
- ✓ Une double liaison en C2-C3 conjuguée avec la fonction C4-oxo, responsable de la délocalisation d'électrons.
- ✓ Les hydroxyles en position C3 et C5 qui permettent une activité antiradicalaire maximale (Lopez-Lazaro, 2000 ; Siess et *al.*, 2000).

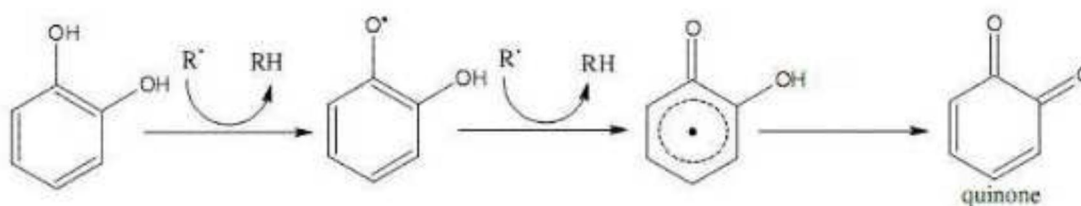


Figure 9 : Piégeage des espèces réactives oxygénées par les flavonoïdes (Marfak, 2003).

II.1.3.1.6.2. Activité antimicrobienne

Les flavonoïdes sont considérés de très bons agents antimicrobiens grâce à leur structure caractérisée par la présence de groupe phénolique, et d'autres fonctions chimiques (Harborne et Williams, 2000). D'autre part, plusieurs études ont montré l'effet bactéricide de différentes flavanones sur un *Staphylococcus aureus*.

Le mécanisme d'action de polyphénols est sans doute très complexe, parmi les hypothèses avancées :

- ✓ L'inhibition des enzymes extracellulaires microbiennes,
- ✓ La séquestration du substrat nécessaire à la croissance microbienne ou la chélation de métaux tels que le fer,
- ✓ L'inhibition du métabolisme microbien (Mila et Scalbert, 1994).

II.1.3.1.6.3. Effets antiallergiques

Les effets antiallergiques sont attribués à l'influence des flavonoïdes sur la production de l'histamine. En effet, les flavonoïdes inhibent les enzymes AMP cyclique phosphodiesterase et ATP ase Ca²⁺-dépendante, ces deux dernières sont responsables de la libération de l'histamine à partir des mastocytes et des basophiles.

Di Carlo(1999) a étudié les effets antiallergiques de la quercétine, il a trouvé que ce flavonoïde exerce ses effets, en inactivant l'enzyme ATP ase Ca⁺²dépendante, de même l'action de la quercétine est supérieure à celui du cromoglycate de sodium utilisé comme médicament antihistaminique. (Di Carlo ,1999)

II.1.3.1.6.4. Autres activités des flavonoïdes

À côté des activités citées précédemment, les flavonoïdes possèdent d'autres activités:

Ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire

(Middleton et Elliott, 1996). ils sont de puissants inhibiteurs de la prolifération des lymphocytes B et T (Mookerjee et *al.*, 1986).

Les flavonoïdes peuvent aussi empêcher le diabète ou du moins le réduire en inhibant l'enzyme aldose réductase (Chaudhry, 1983).

Ong et Khoo (2000) ont reporté que la myricétine(un flavonoïde) possède un effet hypoglycémiant chez des animaux diabétiques (Ong et Khoo., 2000).

D'autres activités sont étudiées : activités antivirales, antispasmodiques, antitumorales, antiagrégation plaquettaires, hypocholestérolémiantes, antiinflammatoires, antihypertensives (Das et *al.*, 1994 ;Kini et *al.*,2008).

Aussi certains flavonoïdes (notamment du soja) ont un effet préventif sur le cancer du sein, de la prostate et l'ostéoporose (Besle et *al.* ,2004).

II.1.3.2. Les tanins

Le terme " tanin " (ou tannin) vient du mot *tannage*, un procédé datant du moyen age et permettant la formation de cuir imputrescible par la création de liaisons entre les fibres de collagène de la peau fraîche (Bruneton., 2009).

Les tanins sont des composés phénoliques solubles dans l'eau, 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 (Aganga et Mosase, 2001 ; Peronny, 2005).

Le rôle biologique des tanins dans la plante est lié à sa propre protection contre les infections, les insectes et les animaux herbivores (Khanbabaee et Ree, 2001), en plus de la protection contre les attaques fongiques et bactériennes (Peronny, 2005).

II.1.3.2.1. Classification biochimique

On distingue habituellement chez les végétaux supérieurs deux groupes basés sur des différences structurales : les tanins hydrolysables et les tanins non hydrolysables, ou tanins condensés (Fiorucci, 2006)

II.1.3.2.1.1. Les tanins hydrolysables

Comme leur nom l'indique, sont particulièrement sensibles à l'hydrolyse acide et sont répartis en :

- ✓ gallotanins, constitués d'un sucre (en général le glucose) estérifié par un ou plusieurs acides galliques ou dérivés (appelés également unités galloyles)
- ✓ éllagitanins, obtenus à partir des précédents par couplage oxydatif d'au moins deux unités galloyles,
- ✓ tanins complexes (ou tanins partiellement hydrolysables), formés par une unité gallo- ou ellagitanin comportant une liaison glycosidique avec un flavanol (Brunet, 2008)

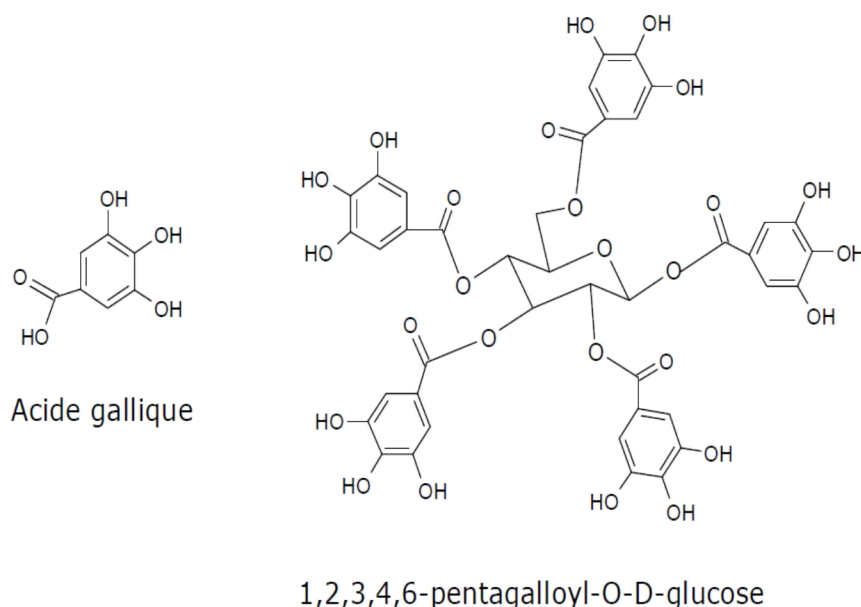


Figure 10. Structures de l'acide gallique et d'un tanin gallique (Brunet, 2008)

II.1.3.2.1.2. Tanins condensés (proanthocyanidines)

les tannins condensés ou proanthocyanidine sont des polymères ou oligomères flavanique, constitués d'unités flavan-3-ols, le plus souvent épicatechine et catéchine (Khanbabaee et Ree ,2001) .Ces unités liées entre elles par une seule liaison carbone-carbone C4-C8 ou C4-C6 dans le type B des proanthocyanidines ;ou par une liaison interflavanique double (C4-C8 ou C4-C6) et (C2-O-C7) dans le type A(Bruneton,1999 ; Xie et Dixon,2005).

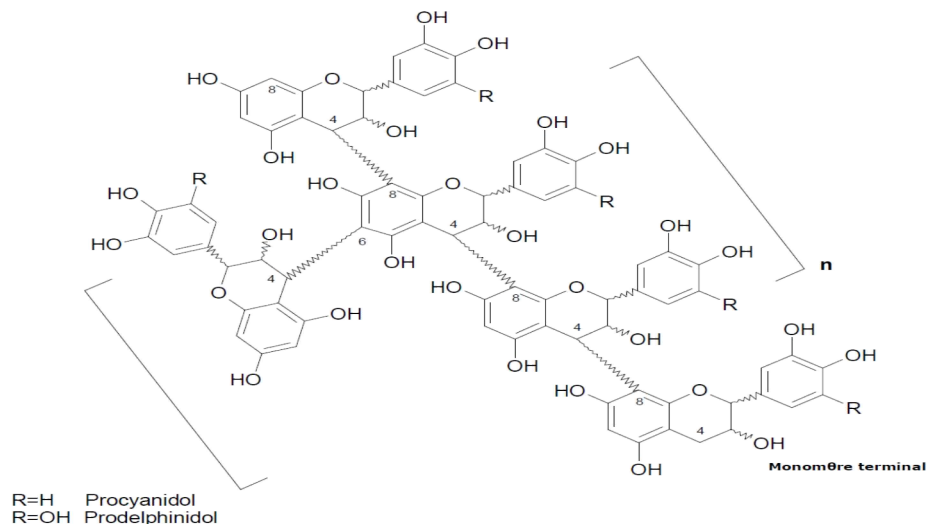


Figure 11. Structures chimiques de base des flavan-3-ols et des tanins condensés (Brunet,2008)

II.1.3.2.2. Localisation et distribution

Les tanins sont très répandus dans le règne végétal, ils sont particulièrement abondants chez les Conifères, les Fagacée, les Rosacée (Ghestem et *al.* , 2001).

Tous les organes végétaux peuvent en renfermer (l'écorce, le bois, les feuilles, les fruits, les racines, les graines) (Khanbabaee et Ree ,2001). Les tanins sont présents dans une variété de plantes utilisées dans l'alimentation notamment les céréales et les légumineuses (sorgho,millet,orge,haricots secs, petits pois, caroube et les fruits comme (pomme,mûre ,canneberge, datte,raisin,aubépine, pêche poire,kaki,prune,framboise et fraise (Peronny,2005).

II-1.3.2.3. Activités biologiques et thérapeutiques des tanins

Les tanins sont des molécules biologiquement actives, douées d'activités pharmacologiques remarquables et des effets caractéristiques sur la santé humaine (Chavan et *al.*, 2001 ; Okuda, 2005).

Toutes les plantes en contiennent à des degrés différents. Ce sont des composés

polyphénoliques qui permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections. Les plantes riches en tanins sont utilisées pour retendre les tissus souples, comme dans le cas des veines variqueuses, pour drainer les sécrétions excessives, comme dans la diarrhée et pour réparer les tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure (Igor, 2002).

Ils sont réagits aussi comme anti-inflammatoire, anticancérogénique, leur potentiel peut être lié au propriété antioxydante qui apparaît importante dans la protection cellulaire des dommages oxydatifs (Yang *et al.*, 2000 ; Chung et Wei, 2001).

Les tanins présentent une activité antiulcéreuse et antiparasitaire, en effet, la consommation des plantes à tanins peut affecter la biologie de certaines espèces de parasites intestinaux (Peronny, 2005).

II.1.3.2.3.1. Activité antioxydante des tanins

Les tanins ont la particularité d'inhiber la peroxydation des lipides en agissant comme donneur de proton et accepteur de radicaux libres, stoppant ainsi le mécanisme d'auto oxydation (Perret, 2001). Les tanins hydrolysables et condensés sont 15 à 30 fois plus efficaces que les phénols simples (Peronny, 2005).

Plusieurs propriétés structurales des tanins augmentent leur activité antioxydante:

- . La galloylation, préférentiellement en position 3' augmente la capacité du piégeage pour l'O₂ et OH·.
- . Le piégeage de O₂ est plus important pour les dimères procyanidines couplés par une liaison (4→8) que les dimères liés par une liaison (4→6) (De Bruyne *et al.*, 1999).

II.1.3.2.3.2. Inhibition enzymatique

La fixation des tanins avec les protéines peut engendrer l'inhibition de plusieurs enzymes. Le blocage de la 5-lipoxygénase par la géraniine et la corilagine ; l'inhibition de l'enzyme de conversion de l'angiotensine, de l'activation de la hyaluronidase, des glucosyltransférases des microorganismes impliqués dans la cariogenèse ; inhibition des topoisomérases par la sanguine H6 ou l'acide chebulagique ; inhibition de la protéines kinase C par les tanins éllagiques et les tanins complexes, les dimères procyanidoliques ont une activité inhibitrice sur l'histidine decarboxylase et l'elastase (Bruneton,1999) ; inhibition de l'α-amylase salivaire humaine (Kandra *et al.*, 2004).

II.1.3.2.3.3. Activité thérapeutique due à l'astringence

Par voie interne, ils exercent un effet antidiarrhéique (Bruneton, 1999), qui est du à l'inhibition de la motilité intestinale (De Bruyne *et al.*, 1999).

Par voie externe, les tanins imperméabilisent les couches les plus externes de la peau et des muqueuses, protégeant ainsi les couches sous-jacentes ; ils ont également un effet vasoconstricteur sur les petits vaisseaux superficiels. En limitant les pertes en fluides et en empêchant les agressions extérieures, les tanins favorisent la régénération des tissus en cas de blessures superficielles ou de brûlure (Bruneton, 1999). Sur les blessures, les tanins induisent la cicatrisation par différents mécanismes cellulaires, en favorisant la contraction de blessure, l'augmentation de la formation des vaisseaux capillaires et des fibroblastes, induisant la prolifération des kératinocytes (Lopes et *al.*, 2005).

II.1.3.2.3.4. Activités antimicrobiennes des tanins

De nombreuses études ont montré l'activité antibactérienne des tanins. Ces molécules ont été rapportées comme bactériostatique ou bactéricide sur plusieurs souches bactériennes (Chung et Wei, 2001).

Chung et Wei (2001) ont trouvé que l'acide tannique a inhibé la croissance des bactéries des aliments et des bactéries intestinales humaines comme :

Escherichia coli, *Proteus vulgaris*, *Pseudo fluorescens*, *Salmonella enteritidis*, et *Salmonella typhimurium*.

II.1.3.2.3.5.L'activité antivirale

Cette activité est due à la fixation des molécules des tanins à l'enveloppe protéique du virus ou la membrane de la cellule hôte et par conséquent l'inhibition de l'adsorption et la pénétration virale. Cependant, dans certains cas la fixation cause seulement des changements mineurs à la surface virale, la pénétration reste mais l'enlèvement de l'enveloppe virale est inhibé. Plusieurs types de virus sont inactives par les tanins, le virus herpes simplex (HSV-1, HSV-2) est inhibé par les tanins hydrolysables et les tanins condensés galloylés de plusieurs extraits des plantes (De Bruyne et *al.*, 1999).

L'acide tannique est capable d'inhiber la réplication du virus d'influenza (Chung et Wei, 2001).

Les oligomères proanthocyanidins présentent une activité antivirale contre le virus respiratoire syncytial, virus d'influenza A et le virus para influenza, en outre l'hépatite A et B. Les tanins ont un autre effet inhibiteur de la réplication virale, c'est l'inhibition de la Transcriptase inverse des rétrovirus comme virus (HIV) ; cette inhibition est influencée par la galloylation, l'étendue de l'oligomérisation, la différence de la liaison inter-flavan, la stéréochimie de la fonction 3 hydroxyle (De Bruyne et *al.*, 1999).

Plusieurs types de champignons sont inhibés par les tanins. Les champignons

filamenteux comme *Aspergillus niger*, *Penicillium*, sont inhibés par des différentes préparations de tanins.

II.1.3.2.3.6. Autre activités des tanins

Les tanins sont des molécules biologiquement actives (Chavan et *al.*, 2001 ; Okuda, 2005). Ils présentent une activité antiulcéreuse et antiparasitaire (Peronny, 2005).

Comme anti-inflammatoire, anticancérogénique (Yang et *al.*, 2000 ; Chung et Wei, 2001) augmentation de la résistance capillaire, diminution de la perméabilité capillaire, augmentation du tonus veineux, stabilisation du collagène, etc. (Bruneton, 1999).

CHAPITRE III

Le stress oxydatif

III-1- Le stress oxydatif

Le stress oxydatif est défini comme étant le déséquilibre entre la génération des espèces réactives de l'oxygène et la capacité du corps à neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs (Boyd et *al*, 2003).

III-2- Les espèces réactives de l'oxygène

Parmi les espèces radicalaires les plus intéressantes se trouvent les espèces réactives de l'oxygène (ERO) qui sont des radicaux libres qui dérivent de la molécule d'oxygène par addition d'un électron, et aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante (Gutteridge, 1993 ; Jacques et André, 2004).

Tableau.04. Principales espèces réactives oxygénées (Antwerpen, 2006).

Espèces réactives oxygénées (ROS)	
Radicalaires	Non radicalaires
$\cdot\text{OH}$ Radical hydroxyle	H_2O_2 Peroxyde d'hydrogène
$\text{RO}\cdot$ Radical alkoxy	ROOH Peroxyde organique
$\text{ROO}\cdot$ Radical peroxy	HOCl Acide hypichloreux
$\text{O}_2\cdot^-$ Anion superoxyde	$^1\text{O}_2$ Oxygène singulet
$\text{NO}\cdot$ Radical oxynitrique	ONOO^- Peroxynitrite

III-3- Les radicaux libres

Un radical libre est défini comme toute molécule possédant un ou plusieurs électrons non appariés (Jacques et André., 2004), cette molécule est très instable et réagit rapidement avec d'autres composants, essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir la stabilité, une réaction en chaîne débute lorsqu'un radical libre attaque la molécule stable la plus proche en lui arrachant son électron, et la molécule attaquée devient elle-même un radical libre (Martinez-Cayuela, 1995).

Les réductions mono électroniques successives de l'oxygène donnent naissance à différentes EAO : l'anion superoxyde (O_2^-), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), le radical hydroxyle ($\text{OH}\cdot$) (Audrey et *al*., 2005).

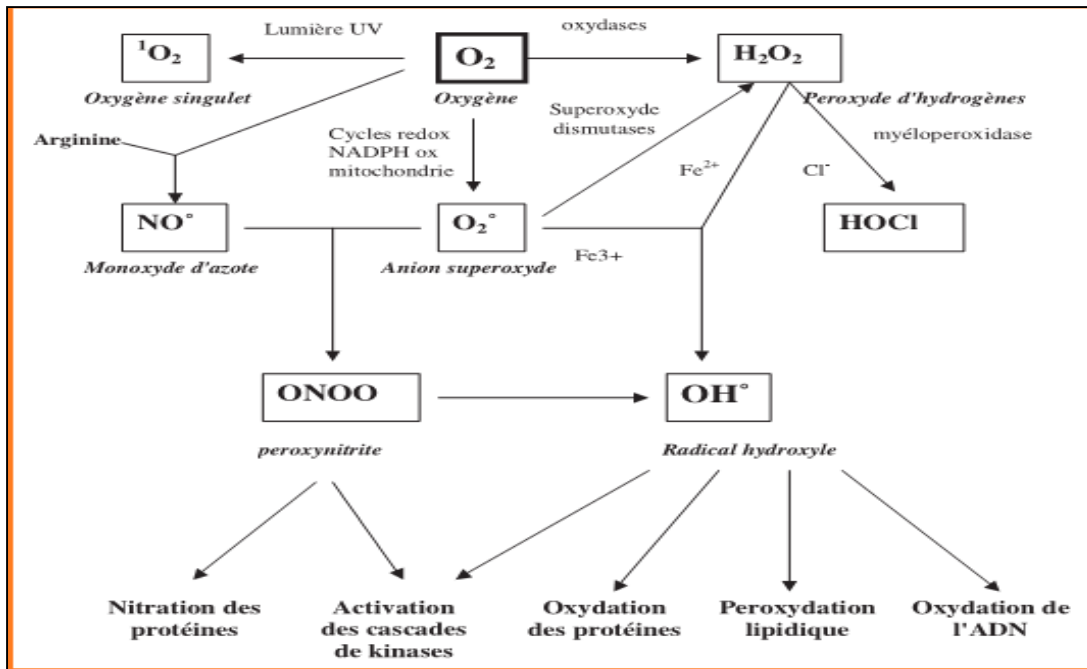
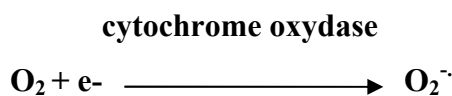


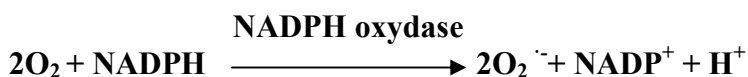
Figure.12. Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l’oxygène impliqué en biologie (Favier, 2003).

III-3-1- Le radical superoxyde

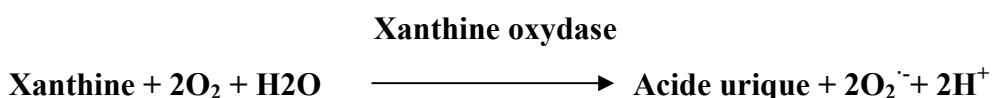
L’origine principale du radical superoxyde est sans conteste la chaîne respiratoire mitochondriale. En effet, ce système permet la production du radical superoxyde par l’addition d’un électron à l’oxygène moléculaire, cette réaction est catalysée par le cytochrome oxydase mitochondrial:



Le radical superoxyde peut également se former lors de la phagocytose grâce à la NADPH oxydase présente dans la membrane plasmique des phagocytes :



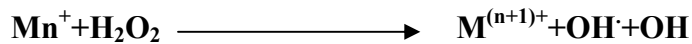
Une autre source possible est la xanthine oxydase. Cette enzyme catalyse l’oxydation de la xanthine en acide urique.



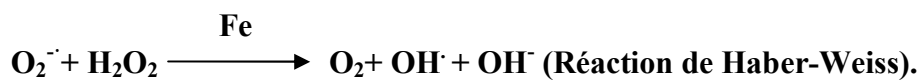
Le radical superoxyde est peu réactif, mais il entre comme agent oxydant dans la majorité des réactions (Marfak, 2003 ; Antwerpen, 2006).

III-3-2- Le radical hydroxyle

Il est principalement formé lors de réactions d'ions métalliques avec le peroxyde d'hydrogène, ces réactions sont décrites sous le nom de réactions de Fenton:

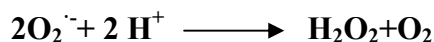


Le fer peut également catalyser la transformation de l'anion superoxyde en présence de peroxyde d'hydrogène avec production de radical hydroxyle selon la réaction dite Haber-Weiss. Cette réaction est relativement lente et moins courante que la précédente dans les tissus vivants (Jacques et André., 2004).



III-3-3- Le peroxyde d'hydrogène

Il se forme par une réaction de dismutation du radical superoxyde, catalysée par le superoxyde dismutase (SOD).



Le peroxyde d'hydrogène est moins réactif que l'anion superoxyde, mais il possède une capacité de diffusion importante (Jacques et André., 2004).

III-4- Les conséquences moléculaires du stress oxydatif

La production excessive des radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques : oxydation de l'ADN, des protéines, de lipides et des glucides, mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides (Favier, 2003).

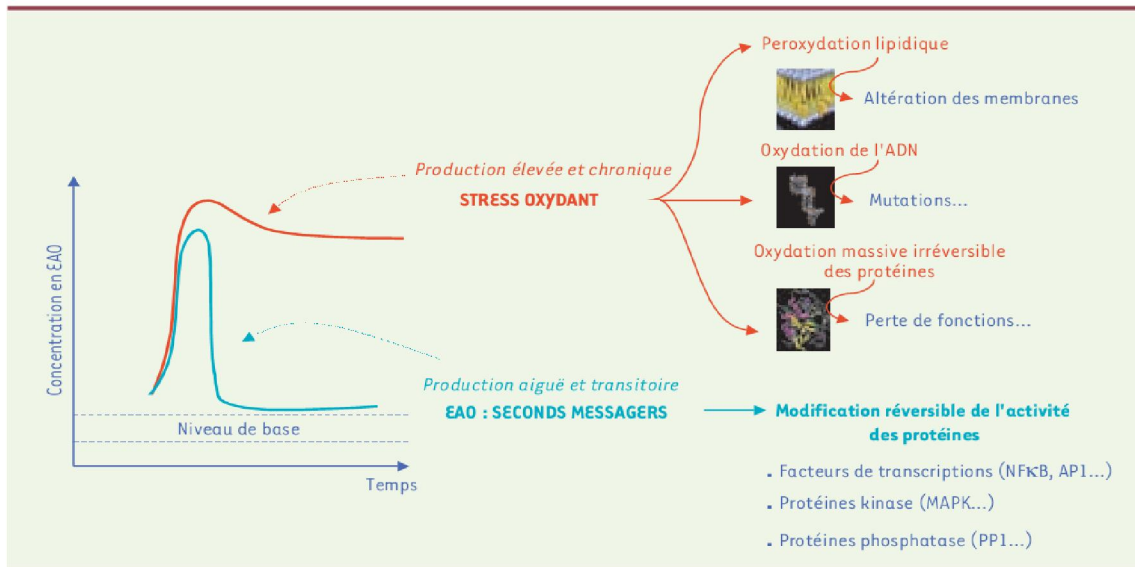


Figure.13. Conséquences cellulaires des EAO (Favier, 2003).

III.5. Les antioxydants

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques de ROS (Vansant, 2004).

III.5.1. Les antioxydants enzymatiques

Les antioxydants enzymatiques (le superoxyde dismutase, la catalase, la glutathion peroxydase et la glutathion reductase) sont considérés comme la première ligne de défense de notre organisme contre les ROS.

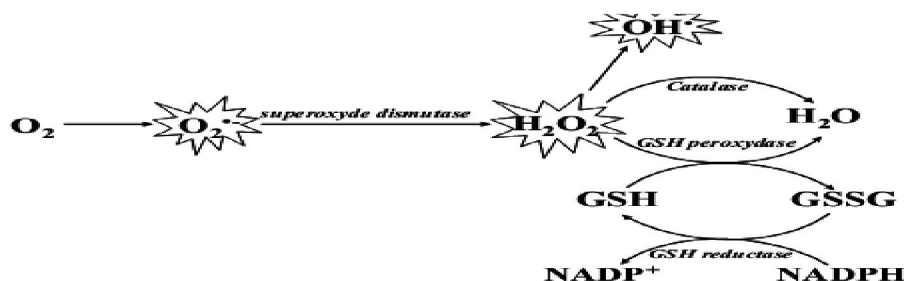


Figure14. Schéma des défenses antioxydantes enzymatiques (Blandine ,2006).

III.5.2. Les antioxydants non enzymatiques

Contrairement aux enzymes antioxydantes, la plupart de ces composants ne sont pas synthétisés par l'organisme et doit vent être apportés par l'alimentation. Dans cette catégorie d'antioxydant nous retrouvons les oligoéléments, la glutathion réduit (GSH), l'ubiquinone, le cytochrome C et les vitamines E et C (Blandine, 2006).

III.6. Mécanisme d'action des antioxydants

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulet, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la complexation d'ions et de métaux de transition. Cet intérêt a plusieurs origines; en tant que constituants alimentaires, ces antioxydants naturels semblent contribuer de manière significative à la prévention des maladies telles que le cancer ou encore des maladies cardio-vasculaires. (Amadou, 2005).

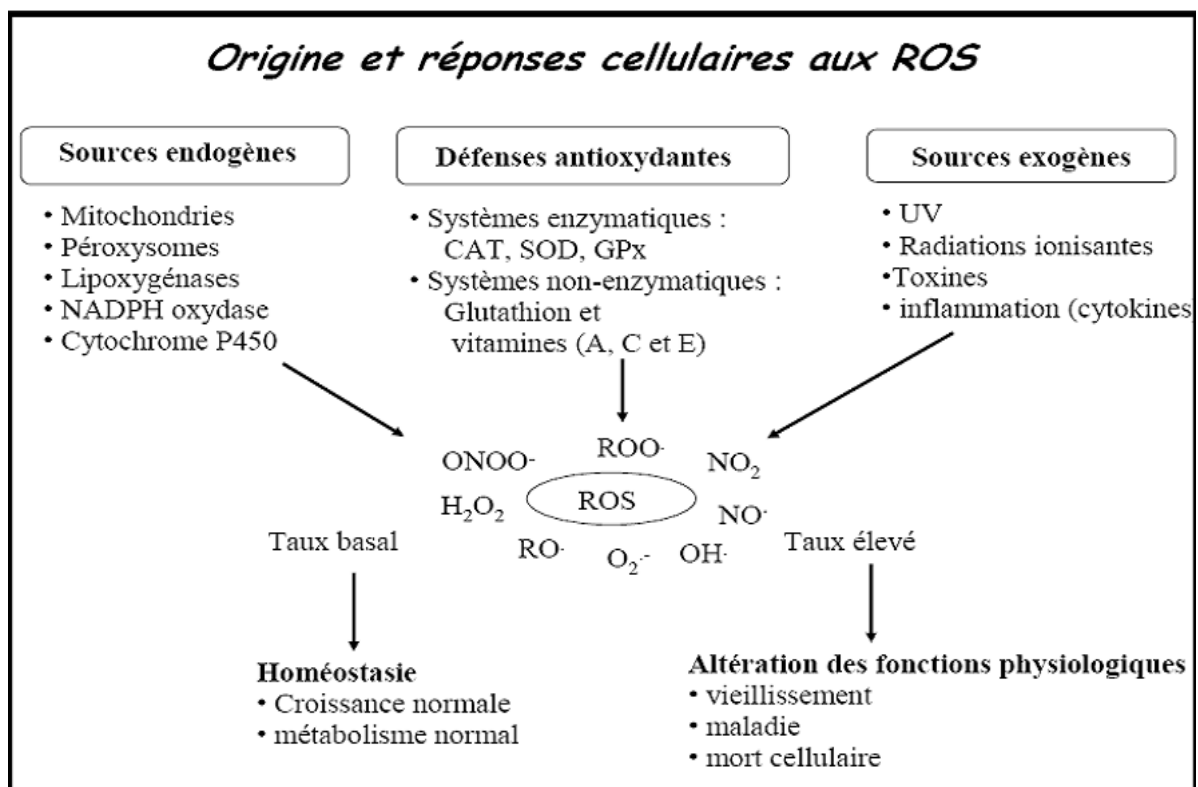


Figure15. Origine et réponse cellulaire aux ROS (Petropoulos, 2003).

PARTIE 02

Partie Expérimentale

CHAPITRE I

Matériel et Méthodes

I.1. Matériel

I.1.1. Matériel végétale

Il est constitué des feuilles du *Zizyphus lotus*, récoltés des régions de Mila (bardou beinen) en Novembre 2014. Les feuilles ont été séchées à l'ombre à l'abri de la lumière, à température ambiante.



Figure 16. Les feuilles des *Zizyphus lotus*.

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

I.2. Méthodes

I.2.1. Préparation de l'extrait aqueux à partir des feuilles du *Zizyphus lotus*

Selon la méthode de Bougandoura et Bendimerad (2012) modifiée, l'extrait aqueux a été préparés à partir des feuilles pulvérisées.

Extrait aqueux

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

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

Le Lyophilisateur

La lyophilisation permet par un processus de sublimation d'extraire l'eau d'un produit préalablement congelé. Le procédé a lieu sous vide avec une température du produit inférieure à -10°C (Delphine, 2008).



Figure17. Le Lyophilisateur (Université mentourie Constantine1(2015))

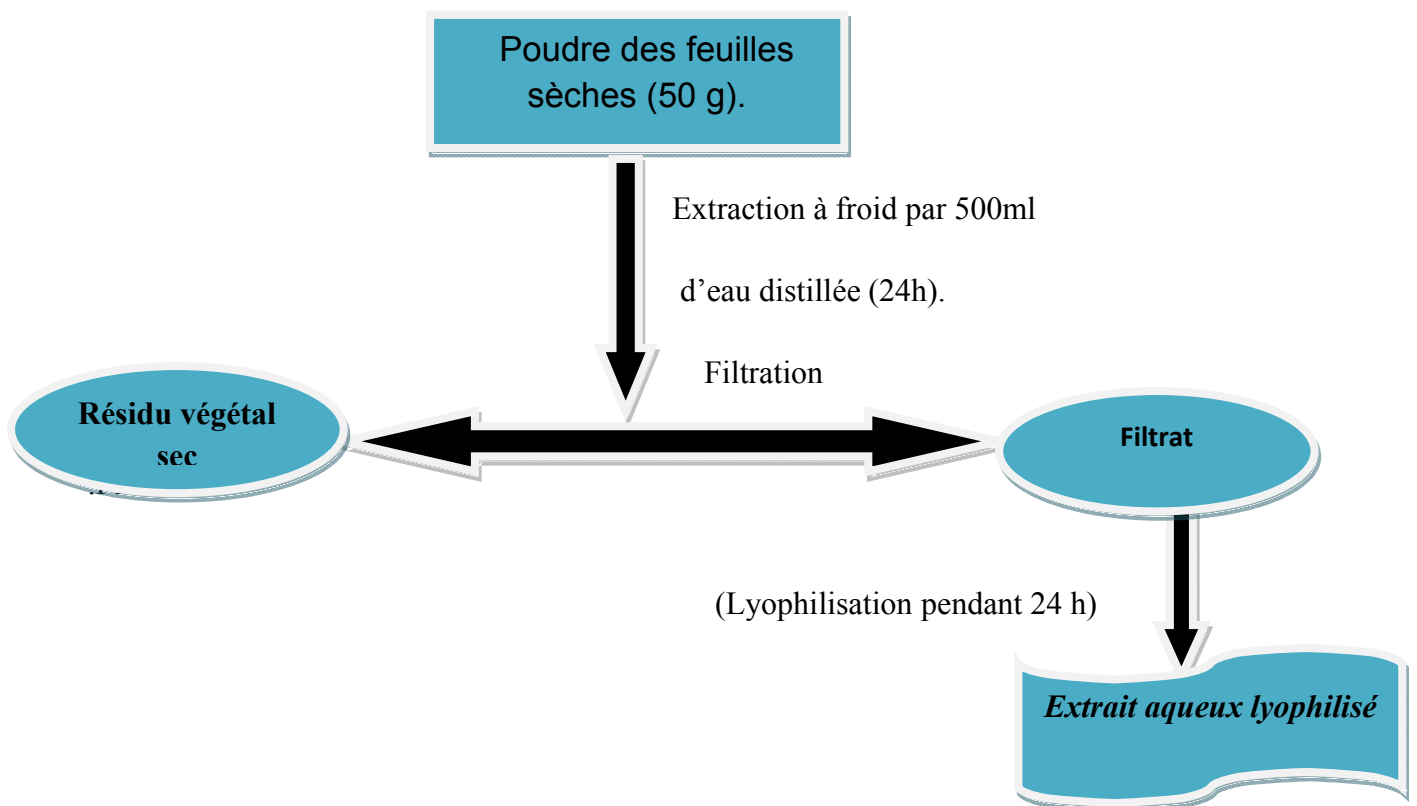


Figure18. Différentes étapes de préparation de l'extrait aqueux.

I.2.2. Analyse de l'extrait aqueux des feuilles du *Zizyphus lotus*

I.2.2.1. Analyse qualitative de l'extrait du *Zizyphus lotus*

I.2.2.1.1. Tests préliminaires

I.2.2.1.1.1. Test des composés phénoliques

L'extrait (0,1 g) a été dissout dans 3 ml d'eau distillée et 5 gouttes de FeCl_3 y ont été ajoutées. Le développement de la coloration verdâtre a indiqué la présence des phénols. La présence des composés phénoliques a été marquée par l'apparition de la coloration bleu-verdâtre (Rosine et Momo ,2009).

I.2.2.1.1.2. Caractérisation des Flavonoïdes

A 3ml de l'extrait aqueux, on ajoute 5ml d'HCl , puis quelques morceaux du magnésium. En présence de flavonoïdes, une couleur orange est apparue (Ciulcl, 1982).

I.2.2.1.1.3. Caractérisation des tanins condensés

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

I.2.2.1.1.4. Différentiation des tanins

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

•Précipitation par le réactif de Stiasny

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

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

I.2.2.1.1.5. Caractérisations des saponines

Deux milligrammes de l'extrait ont été introduit dans un tube à essai contenant 4 ml d'eau distillée puis l'ensemble a été chauffé pendant 5 min. Après refroidissement et filtration, 5 ml de filtrat ont été introduits dans un second tube à essai et agités pendant 1 min. Après 15min de repos, l'épaisseur de la mousse a été mesurée à l'aide d'une règle graduée. Une hauteur de mousse d'au moins un centimètre a indiqué la présence des saponines (Rosine et Momo, 2009).

I.2.2.1.1.6. Caractérisation des alcaloïdes

Le réactif de Mayer a été utilisé pour caractériser la présence des alcaloïdes dans l'extrait Aq des feuilles des *Zizyphus lotus*. L'extrait est repris dans quelques ml d'HCl 50 %.

La formation d'un précipité jaune, après rajout de quelques gouttes du réactif de Mayer (mercuritériiodur de potassium ; faites dissoudre 1.36g de chlorure mercurique et 5g d'iode de potassium dans l'eau), témoigne de la présence d'alcaloïdes (Dohou et al, 2003).

I.2.2.1.2. Chromatographie sur couche mince

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

L'analyse de l'extrait du *Zizyphus lotus* a été réalisée sur des plaques de gel de silice avec indicateur de fluorescent (20x20cm, 60 F254), selon la méthode de Diallo et al (2004) avec quelques modifications, l'extrait a été dissous dans l'eau distillée.

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

5 µl d'extrait (10mg/ml) et des standards quercétine, catéchine, épicatechine, naringénine acide gallique et la rutine (2mg/ml) sont déposés et la plaque est ensuite introduite dans la chambre de migration préalablement saturée par la vapeur de la phase mobile. Après migration, les plaques sont séchées, puis visualisées par les systèmes de révélation :

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

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

$$R_f = \frac{\text{Distance parcourue par le constituant (centre de la tache)}}{\text{Distance parcourue par l'eluant}}$$

I.2.2.2. Analyse quantitative de l'extrait aqueux des feuilles des *Zizyphus lotus*

I.2.2.2.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux dans l'extrait des feuilles de *Zizyphus lotus* est effectué selon la méthode de Folin Ciocalteu (Wong *et al.*, 2006). Le réactif précédent est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$), il réduit lors de l'oxydation des phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (Boizot et Charpentier, 2006).

Brièvement, 200 μ l de l'extrait (dissous dans l'eau distillée) est ajouté à 1 ml du réactif de Folin Ciocalteu (dilué 10 fois par l'eau distillée).

Après 4 min, 800 μ l de Na_2CO_3 (75g/l) sont ajoutés, après agitation, l'ensemble est incubés à l'ombre pendant 2 heures. L'absorbance est lue à 765nm par un spectrophotomètre.

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique (0-200 μ g /ml). Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalent d'acide gallique par un milligramme de l'extrait (μ g EAG/mg d'extrait).

I.2.2.2.2. Dosage des Flavonoïdes

La méthode du trichlorure d'aluminium (Bahorun *et al.*, 1996) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans l'extrait. 1ml l'échantillon et du standard (préparé dans l'eau distillée) est ajouté à 1ml de la solution d' $AlCl_3$ 2%.

Après 10 min, les concentrations des flavonoïdes sont déduites à partir de la gamme d'étalonnage établie avec la quercétine (0-35 μ g/ml) et sont exprimées en microgramme d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait (μ g EQ/mg d'extrait).

I.2.2.2.3. Dosage des tanins condensés

Le dosage des tanins condensés dans l'extrait du *Zizyphus lotus* est effectué selon la méthode de Broadhurst et Jones (1978), modifiée par Heimler et *al.* (2006). Le principe de ce dosage est basé sur la fixation du groupement aldéhydique de vanilline sur le carbone 6 du cycle A de la catéchine pour former un complexe chromophore rouge qui absorbe à 500nm (Schofield et *al.*, 2001) (**Figure 19**).

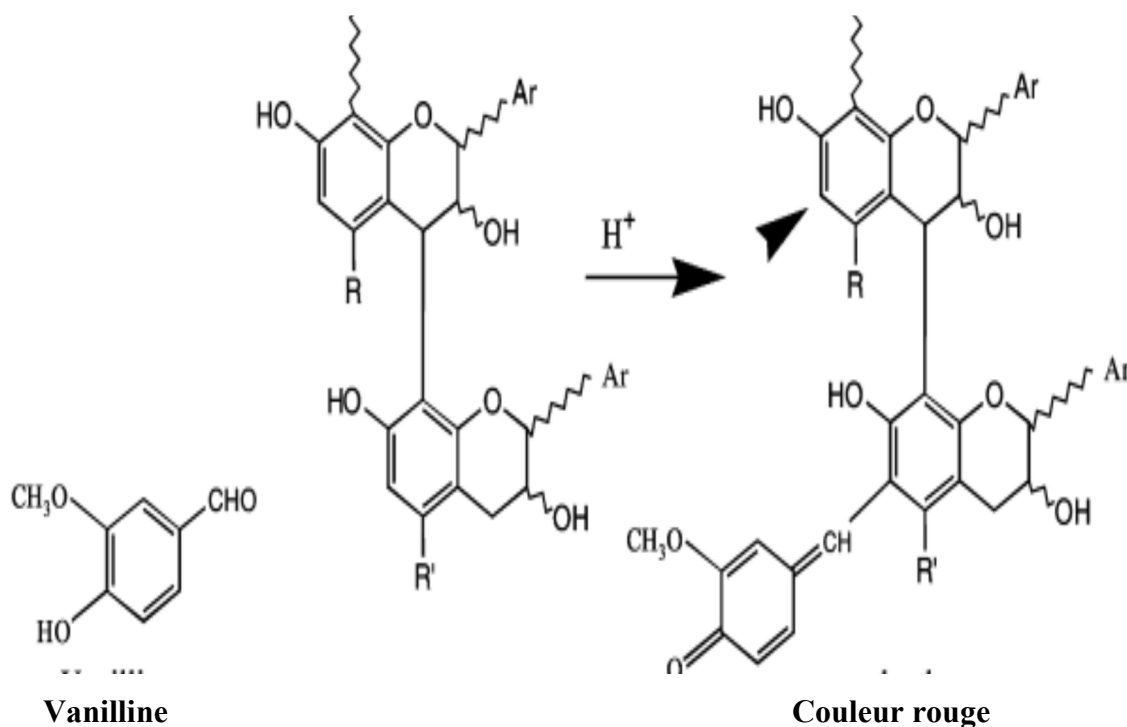


Figure 19. La réaction entre la vanilline est les tanins condensés (Schofield et *al.*, 2001)

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

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

I.2.2.3. Activités biologiques

I.2.2.3.1. Activités antioxydantes

I.2.2.3.1.1. Méthode du thiocyanate de fer (FTC)

Le but de cette méthode est de vérifier si l'extrait Aq des feuilles de *Zizyphus lotus* empêche la peroxydation de l'acide linoléique. La peroxydation se déroule en selon le schéma suivant :

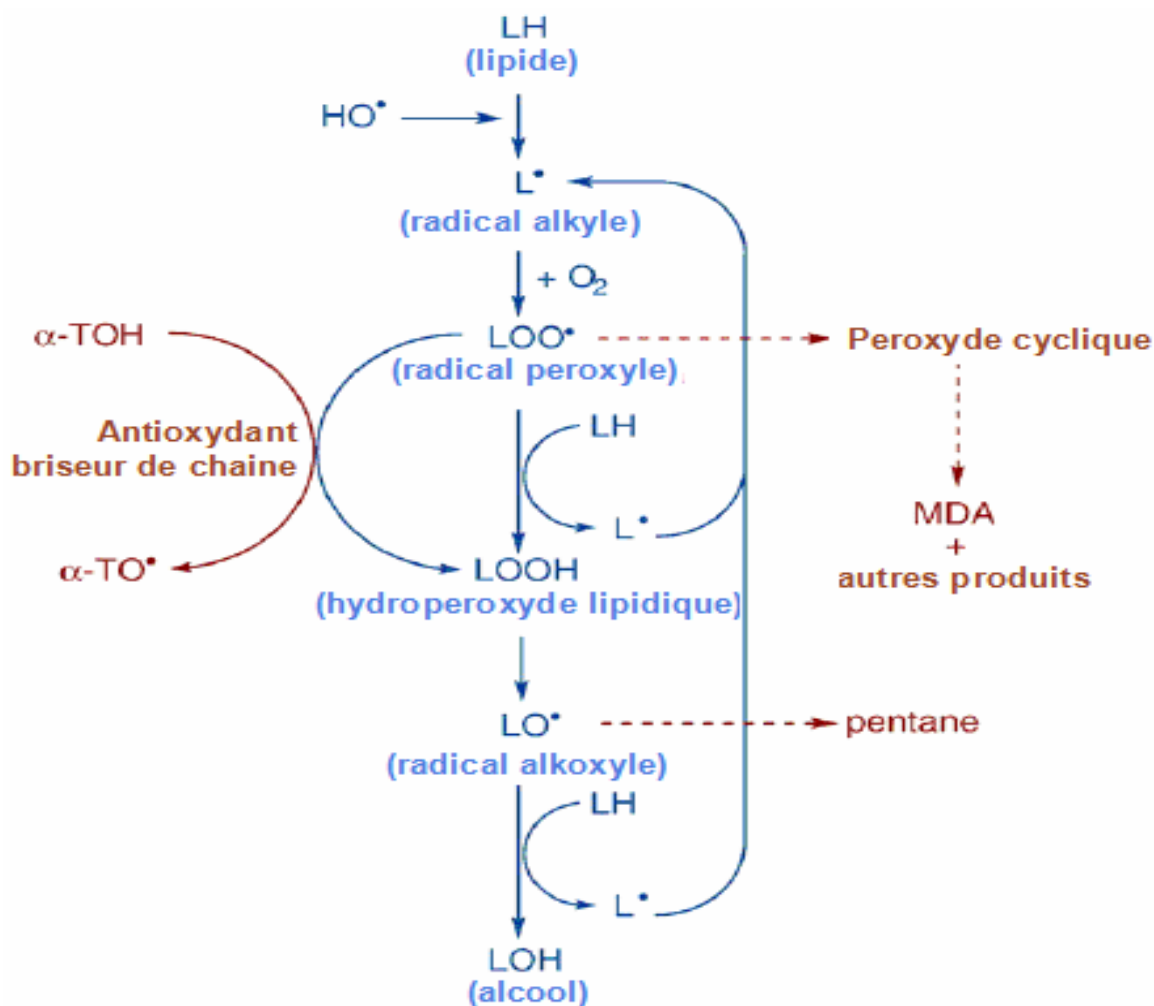


Figure 20. Les trois étapes de la peroxydation lipidique (Sachdev et Davies, 2008).

L'activité antioxydante de l'extrait Aq est évaluée en mesurant l'inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique par l'utilisation de la méthode au thiocyanate ferrique, selon la méthode décrite par Alain et al(2011).

Le mélange réactionnel contenant respectivement 0.4ml d'extrait (100 $\mu\text{g/ml}$) ou de contrôles positifs (quercetine) .0.4 ml d'acide linoléique (2.52% dans l'éthanol absolu) et 0.8 ml de tampon phosphate (PH=7.4) et incubé dans un bain marie pendant une heure à 40°C.

Un aliquote (0.1 ml) de cette solution est alors ajouté au mélange constitué de 5ml d'éthanol 70% et 0.1 ml de thiocyanate d'ammonium 30%. Après trois minutes ; 0.1 ml de FeCl₂ préparé dans 3.5% de HCl (20mM) est ajouté au milieu réactionnel.

Un essai blanc est réalisé en remplaçant l'extrait par l'eau distillée. L'absorbance de la coloration résultant de la solution est lue pendant deux jours à 500 nm au spectrophotomètre toute les 24 heures jusqu'à ce que l'absorbance du control négatif (eau distillée) atteint son maximum .

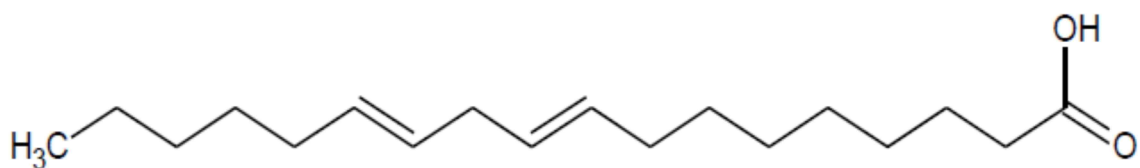


Figure21. Structure de l'acide linoléique (Lusakibanza manzo, 2012).

I.2.2.3.1.2. Effet scavenger du radical DPPH

Pour étudier l'activité antiradicalaire de l'extrait, nous avons opté pour la méthode qui utilise le DPPH (diphényl picryl-hydrayl) comme un radical libre relativement stable, selon le protocole décrit par Kirby et *al* (2005). Dans ce test les antioxydants réduisent le diphényl picryl-hydrayl ayant une couleur violette en un composé jaune, le diphényl picryl-hydrazine, dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Sanchez-Moreno, 2002).

Brièvement, La solution de DPPH est préparée par solubilisation de 2,4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol. 50µl d'extrait ou de standard est ajouté à 1,95ml DPPH, le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min et la décoloration par rapport au contrôle négatif contenant uniquement la solution de DPPH est mesurée à 517 nm. L'activité antiradicalaire est estimée selon l'équation ci-dessous :

$$\% \text{ activité antiradicalaire} = \frac{[(\text{Abs}_{517} \text{ contrôle} - \text{Abs}_{517} \text{ échantillon}) / \text{Abs}_{517} \text{ contrôle}] \times 100}{}$$

Les concentrations d'extrait dans le milieu réactionnel sont comprises entre 0,0006-50 mg/ml et entre 6-100 µg/ml.

I.2.2.3.1.3. Test de décoloration de β -carotène :

Cette technique de spectrophotométrie dans le visible a initialement été développée par Marco, puis légèrement modifiée par Miller. Elle consiste à mesurer à 470nm la décoloration du β -carotène résultant de son oxydation par les produits de décomposition de l'acide linoléique. L'addition d'antioxydant pure ou sous forme d'extrait végétal induit un retard de la cinétique de décoloration du B-carotène.

2mg de β - carotène ont été dissout dans 10ml de chloroforme. On prélève 1 ml de cette solution qui est ajouté à une fiole contenant préalablement 20mg d'acide linoléique et 100mg de tween 80. Après le mélange des deux phases, le chloroforme a été complètement évaporé à l'aide d'un rotavapeur sous vide. Par la suite 50ml d'eau distillée saturée en oxygène ont été ajouté au mélange précédent avec agitation rigoureuse. 5ml d'émulsion obtenue ont été additionné à une série des tubes contenant 2ml de l'extrait ou de l'acide gallique (antioxydant de control). Les tubes ont été placés à l'obscurité dans l'étuve à 50°C pendant 120min. Les valeurs d'absorbance on été lues a des intervalles de temps régulière de 30min.

L'activité antioxydante de l'extrait est calculée selon l'équation suivant :

Avec :

$$inhibition(\%) = \frac{A_{antioxydant}(120) - A_{temoin}(120)}{A_{antioxydant}(0) - A_{temoin}(120)} * 100$$

A antioxydant (0) et A antioxydant (120), les absorbance en présence d'antioxydant à 0 et 120 min ;

A témoin(120), l'absorbance sans antioxydant à 120 min (Bourkhiss et *al.*, 2010).

I.2.2.3.2. Activités antibactériennes

✓ Souches microbiennes testées

Les souches microbiennes utilisées sont : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsilla pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Streptococcus d.*

- *Staphylococcus aureus* (Gram+) : Elle est responsable d'intoxications alimentaires, d'infections localisées suppurées, et dans certains cas extrêmes de septicémies chez des sujets ayant subi une greffe ou avec une prothèse cardiaque (Delphine, 2008).
- *Escherichia coli* (Gram-) : une bactérie caractérisée par une sporulation non facultative anaérobie, elle se trouve dans l'intestin et les selles des animaux et des reptiles à sangs chauds et le microbiote intestinal (Tenaillon, 2010).
- *Pseudomonas aeruginosa* (Gram-) : est l'agent le plus pathogène courant provoquant une infection chronique (Pressler, 2011).
- *Klebsilla pneumoniae* (Gram-) : est un type de bactérie qui est souvent répandu dans les unités de soins intensifs ou les maisons de soins infirmiers. Elle est étroitement liée à *Klebsiella oxytoca*. Les deux sont des bactéries en forme de bâtonnets, Gram-négatives qui causent les mêmes types de maladies. Ils se trouvent généralement dans le tractus intestinal, où ils font partie de l'écosystème d'un côlon sain. Ces bactéries peuvent se propager à d'autres parties du corps, cependant provoquer des maladies mortelles (Anadriamobololona, 2010).
- *Acinetobacter baumannii* (Gram-) : est trouvé ubiquitaire dans l'environnement, elle est une tige Gram négatif aérobie qu'est non fermenteur de glucose. l'Ab est une cause importante d'infection nosocomiale (Lemuel L Dent et al. 2010)
- *Streptococcus* groupe(d) (Gram+) : Les streptocoques sont gramme de cocci positif sphérique ou ovoïde, survenant souvent deux à deux et chaînes. ils sont anaérobie facultatif (Delphine, 2008) .

✓ Test antibactérien

L'activité antibactérienne de l'extrait aqueux a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé cité par (Sacchetti et al, 2005) et (Celiktas et al, 2007).

Des colonies bien isolées ont été transférées dans des tubes contenant l'eau distillée stérile afin d'avoir des suspensions microbiennes ayant une turbidité voisine à 0.5 McFarland

(Abs=0.8 à 1). Par la suite la surface entière de la gélose (Gélose Mueller Hinton) a été inondée par cette suspension microbienne.

Les disques stériles imprégnés par des concentrations croissantes d'extrait (0.25mg/ml-0.5mg/ml-1mg/ml) à raison de 10 µl par disque (6mm), Ces disques ont été déposés stérilement sur la surface de la gélose. Les boîtes ont été incubées 24 h à 37 °C en étuve.

L'activité antibactérienne a été déterminée à l'aide d'une règle mesurant le diamètre de la zone d'inhibition (mm)

I.2.2.4. analyses statistique

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne \pm SD. Les sigmoïdes de l'activité antiradicalaire sont effectués par le logiciel (Graph Pad Prism V 5,00).

La différence entre l' extrait et le contrôle et la détermination des taux de signification sont effectués par test ANOVA suivi du test Tukey.

CHAPITRE II

Résultats et discussions

II.1. Préparation d'extrait aqueux à partir des feuilles du *Zizyphus lotus*

La préparation de l'extrait aqueux à partir des feuilles du *Zizyphus lotus* a été effectuée selon la méthode Boughandoura et al. (2012) modifiée. Cette méthode est basée sur l'utilisation de solvant polaire (eau).

La couleur et l'aspect de l'extrait obtenu sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 05. Aspect et couleur de l'extrait Aq des feuilles du *Zizyphus lotus*

Extrait	Aspect	Couleur
Aq	poudre	Marron foncé

II.2. Analyse d'extrait des feuilles du *Zizyphus lotus*

II.2.1. Analyse qualitative de l'extrait Aqueux des feuilles du *Zizyphus lotus*

II.2.1.1. Tests préliminaires

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

Tableau 06. Résultats des tests préliminaires de quelque métabolite secondaire de l'extrait Aqueux du *Zizyphus lotus*.

Métabolites testés	Remarques	Résultats
Flavonoïdes	Couleur orange claire	++
Tanins	Couleur bleu verdâtre	+++
Tanins condensés	Formation de précipité	+++
Tanins hydrolysables	Couleur Bleu-noir	+
Composés phénoliques	Couleur Bleu verdâtre	+++
Saponines	L'hauteur de la mousse =0.5cm	±
Alcaloïdes	Couleur jaune	±

+ Présence, +++ présence plus importantes, ± présence faible

Les essais phytochimiques effectués sur l'extrait Aqueux des feuilles de *Zizyphus lotus* ont révélé la présence des flavonoïdes, dont la couleur oronge claire désigne la présence des flavonoïdes de type flavones.

L'appariation de la couleur bleu verdâtre (test de FeCl_3) reflète la présence des tanins catéchiques (condensés). Pour la séparation entre les deux types des tanins (tanins condensés et tanins hydrolysables), le test Stiasny a été réalisé où les résultats confirment la présence des tanins condensés et montrent la présence des tanins hydrolysables.

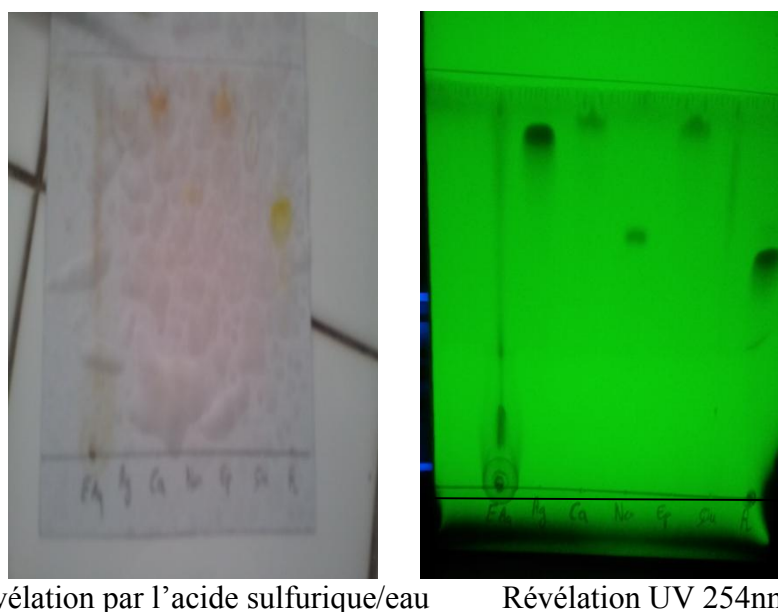
Concernant les alcaloïdes, l'absence de précipité indique la faible teneur en alcaloïdes dans notre extrait, ce qui est en accord avec les résultats de Borgi et al (2007).

La présence des mousses à hauteur inférieure à 1cm indique la faible teneur des saponines.

Tous ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Borgi et al. (2007(b)), où l'analyse phytochimique faite sur l'extrait Aqueux des feuilles a donné des résultats positifs pour les flavonoïdes, les tanins et les saponines (Borgi et al., 2007).

II.2.1.2. Chromatographie sur couche mince

Pour une caractérisation partielle de l'extrait Aqueux du *Zizyphus lotus*, une chromatographie sur couche mince (CCM) a été réalisée par l'utilisation de système de migration (BAW) butanol-acide acétique- eau (60/15/35).



Révélation par l'acide sulfurique/eau

Révélation UV 254nm

Figure 22 .Chromatographie sur couche mince d'extrait Aq des feuilles du *Zizyphus lotus* (de gauche à droite :Ext Aq ;Ag ;Ca ;Na ;Ep ;Q ;R).

Tableau07. Rapports frontaux et couleurs après révélation

Standard	RF	Couleur aprée revilation	
		Acide sulfurique /eau	Lamp UV 254nm
Quercétine	0.81	Jaune	Sombre
Acide gallique	0.85	Orange	Sombre
Rutine	0.62	Jaune	Sombre
Cathéchine	0.9	Orange	Sombre
Epicatechine	0.9	Orange	Sombre
Naringine	0.675	Jaune	Sombre
Extrait Aq	0.9	Orange	Sombre
	0.37	Mauve	Sombre
	0.18	Orange	Sombre

Après révélation par la lampe UV 254nm et l'acide sulfurique trois tâches sont détectées pour l'extrait Aq.

La mesure des rapports frontaux de chacune des taches révèle que l'une des taches correspond à l'epicatechine ou la catéchine (RF=0.9), ceci est confirmé par la couleur orange semblable.

II.2.2. Analyse quantitative de l'extrait Aqueux des feuilles du *Zizyphus lotus*

Afin de caractériser l'extrait Aqueux préparé à partir des feuilles du *Zizyphus lotus*, des dosages des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés ont été effectués. Le choix du dosage de ces substances réside dans le fait que la majorité des propriétés antioxydantes des plantes leur sont attribués.

La méthode du dosage des polyphénols totaux est celle de Folin –Ciocalteu (Wong *et al.*, 2006). L'acide gallique a été utilisé comme standard. Pour les flavonoïdes le dosage a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium (Bahorun *et al.*, 1996), en utilisant comme standard la quercétine, enfin celui des tanins condensés a été effectué selon la méthode de vanilline (Broadhurst et Jones, 1978), modifiée par Heimler *et al.* (2006), en

utilisant la catechine comme standard. Les résultats sont représentés dans le tableau 09 et le diagramme figure 24. Les gammes d'étalonnage dans les figures 24,25, 26.

Tableau 08. Teneur des composés phénoliques

Extrait	Polyphénols ^(a)	Tannins ^(b)	Flavonoïdes ^(c)
Aqueux	204.5±7.44	38.4±13.61	2.7±0.50

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

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

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

Les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures ± SD.

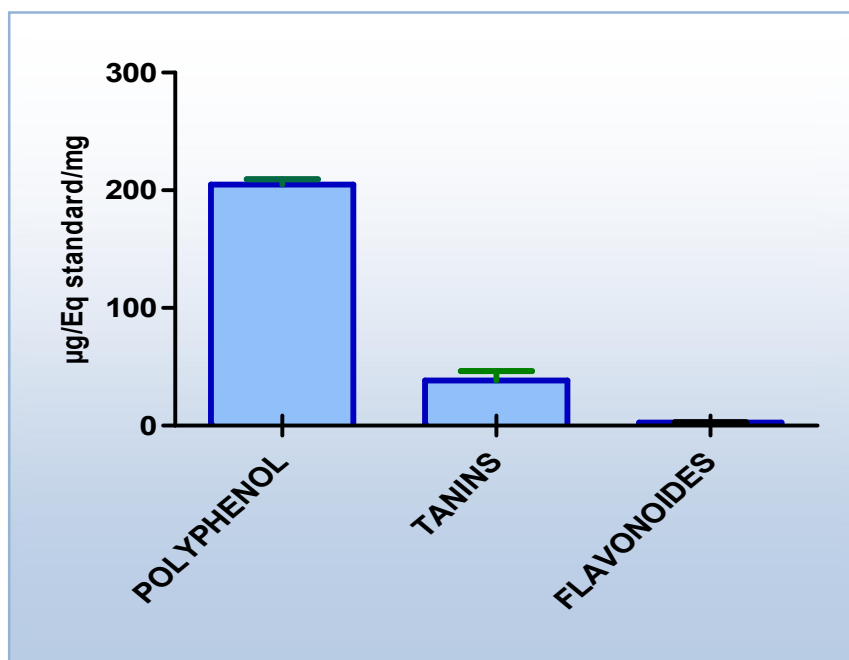


Figure23. Teneur des composés phénoliques, tanins, flavonoïdes en µg Eq standard /mg d'extrait.

Les résultats de dosage montrent la présence des polyphénols, des tanins condensés et des flavonoïdes dans l'extrait Aq dont la teneur en tanins condensés est supérieure à celle des flavonoïdes, ce qui est confirmé par la CCM où les résultats montrent la présence des deux unités fondamentales des tanins condensés la catéchine et l'épicatéchine.

Notre extrait est appaît plus riche en polyphénols par comparaison avec les résultats obtenus par Boulamour et *al*(2013) dans l'extrait hydro alcoolique des fruits et feuilles de *Zizyphus lotus* et aussi avec les résultats obtenus par Bakchiche et *al* (2013). Alors pour le taux des flavonoïdes notre extrait appaît plus faible.

Par comparaison avec l'étude faite par Amany et al (2013) sur le dosage des polyphénols des feuilles de *Zizyphus Spina christi* (722 ± 12) les feuilles du *Zizyphus lotus* apparaissent moins riches en polyphénols ($204\mu\text{g EAG/mg}$).

Cette différence des teneurs des polyphénols, flavonoïdes et tanins peut être attribuée, non seulement à l'espèce, mais aussi aux conditions de croissance, comme le sol, le degré de maturation et la déférence génétique.

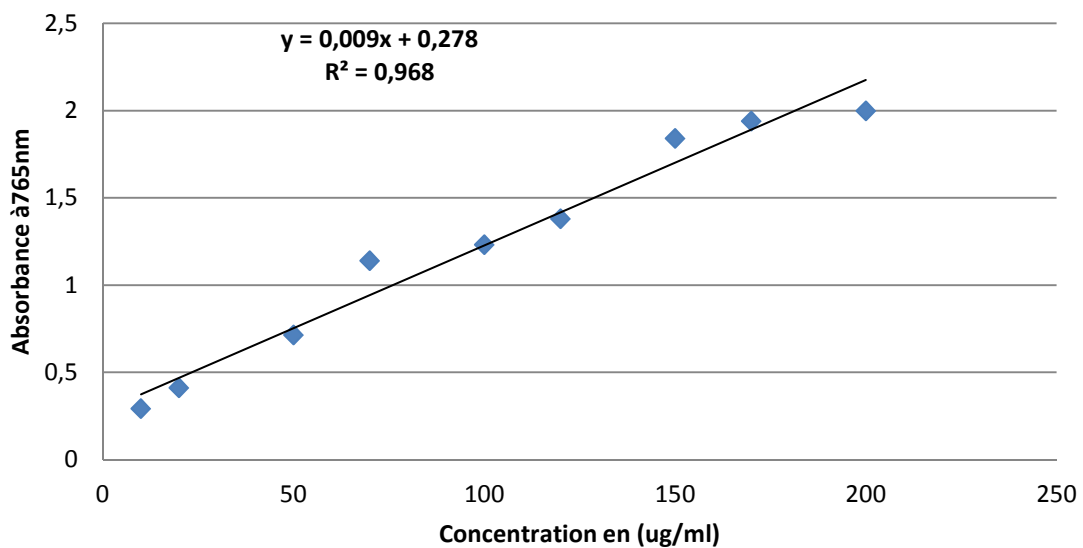


Figure24. Droite d'étalonnage de l'acide gallique (moyenne \pm SD de deux essais)

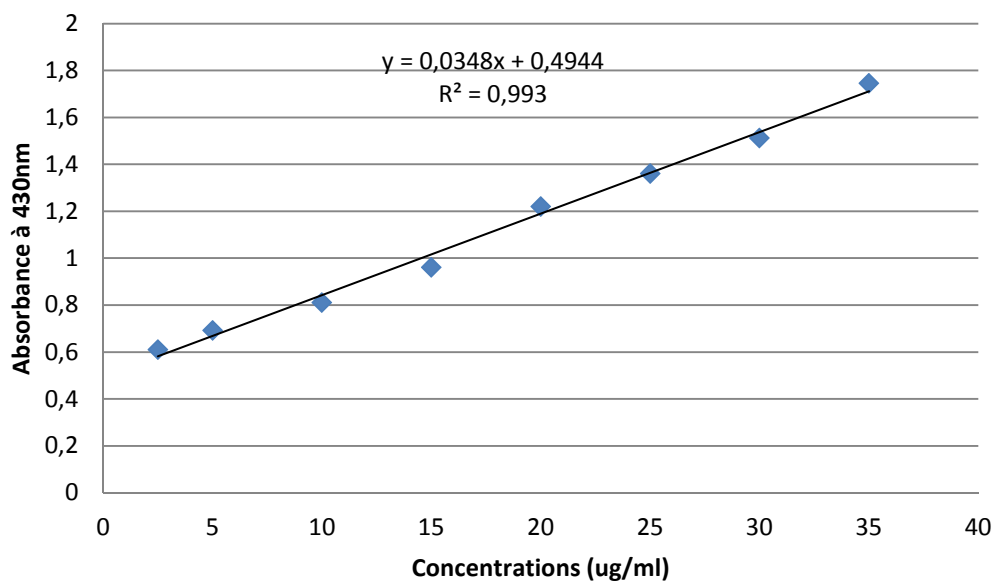


Figure25. Droite d'étalonnage de la quercétine (moyenne \pm SD de deux essais)

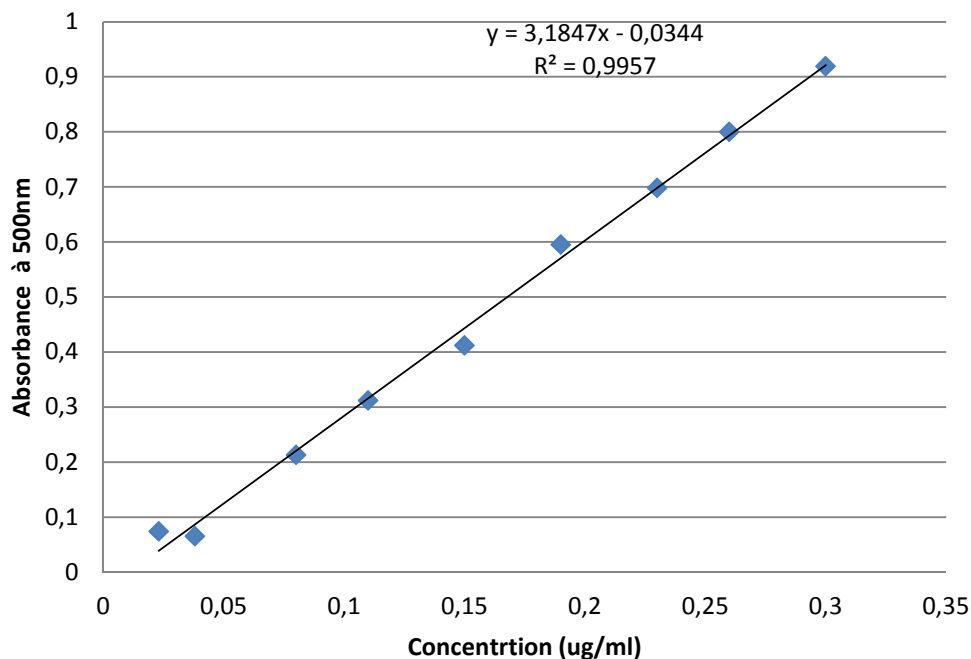


Figure26. Droite d'étalonnage de la catéchine (moyenne \pm SD de deux essais).

II.3. Activités biologiques

II.3.1. Activités antioxydantes

II.3.1.1. Méthode du thiocyanate de fer (FTC)

La méthode du thiocyanate de fer (FTC) est employée pour étudier les propriétés antioxydantes de l'extrait Aqueux des feuilles du *Zizyphus lotus*.

Il s'agit de vérifier si les molécules bioactives de l'extrait empêchent la peroxydation des lipides provoquée par une incubation de ces derniers à 40°C.

Du thiocyanate d'ammonium ainsi que du chlorure ferreux sont ajoutés aux mélanges lipides-Extrait.

Les peroxydes entrent en réaction avec les ions ferreux Fe^{+2} et les transforment en ions ferriques Fe^{+3} qui réagissent avec le thiocyanate d'ammonium pour former le thiocyanate de fer qui a une coloration rouge dosable à 500 nm.

La concentration de peroxydes dans le milieu réactionnel est proportionnelle à celle des ions Fe^{+3} et par conséquent la coloration sera encore plus rouge et l'absorbance encore plus élevée.

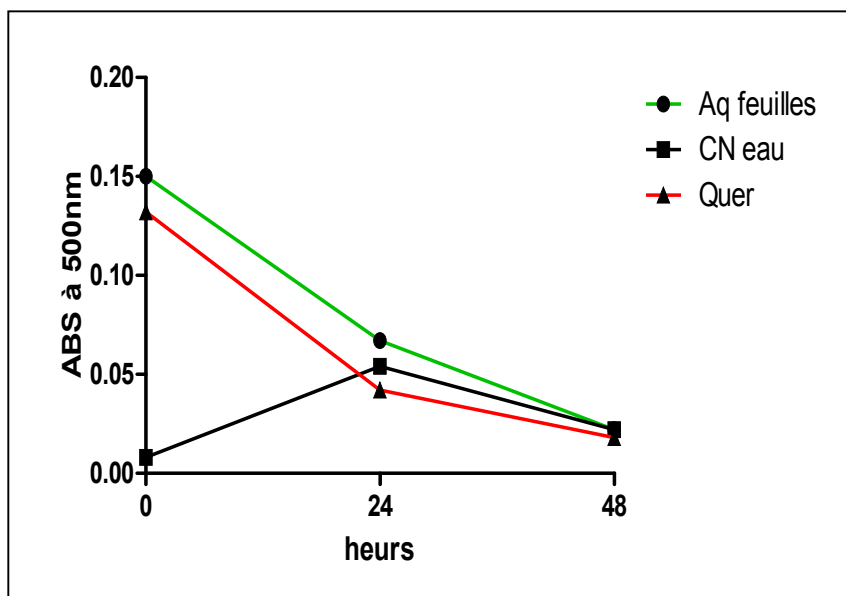


Figure 27. Graphe représentant les absorbances à 500 nm en fonction du temps d'incubation des différents échantillons utilisés à 0.1mg/ml en présence d'une émulsion d'acide linoléique. Les valeurs données constituent la moyenne de trois répétitions.

D'après le graphe il est évident que pour le contrôle négatif, il y a une augmentation des absorbances jusqu'à la 24^{ème} heures puis une légère stabilité au cours du 2^{ème} jour, ce qui signifie que la peroxydation lipidique atteint sa valeur maximale sans antioxydant c'est-à-dire 100% de la peroxydation lipidique.

Généralement pour l'extrait et la quercétine il est évident d'après les profils (figure 27) qu'il y a une diminution des absorbances de la première heure jusqu'aux 48^{ème} heures par comparaison avec le contrôle négatif ; ce qui reflète une augmentation dans l'inhibition de la peroxydation lipidique au cours du temps ; ceci peut être attribué à l'effet antioxydant de la quercétine, et à la présence des molécules bioactives dotées d'effet antioxydant dans notre extrait.

Des études antérieures sont faites sur d'autres espèces de *Zizyphus* ont montré l'efficacité antioxydante de ces dernières, parmi elles la méthode du thiocyanate de fer réalisée par Li et al. (2005) sur l'extrait méthanolique des 5 variétés de *Zizyphus jujuba*.

D'après les résultats obtenus l'activité antiperoxydation la plus puissante est apparue avec la quercétine, il y a donc moins de formation de thiocyanate de fer et la coloration rouge sera

moins intense (D.O =0.022) contrairement au blanc où il y a le maximum de peroxydation de l'acide linoléique.

II.3.1.2. Effet scavenger du radical DPPH :

L'activité antioxydante de l'extrait aqueux des feuilles du *Zizyphus lotus* vis-à-vis le radical DPPH a été évaluée spectrophotométriquement en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune à 517nm (Figure28).

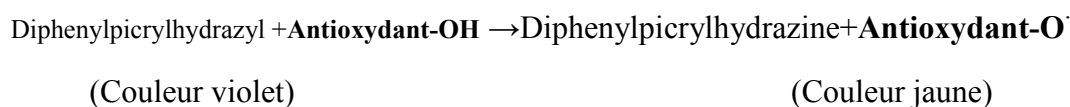
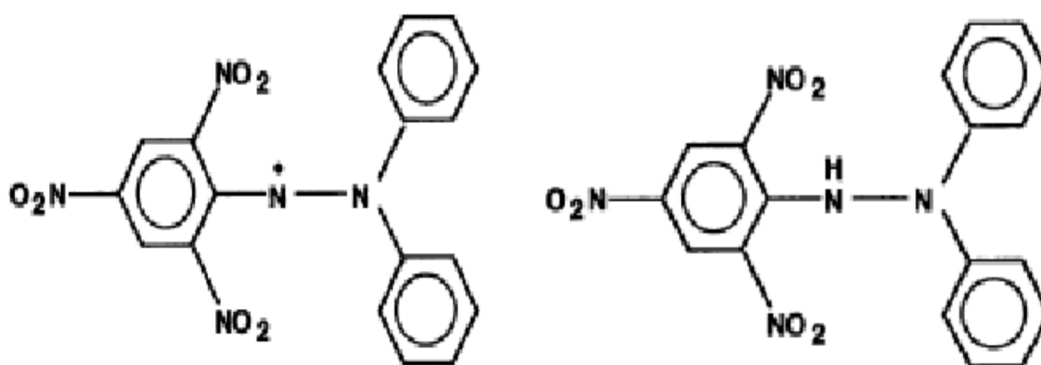


Figure28. Réaction d'un antioxydant avec le DPPH (Molineux ,2004).

Le DPPH (diphenylpicrylhydrazyl) est un radical libre organique, toujours utilisé comme un réactif pour évaluer l'activité antiradicalaire des antioxydants (Oyaizu, 1996).

Le DPPH est caractérisé par son adaptation à plusieurs échantillons dans une courte durée, aussi il est assez sensible pour détecter les ingrédients actifs à des basses concentrations, à cet effet, il a été employé pour le criblage des activités antiradicalaires des extraits végétaux (Yi et al., 2008).

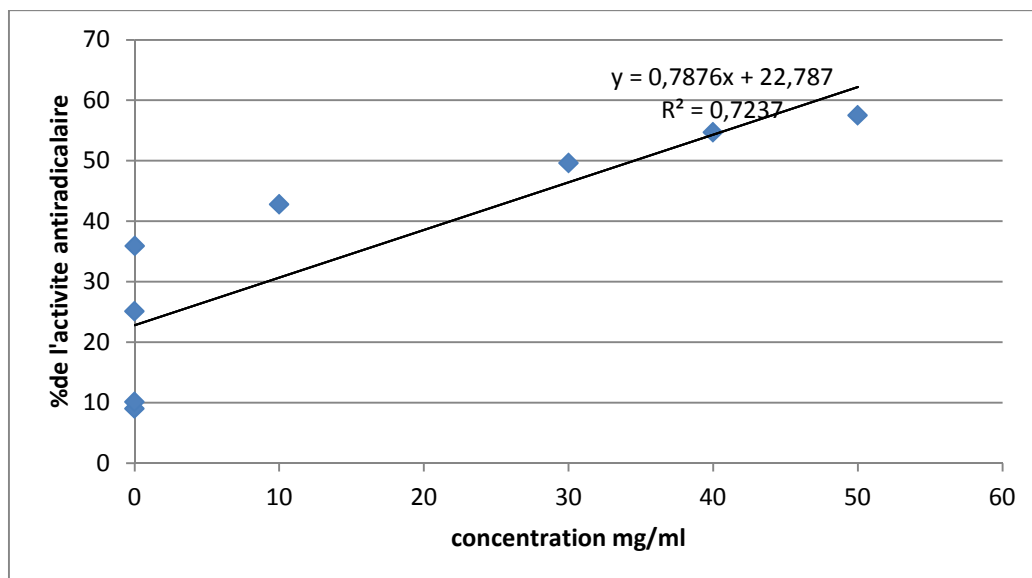


Figure 29 . Corrélation linéaire entre la concentration de l'extrait et le pourcentage de l'activité antiradicalaire.

Le profil de l'activité antiradicalaire (figure 29,30,31) révèle que l'extrait Aqueux du *Zizyphus lotus* et la quercétine possède une activité antiradicalaire concentration dependante ($R^2=0.7237$), l' IC_{50} est déterminé pour l'extrait Aqueux (32.093mg/ml).

Pour mieux caractériser le pouvoir antiradicalaire, deux autres paramètres sont introduits :
-Calcul de l' EC_{50} qui prend en considération la concentration de DPPH dans le milieu réactionnel [concentration effective à 50%, $EC_{50} = (IC_{50}/\mu\text{g de DPPH/ml})$].
-Calcul du pouvoir antiradicalaire (APR) qui est inversement proportionnel à l' EC_{50} (Prakash et al ., 2007).

Tableau09. Activité antiradicalaire d'extrait Aqueux des feuilles du *Zizyphus lotus*

	IC_{50} ($\mu\text{g /ml}$)	EC_{50} ($\mu\text{g /}\mu\text{g DPPH}$)	APR
Ext Aq	32093.33 \pm 724.60	1395.36 \pm 344.54	0.00072 \pm 0.0015
Quercétine	3.28 \pm 0.354	0.14 \pm 0.01	7.16 \pm 0.51

La quercétine apparait plus active avec une IC_{50} d'environ 3.28 ± 0.354 $\mu\text{g/ml}$ ($APR=7.16 \pm 0.51$) par contre, l'extrait Aq montre une activité antiradicalaire trop faible ($32093.33 \pm 724.60 \mu\text{g/ml}$, $APR=0.00072 \pm 0.0015$); ceci peut être expliqué par la faible teneur en flavonoïdes; ceci est en accord avec les résultats obtenus avec Bakchiche et al (2013) qui montre qu'il y a une corrélation entre la teneur en flavonoïdes et l'activité antiradicalaire de l'extrait hydroalcoolique des feuilles du *Zizyphus lotus*.

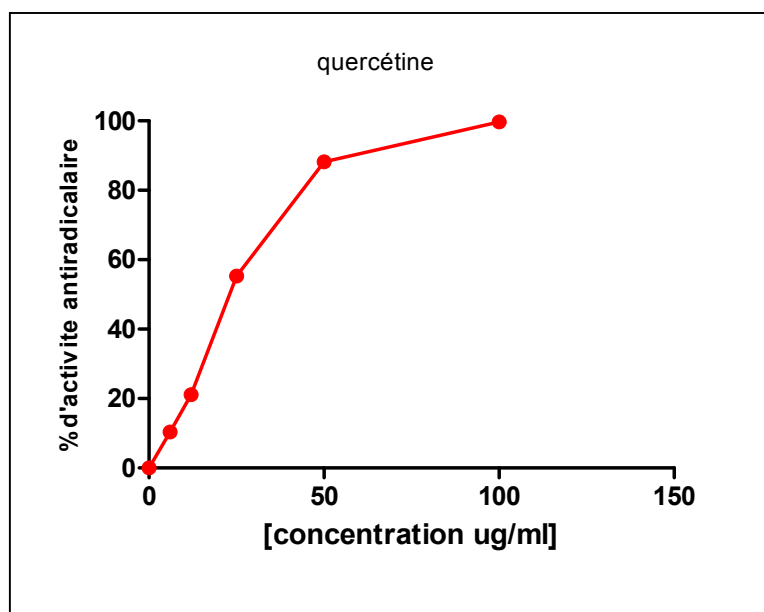


Figure 30. Activité antiradicalaire de la quercétine (Chaque valeur représente la moyenne de trois essais)

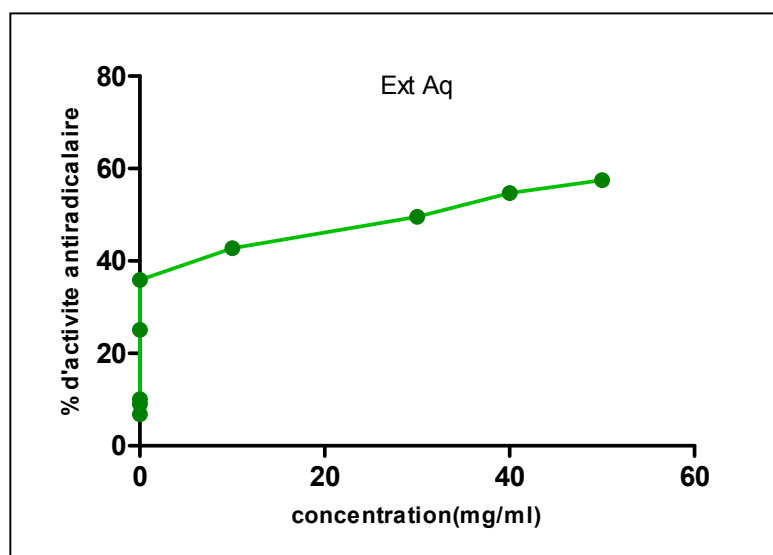


Figure 31. Activité antiradicalaire de l'extrait Aq des feuilles du *Zizyphus lotus* (Chaque valeur représente la moyenne de trois répétitions).

II.3.1.3. Test du blanchissement du β -carotène

Dans ce test, l'oxydation de l'acide linoléique génère des radicaux peroxydes, et des hydroperoxydes diène conjugués (Kaur et Kapoor, 2002). Ces radicaux libres vont par la suite oxyder le β -carotène hautement insaturé (**Figure 32**) qui perd ses doubles liaisons entraînant ainsi la disparition de sa couleur rouge, qui est suivi spectrophotométriquement à 490 nm. Cependant la présence d'un antioxydant pourrait neutraliser les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique, et donc prévenir l'oxydation et le blanchissement du β -carotène (Yanishlieva et Marinova, 1995 ; Yang *et al*, 2008).

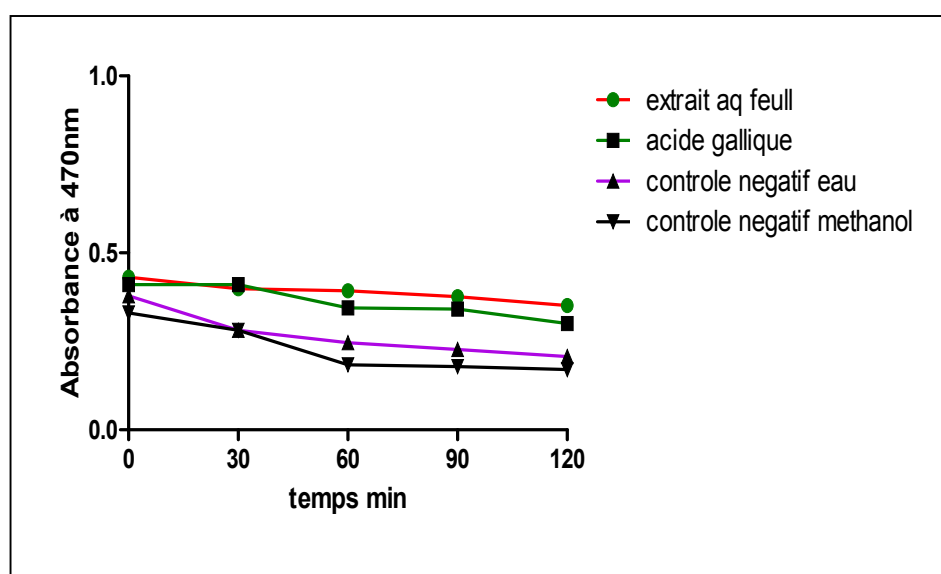


Figure32. Cinétique de blanchissement du β -carotène à 470 nm en absence et en présence de extrait Aq du *Zizyphus lotus*, d'acide gallique, (chaque valeur représente la moyenne de trois essais)

La cinétique de blanchissement de β -carotène en présence et en absence de l'extrait Aq de *Zizyphus lotus* et l'acide gallique et les pourcentages d'inhibition est représentée dans la (figure32,33).

Le graphe de la cinétique de blanchissement de β -carotène montre une diminution des absorbances au cour du temps ; ce qui reflète l'oxydation contenu de β -carotène sous l'effet des peroxydes génères par l'oxydation de l'acide linoléique, mais le degré de cette oxydation est déférent par comparaison entre le contrôle négatif (100%de peroxydations lipidique) et l'extrait aqueux et l'acide gallique qui inhibent la décoloration de β carotène

D'après les résultats, il est évident que l'extrait Aq de *Zizyphus lotus* et l'acide gallique inhibent d'une manière très hautement significative ($p \leq 0.001$) l'oxydation couplée de l'acide linoléique et β -carotène par rapport au control négatif où il y a 0% d'inhibition.

L'activité d'inhibition de l'extrait Aq ($63.56 \pm 0.51\%$) est statistiquement similaire à celle de l'acide gallique ($54.24 \pm 3.91\%$) .

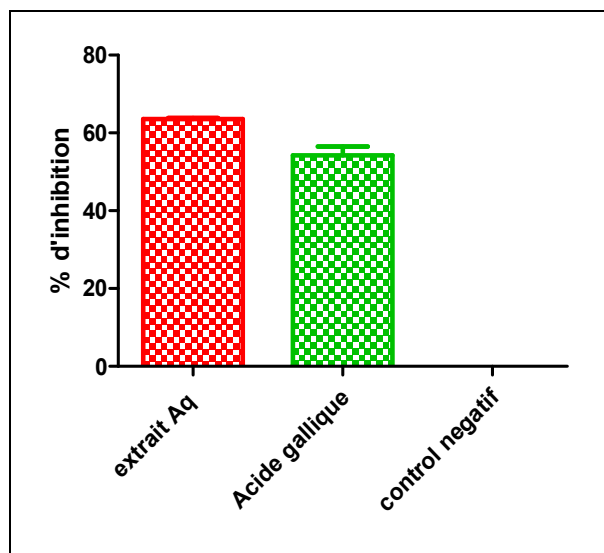


Figure33. Taux d'inhibition de peroxydations lipidiques par la méthode de blanchissement de *B*-carotène.

II.3.2. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne d'extrait aqueux des feuilles du *Zizyphus lotus* a été évaluée par la méthode de diffusion en milieu gélosé, en mesurant les diamètres des zones d'inhibition de la croissance des différentes souches utilisées Gram positive : *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus (d)*. et Gram négative : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsilla pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* (**Figures34, 35, 36, 37, 38,39**), **Tableau 11**.

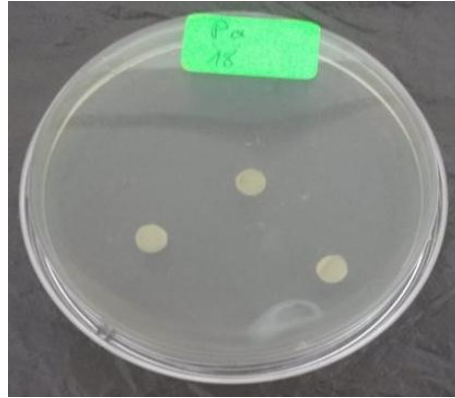


Figure 34. Zones d'inhibitions obtenues de l'extrait Aq sur *Pa*

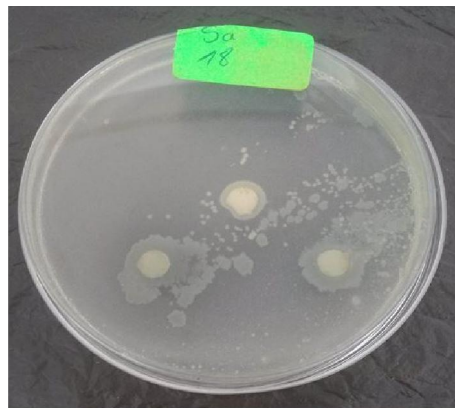


Figure35. Zones d'inhibitions obtenues de l'extrait aq sur *Sa*

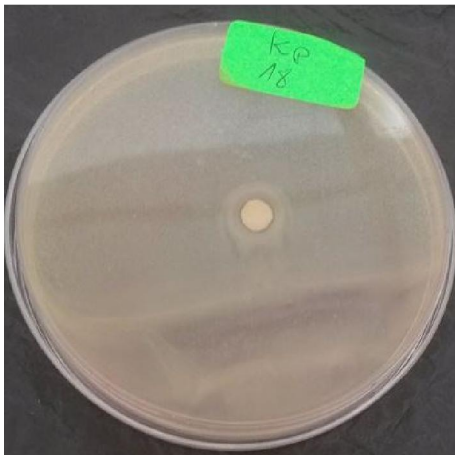


Figure 36. Zones d'inhibitions obtenues de l'extrait Aq sur *Kp*



Figure 37. Zones d'inhibitions obtenues de l'extrait Aq sur *Ec*

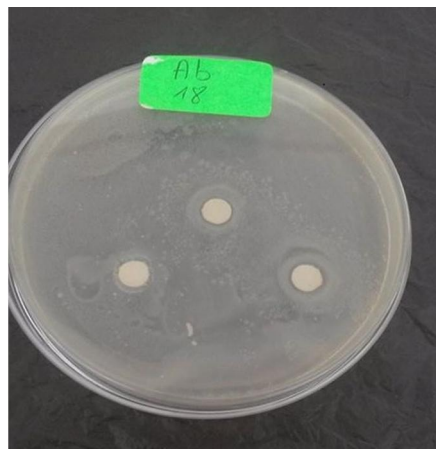


Figure 38. Zones d'inhibitions obtenues de l'extrait Aq sur *Ab*.

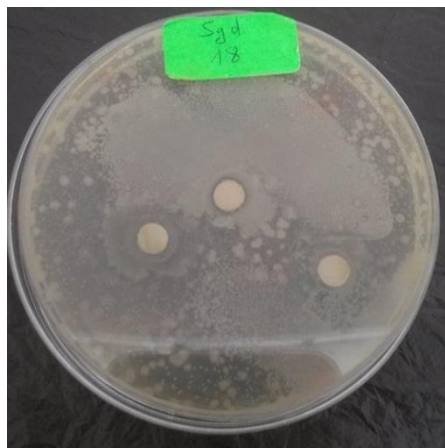


Figure 39. Zones d'inhibitions obtenues de l'extrait Aq sur S (d).

Tableau10. Activité antibactérienne de l'E Aq (diamètres des zones d'inhibition de croissance des cultures microbiennes en mm)

Les souches testées	Dilutions de L'extrait Aq		
	1mg/ml	0.5mg/ml	0.12mg/ml
<i>Escherichia coli</i>	7±0	7±0	7±0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7,33±0,57	7,66±0,57	7,33±0,57
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	13,66±1,52	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	7,5±0,70	7±0	7±0
<i>Acinetobacter Baumannii</i>	10.66±0,57	9,66±2,66	7±0
<i>Streptococcus Groupe (d)</i>	8±1,73	8±1	7±0

Les valeurs sont une moyenne de 3 essais±SD (les zones sont mesurées en mm)

L'extrait aqueux des feuilles du *Zizyphus lotus* est révélé actif avec un degré différent, lié au contenu d'extrait aux substances à activité antimicrobienne. Ghedira (1995) a montré qu'un alcaloïde de cette espèce présente une activité antibactérienne significative, Ceci est confirmé par le résultat positif de test de Mayer qu'on a réalisé. Sans négliger l'effet synergique des autres molécules à effet antimicrobien.

D'après les résultats obtenus, il apparaît que toutes les souches bactériennes testées sont inhibées par notre extrait (0.12mg/ml,0.5mg/ml,1mg/ml),ce qui confirme le spectre large de l'activité antimicrobienne de cet extrait.

Pour les souches *Staphylococcus aureus* (Gram⁺), *Pseudomonas aeruginosa* (Gram⁻),

Escherichia coli (Gram⁻) et *Streptococcus Groupe (d)* (Gram⁺), les zones d'inhibition obtenues sont presque similaires avec toutes les dilutions, donc il n'y a pas une activité concentration dépendante.

L'effet inhibiteur le plus puissant de l'extrait a été obtenu avec la souche *Klebsiella pneumoniae* (Gram+) où une grande zone d'inhibition (13.33 mm) a été obtenue avec la concentration (1mg/ml).

Pour la souche *Acinetobacter baumannii* (Gram-), il y a une corrélation mais non significative ($R^2=0.89$) entre les différentes dilutions et les zones d'inhibition (**Figure40**)

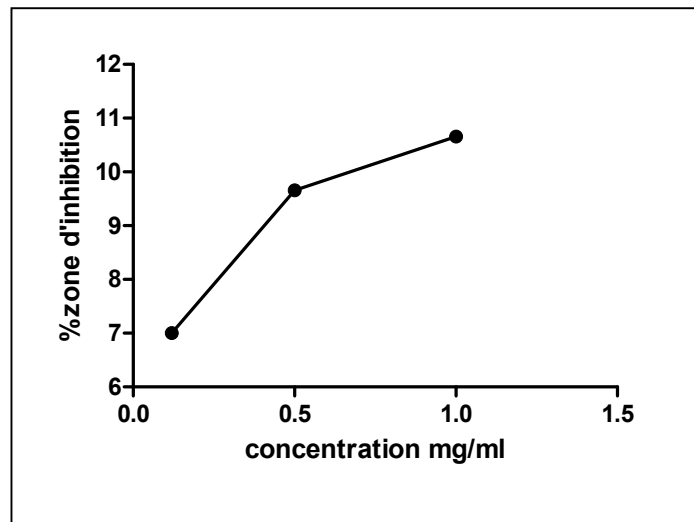


Figure40. Corrélation linéaire entre la concentration de l'extrait et les zones d'inhibition d'*Acinetobacte baummani*

Conclusion

Générale

Conclusion

Un grand nombre des plantes médicinales représente une source inépuisable des substances bioactives qui possèdent des propriétés biologiques très importantes, on trouve de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et l'agriculture.

L'étude des propriétés antioxydantes et antibactériennes de l'extrait aqueux des feuilles du *Zizyphus lotus* nous a permis d'obtenir des résultats intéressants.

Le criblage phytochimique des feuilles des *Zizyphus lotus* a mis en évidence la richesse de celle-ci en polyphénols et en tanins. Elle contient, également, d'autres familles des composés moins intenses comme les flavonoïdes, les alcaloïdes et les saponines. Alors que l'analyse effectuée par chromatographie sur couche mince a montré la présence des tanins condensés, la catéchine et l'épicatéchine dans l'extrait aqueux.

L'analyse quantitative de l'extrait Aq du *Zizyphus lotus* est représentée par le dosage spectral des trois substances bioactives : les polyphénols, les tanins et les flavonoïdes. Trois techniques utilisées pour étudier l'activité antioxydante de l'extrait aqueux sont : la méthode du thiocyanate de fer, le test du DPPH et le test de blanchissement de β -carotène.

La méthode du thiocyanate de fer qui a prouvé que l'inhibition de la peroxydation des lipides par notre extrait est augmentée au cours du temps que celle de la quercétine ; contrairement pour le test du DPPH a révélé que l'extrait Aq possède une activité antiradicalaire concentration dépendante faible avec une $IC_{50}=32093.33\pm 724.60$.

La méthode du blanchissement du β -carotène a révélé que l'extrait aqueux montre une plus grande activité d'inhibition qui est statistiquement similaire à celle de l'acide gallique. Le test de l'activité antibactérienne d'extrait aqueux a montré que l'extrait testé est actif avec un degré différent. D'ailleurs toutes les souches bactériennes testées sont inhibées par les différentes dilutions de l'extrait Aq ou la zone la plus grande obtenue avec *Klasiella pneumoniae* ($13,66\pm 1,52$ mm).

En fin, l'ensemble de ces résultats obtenus in-vitro ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances et source naturelle biologiquement active.

Des essais complémentaires seront nécessaires et devront pouvoir confirmer les performances mises en évidence.

Références

Références bibliographique

-A-

- Abdel-Zaher A ., Salim Y-S .,Assaf M-H and Abdel-hady R-H. (2005).** Antidiabetic activity of *Zizyphus Spina –christi* leaves. *Journal of Ethnopharmacology*, 101:129-138
- Abderrazak M et Joël R. (2007).** La botanique de A à Z. Ed. Dunod. Paris. 177p.
- 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 cell signaling and proliferation,15(2) :364–371.
- Abu-Zarga M ., Sabri S ., Al-Boudi A ., Ajaz S ., Sultana N and Rahman A-U. (1995).**New cyclopeptide alkaloids from *Zizyphus lotus*. *Journal of Natural Products*, 58:504-511.
- Aganga A and Mosase K. (2001).** Tannins content, nutritive value and dry matter digestibility of *Lonchocarous capussa*, *Zizyphus mucropata*, *Sclerocarya birrea*, *Kirkia acuminata* and *Rhus lancea* seeds. *Animal Feed Science and Technology*, 91:107-113.
- Alain dit Ph B ., Banga B .,N’guessan² .,Adou F., Yapo., Jean D., N’guessan¹ & Allico Joseph Dj (2011).** Activités antioxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne, *sciences & nature*,. 8 (1): 1 – 11.
- Amadou. (2005).** Étude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense* WILLD. (*MYRTACEAE*) et d’Odonto-Stomatologie .Thèse de doctorat en pharmacie. Mali.7762p
- Amany M.,Basuny.,Shaker M.,Arafat and Hoda A.,Farag.(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.
- Anadriamobololona T. (2010).** Etudes biologiques et chimiques des métabolites secondaires des actinomycetes telluriques cas du foret d’Ankafobe. Mémoire d’études approfondies de biochimie.55p.

Antwerpen P-V. (2006). Contribution à l'étude du pouvoir antioxydant de divers agents d'intérêt thérapeutique : Ciblage du système myeloperoxydase /peroxyde d'hydrogène /chlorure Thèse de Doctorat .Université libre de Bruxelles. 122p

-B-

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

Badr.(2010) . propriétés anti oxydantes et anti-inflammatoires des huiles essentielles des déférentes parties des tetraclinis articulata(vahl)master du Maroc . *Bulletin de la société royale des sciences de liège*,79 :141-154.

Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunete C., Dine T., Vasseur J., Gazin J., Pinkas M and Luycky M. (1996).Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts of phenolic extravts from haworthon fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-Forschung*, 46:1086-1089.

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

Bakchiche B., Gherib A., Smail A., Cutodia G and Graca M. (2013). Antioxidant activities of eight Algerian plant extracts and two essential oils. *Industrial Crops and Products*, 46:85– 96.

Bekir S et Adnan N Y. (2010) Phenolic, alpha-tocopherol, beta-carotene and fatty acid composition of four promising jujube (*Ziziphus jujuba* Miller) selections ?23(7) : 706–710

Benammar C., Hichami A., Yessoufou A., Simonin A-M, Belarbi M., Allali H. et Khan N.A. (2010). *Zizyphus lotus* L. (Desf.) modulates antioxidant activity and human T-cell proliferation. *BMC Complementary and Alternative Médecine*. 10:54.

Benammar CH. (2011). Effet antioxydants et immunomodulateurs d'une plante médicinale Nord Afiriciane, *Zizyphus lotus* L. (Sedra) : Etude des différents extraits. Thèses de doctorat. Université de Abou Bekr Belkaid-Tlemcen.1-14p.

Besle J-M., Lamaison J-L., Pradel P., Fraisse D., Viala D and Martin B. (2004).

Renc. Rech .Ruminants, 11:67-70.

Blandine G. (2006). Etude phytochimique des plantes médicinales algériennes : Rhantherim adpressum et Ononis anfastissimma. Thèse de doctorat. Université de Constantine

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

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

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

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

Borgi W., Recio M-C., Rios J-L and Chouchane N. (2008). Antiinflammatory and analgesic activities of flavonoïd and saponin fractions from *Zizyphus lotus* (L.) Lam. *South African Journal of Botany*, 74: 320-324.

Borgi W., Ghedira K and Chouchane N. (2007(b)) Antiulcerogenic activity of *Zizyphus lotus* (L.) extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 112: 228–231.

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

Bourkhiss M., Hnach M., Paolini j., Ccsta J., Farah ab., Satrani B. B ; Ford C ; Koepke M., Gary K., Horn E., McAnalley S., and McAnalley B. (2003). Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose sur des personnes en bonne santé. *Glycoscience et Nutrition*. 4 (6):7.

Bourkhiss M., Hnach M., Paolini j., Ccsta Jean, Farah ab., Satrani (2010)., **Badr.** propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires des huiles essentielles des différentes parties de *Tetraclinis articulata* (vahl) masters du maroc. *bulletin de la société royale des sciences de liège*, 79. 141-154.

Brand-Williams W., Cuvelier M- E and Berset C. (1995) Use of free radical méthode to evaluate antioxydant activity *Lebensm. Wiss. Technol.* 28 : 25-30.

Bronner W-E and Beecher G- R. (1995) Extraction and measurement of prominent flavonoids in orange and grape fruit juice concentrates. *Journal of chromatography A*, 705 : 247-256.

Bross J. (2000). Larousse des arbres et des arbustes. Larousse (Ed) Canada .576p.

Bruneton J. (1993) Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. 2ème Ed *Tec&Doc. Paris.*

Bruneton J (1999). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, Lavoisier Technique & Documentation, 3eme édition, Paris, France, 1120p.

Bruneton J. (2009) Pharmacognosie - Phytochimie, plantes médicinales. 4e éd., revue et augmentée, Paris, France : Tec & Doc - Éditions médicales internationales, 1288 p.

Brunet S. (2008) Analyse des mécanismes d'action antiparasitaire de plantes riches en substances polyphénoliques sur les nématodes du tube digestifs des ruminants. Thèse (Dr. Pathologie et Nutrition), Toulouse : Université Paul Sabatier, 246 p.

-C-

Carrillon E. (2000) .la phethotherapie face a l'evolution medical. Recherche et l'évaluation relative a la médecine traditionnelles.

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

Celiktas O Y., Hames Kocabas E., Bedir E., Vardar Sukan F., Ozek T and Baser K.H.C. (2007). Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. *Food Chem.*, 100: 553-559.

Cetkovic G., Canadanovic-Brunet J., Djilas S., Savatovic S., Mandic A and Tumbas V. (2008). Assessment of polyphenolic content and in vitro antiradical characteristics of apple pomace. *Food Chemistry*, 109:340-347.

Chaudhry P.S., Cabrera J., Juliani H.R., and Varma S.D. (1983). Inhibition of human lens aldose reductase by flavonoids, sulindac and indomethacin. *Biochem. Pharmacol.* 32: 1995

Chavan U-D., Shahidi F., Naczk M., 2001. Extraction of condensed tannins from beach pea

(*Lathyrus maritimus* L.) as affected by different solvents. *Food Chemistry*, **75**: 509-512

Cheyrier V., Sarni-Manchado P (2006). Les polyphénols en agroalimentaire, *Ed. Lavoisier (Tec & Doc), Paris, 300-398*.

Chouaibi M., Mahfoudhi N., Rezig L., Donsi F., Ferrari G and Hamdi S. (2011)
Nutritional composition of *Zizyphus lotus* L. seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **6** : 1171–1177.

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

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

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

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

-D-

Dacosta Y (2003). Les phytonutriments bioactifs. Yves DACOSTA (Ed). Paris, 317p.

Dan Y. (2008). Biological fonctions of antioxydants in plant transformation. *In vitro Cell. Dev. BiolPlant*, **44**:149-161.

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

Das HC., Wang JH and Lien E. (1994). *Journal of Food Engineering*, **69**: 133-136.

Da Silva R., De Souza G.H.B., Da Silva A.A., De Souza V.A., Pereira A.C., Royo V.D.A., Silva M.L.A.E., Donate P.M., De Matos Araujo A.L.S., Carvalho J.C.T., and Bastos J.K. (2005). *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **15** (4):1033–1037.

De Bruyne T., Pieters. Deelstra H., Vlietink A. (1999). Condensed vegetable tannins:
Biodiversity and biological activities. *Biochemical Systematics and Ecology*, **27**: 445-459.

Delphine L. (2008). Etude pharmacochimique et chimiotaxonomique d'éponges du genre *Dysidea*. Mémoire master. Ecole de Chimie Physique et Electronique de Lyon .68p.

Diallo D ., Sango R ., Yasambou H ., Traoré A ., Coulibaly K ., Maïga A. (2004). Etude des constituants des feuilles de *Zizyphus mauritiana* Lam. (Rhamnaceae), utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali , *Comptes rendus . Chimie*.

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.

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

-F-

Favier A. (2003). Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique, *Mécanismes biochimiques*. 108-115.

Fiorucci S, (2006). thèse de doctorat Activités biologiques de composés de la Famille de flavonoïdes: approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire. Nice, 211p.

Fuhrman B., Lavy A., Aviram M. (1995). Consumption of red wine with meals reduces the susceptibility of human plasma and low-density lipoprotein to lipid peroxidation. *Am. J. Clin. Nutr.* **61:** 549-554.

-G-

Gharby S1, 2., H. Harhar1., Z. Bouzoubaa3., A. Roudani2., I. Chafchaoui4., B. Kartah1., Z. Charrouf1). (2014). 464-469. ISSN.)(*J. Mater. Environ. Sci.* **5 (2):** 2028-2508 *CODEN: JMESC�N) ou(JMES).*

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

Ghestem A., Seguin E., Paris M., Orecchioni A-M. (2001). Le préparateur en pharmacie .Dossier 2. Editions TEC & DOC Paris.275p

Gueye P-M. (2007). Phénotypes majeurs de l'haptoglobine humaine et stress oxydant induit par l'hémoglobine extra-érythrocytaire sur le globule rouge .Thèse de Doctorat.Université Louis Pasteur Strosbourg.247p.

Gutteridge J.M. (1993). Free radicals in disease processes: a complication of cause and consequence. *Free Radic. Res. Commun.* 19: 141-158.

-H-

Hagerman AE., Riedl KM., Jones GA., Sovik KN., Ritchard NT., Hartzfeld PW and Richel TL. (1998). High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. *J. Agric. Food Chem* , 46: 1887-92.

Halliwell B. (1994). Free radicals and antioxidants. *Nutr. Rev.* 52:253-265.

Harbone J.B and Rees S.B. (1985). *Phytochem*, 24 2225-2231.

Harborne J. B., Williams C. A. (2000). advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55: 481-504.

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

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

-I-

Igor Passi L B. (2002). Etude des activités biologiques de *Fagara zanthoxylo _des* Lam. (*Rutaceae*). Thèse Pharmacie, Bamako ; 133 P.

-J-

Jacques B, and André R. (2004). Biochimie métabolique Ed ellipses .Paris p: 217-219- 220-223-225.

Jürgen R., Paul .S., Ulrike S., and Reinhard S. (2009). Essential Oils of Aromatic Plants with Antibacterial, Antifungal, Antiviral, and Cytotoxic Properties– an Overview: *Forsch Komplementmed*.16: 79–90.

-K-

Kandra L., Guémant G., Zajacz A., Batta G. (2004). Inhibitory effects of tannin on human

salivary α -amylase. *Biochemical and Biophysical Research Communication*, **319**: 1265-1271.

Khanbaba K et Ree T.R. (2001).Tannins: Classification and Definition. *Journal of Royal Society of Chemistry*, *18*:641-649.

Kaur C et Kapoor H-C. (2002).Antioxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. *Food Sci. Technol*, *37*:153-161.

Kherraze M., Lakhdari K., Kherfi Y., Benzaoui T., Berroussi S., Bouhanna M. et Sebaa A. (2010), Atlas floristique de la vallée de l'oued righ par écosystème.

King A et Young G. (1999).Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. *Journal of the American dietetic association*, *99* :213-218.

Kini F., Saba M., Tits L., Angelot and Guisson P.I. (2008). J. Soc. Ouest-Afr. Chim, *25* 117-121.

Kirby AJ and Schmidt RJ. (1997). The antioxidant activity of Chinese herbs for eczema and of placebo herbs-I. *J Ethnopharma*, *56*: 103-108.

-L-

Le Croueour G ., Thepenier P ., Richard B ., Petermann C ., Ghedira K ., Zeches-Hanrot M. (2002). LotusineG: a new cyclopeptide alkaloid from *Zizyphus lotus*. *Fitoterapia*, *73*:63-68.

Lemuel L Dent., Dana R Marshall., Siddharth Pratap and Robert B Hulette R. (2010) Meseuarlcthi adrtircule g resistant Acinetobacter baumannii: a descriptive study in a city hospital. *BMC Infectious Diseases*, *10*:196.

Li J-W., Ding S-D and Ding X-L. (2005).Comparison of antioxidant capacities of extracts from five cultivars of Chinese jujube. *Process Biochemistry*, *40*:3607-3613.

Louis S. (2004). Thèse de doctorat ; Diversité structural et d'activité biologique des Albumines sentomotoxiques de type 1b des légumineuses. Lyon, 259p.

Lusakibanza manzo M. (2012). Etude phytochimique et pharmacologique de la plantes antipaludiques utilisées en médecine traditionnelle congolaise. Thèses de doctorat en sciences biomédicales et pharmaceutiques. Universités Kinshasa. 86 P.

Lutge U., Kluge M and Bauer G. (2002). Botanique 3ème Ed : Technique et documentation. Lavoisier .Paris. 211p.

Lopes G-C ., Sanches A-C-C., Nakamura C-V., Dias Filho B-P., Hernandes L., Carlos P and Mello J., 2005. Influence of extracts of *Stryphnodendron polyphyllum* Mart. and *Stryphnodendron obovatum* Benth. On the cicatrisation of cutaneous wounds in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 99: 265-272.

Lopez-Lazaro M. (2000), Two new flavonol glycosides as DNA topoisomerase I poisons. *Z. Naturforsch C*. 735 (11-12): 898-902.

Lugasi A., Hovari J., Sagi K and Biro L. (2003). The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *J.Acta.biologica.zegediensis*. 47 (1-4):119-125.

-M-

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.

Macheix jj.,fleuriet A and Billot J. (1990).fruit phenolics.CRC press,Boca Raton.p1-28.

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

Marfak A. (2003). Thèse de doctorat Radiolyse Gamma des flavonoïdes ; Etude de leur réactivité avec des radicaux issus des alcools. p: 6-7-10.

Martinez-Cayuela M. (1995). Oxygen free radicals and human disease. *Biochem.*77: 147-161.

Middleton and Elliott J. (1996). Biological properties of plant flavonoids an overview. *Int. J. Pharmacol.* **34 (5):** 344-348.

Mila I and Scalbert A. (1994). Tannin antimicrobial properties through iron deprivation anew hypothesis. International Symposium on Natural Phenols in Plant Resistance. **381(2):**749-755.

Molineux P. (2004). The use of the stable radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn J-Sci.Technol*, **26:**211-219.

Mookerjee B.K., Lee T.P., Logue G.P., Lippes H.A., and Middleton E. (1986). The effects of flavonoids on human lymphocyte proliferative responses. *Prog. Clin. Biolo. Res.* **213:** 51.

-N-

Nagendran B., Kalyana S and samir S. (2006). phenolic compounds in plants and agriindustrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *foodchemistry*; **99:**191-203.

-O-

Okuda T. (2005). Systematics and health effects of chemically distinct tannins in medicinal plants. *Phytochemistry*, **66:** 2012-2031.

Ojeil A., El Darra N ., El Hajj Y ., Bou Mouncef P J ., Rizket G and Maroun R. (2010). Identification et caractérisation de composés phénoliques extraits du raisin château KSARA. *Lebanese Science Journal*, 11.

Ong K.C and Khoo H. (2000). Effects of myricetin on glycemia and glycogen metabolism in diabetic rats. *Life. Sci.* **67:** 1695-1705.

Organisation mondiale de la santé (2000) .principe méthodologiques généraux pour la recherche et l'évaluation relative a la médecine traditionnelle.

Oyaizu M. (1996). Studies on products of browning reaction: Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Journal of Nutrition*, **44:**307-31

-P-

Paris R et Dillemann G. (1960). Les plantes médicinales des régions arides .*Unesco* (Ed).

Paris.99p.

Parakash D ., Upadhyay G ., Brahma N and Singh H-B. (2007). Singh antioxidant and free radicalscavenging activities of seeds and agri-wastes of some varieties of soybean (*Glycine max*). *Food Chemistry*, **104**:783-790.

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

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

Petropoulos I (2003). Stress oxydant et vieillissement modifications oxydatives des protéines au cours du vieillissement.Diderat.Paris.5p.

Pressler T., Bohmova B., Conwayc S .,Dumciusd S ., Hjelte L., Høibya N .,Kollbergf H .,Tümmlerg B and Vavrovab V. (2011) Chronic *Pseudomonas aeruginosa* infection definition, *EuroCareCF Working Group report. Volume 10 : 2* , 75–78.

Provost M. (1991).LES plantes qui guerissent, Quebec.ISBN 26894066054-8, P.12.

-Q-

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

-R-

Remesy C .,Manach C .,Demigne C .,Texier O and Regerat F. (1996) Intérêt nutritionnel des Flavonoïdes. *Méd. Nut.* **32** : 17-27.

Reynaud .J and Lussignol.M. (2005). Lotus Newsletter, 35 75- 82.

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

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

-S-

Sanchez-Moreno C.(2002).Méthods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems.International journal of foods Science and Technology,8 :121-137.

Siess MH., Le Bon AM and Lavier C. (2000). Mechanisms involved in the chemoprevention of flavonoids. Biofactors 2000, 12 (1-4): 193-9.

Suksamrarn S., Suwannapoch N., Aunchai N., Kuno M .,Ratananukul P ., Haritakum R ; Jansakul C and Ruchirawat S. (2005).Ziziphine N, O, P, new antiplasmodial cyclopeptide alkaloids from *Zizyphus oenoplia* var. *brunoniana*.*Tetrahedron*, **61** :1175-1180.

Sutradhar R.K., Matior Rahman A.K.M; Ahmad M.U and S. C. Bachar. (2008).
Phytochemistry Letters, 1 (4) 179–182.

Sacchetti G ., Maietti S ., Muzzoli M ., Scaglianti M ., Manfredini S ., Radice M ., Bruni R. (2005). Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods, *Food Chem.* **91**: 621-632.

Sachdev S and Davies K.J.A. (2008) Production, detection, and adaptive responses to free radicals in exercise. *Free Radical Biology & Medicine*, **44**: 215–223.

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

-T-

Tenaillon O ., Skurnik D ., Picard B and Denamur E. (2010). The population genetics of commensal *Escherichia coli*.v :8.

-V-

Vansant G. (2004). Radicaux libres et antioxydants : principes de base. *Ed Institut Danone*.

- W-

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

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

-X-

Xie D-Y et Dixon R A. (2005). Proanthocyanidins biosynthesis-still more question than answers *Phytochemistry*, *66*:2127-2144.

-Y-

Yang L., Lee C-Y., Yen K-Y. (2000). Induction of apoptosis by hydrolysable tannins from *Eugenia jambos* L. on human leukaemia cells. *Cancer Letters*, **157**: 65-75.

Yanishilieva N-V-I et Marinova E-M. (1995). Effects of antioxydants on the stability of

Triacylglycerols and methyl esters of fatty acids of sunflower oil. *Food Chemistry*, **54**:337-382.

Yang J ., Guo J ., Yuan J. (2008). In vitro antioxidant properties of rutin . *LWT*, **41**:1060-1066.

Yi Z ., Yan Y ., Liang Y and Zeng B. (2008). In vitro antioxidant and antimicrobial activities of Pericarpium Citri Reticulatae of a new Citrus Cultivar and its main flavonoid. *LWT*, **41**:597-603.

Année universitaire : 2014/2015

présentée par : HAMZA KARIMA.

MEZIANI AMAL

**Mémoire pour l'obtention du diplôme de master en biochimie
Option : biochimie moléculaire et santé.**

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

Résumé :

Les extraits naturels de plantes contiennent une variété de composés phénoliques auxquels sont attribuées diverses activités biologiques. Dans la présente étude on a tenté d'évaluer l'activité antioxydante et antibactérienne de l'extrait aqueux préparé à partir des feuilles du *Zizyphus lotus*.

L'analyse qualitative de cet extrait par les testes préliminaires et la CCM a révélé la présence des composés phénoliques, des tanins, des flavonoïdes, des alcaloïdes et des saponines ; ce ci est confirmé par une analyse quantitative basée sur le dosage , des composés phénoliques, des tanins , et des flavonoïdes dont les valeurs sont : pour les composés phénoliques(204.5±7.44 ug EAG / mg d'extrait) , les tanins (38.4±13.61 ug ECT / mg d'extrait) et les flavonoïdes (2.7±0.50 ug EQ / mg d'extrait).

L'étude de l'activité antioxydante par la méthode du thiocyanate de fer a révélé une grande activité antiperoxydation de l'extrait aqueux .Le test du DPPH a montré un pouvoir antiradicalaire faible avec une $IC_{50} = 32093.33 \pm 724.60$ ug/ml.

Le test de blanchissement de *B*-carotene a avéré que l'activité d'inhibition de l'extrait Aqueux (63.56±0.51) est similaire à celle de l'acide gallique.

Le test de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux a montré que l'extrait testé est actif avec toutes les souches bactériennes testées avec un degré déférent. Dont la zone d'inhibition la plus grande avec *Klebsiella pneumoniae* (13,66±1,52mm).

Mots clés : *Zizyphus lotus*, activité antioxydante, antiperoxydation, antiradicalaire, β -carotène, activité antibactérienne, composés Phénoliques, flavonoïdes, tannins.

Devant le jury :

President : M^{er} NECIB YOUCEF

Pr . UFM Constantine

Rapporteur : M^{elle} DJAMAI ZOUGHLACHE SOUMIA

M.A. UFM Constantine

Examineurs : M^{elle} BAH I AHLAM

M.A. UFM Constantine