



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث 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 والحياة

Département : Biologie Animale

قسم : بيولوجيا الحيوان

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : *Toxicologie*

Intitulé :

L'activité antioxydante *in vitro* des polysaccharides extraits à partir des feuilles de *Ziziphus lotus*

Présenté et soutenu par: *Bechoua Mouna*

Le : 01/07/2017

Dekkiche Samira

Moudjari Fatima Zohra

Jury d'évaluation :

Président du jury : Zaama Dj (professeur- UFM Constantine).

Rapporteur : Tour H (MA-UFM Constantine).

Examineurs : Amrani A (MC-UFM Constantine).

Boukandoul R (MA- UFM Constantine).

Année universitaire
2016-2017

Remerciement

*Nous tenons tous d'abord à remercier Dieu le
tous puissant et miséricordieux, qui nous a donné
la force et patience d'accomplir ce modeste
travail.*

*Nous tenons à remercions très sincèrement
M^{eme} Tour Hanifa, en tant que directrice de
mémoire, s'est toujours montré à l'écote et très
disponible tout au long de la réalisation de ce
mémoire, ainsi pour l'inspiration, l'aide et le
temps qu'il a bien voulu nous consacrer et sans
qui ce mémoire n'aurait jamais vu le jour.*

*Nous remercions chaleureusement M^{eme} Zaama
professeur à l'université Constantine 1, pour
avoir accepté de présider le jury*

*Nous remercions rigoureusement M^{eme}
amrani & Mr Boukandoul d'avoir accepter
d'examiner notre travail*

*Nous remercions tous ceux qui ont contribué
de près ou de loin à notre formation enseignant,
collaborateur ou simple agent.*



Dédicace

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

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

Je ne pourrai jamais oublier d'exprimer ma profonde gratitude à :

*Mes adorables frères et sœurs : **Sihame** et son mari **Mourad**, **Leïla** et
son mari **Khalil**, et cher frère **Farid**.*

*A mon fiancé **RAFIK** qui m'a beaucoup encouragée tout le long de
ce travail. Merci de m'avoir montré beaucoup de patience durant
les moments les plus stressants.*

*Mes neveux et nièces : **Rawad**, **Asil**, **Tasnime**, **Mohamed Fadi**,
Djihane*

*Mes chères amies : **Abir** et **Ilham***

*A mon trinôme «**Samira** et **Fatima-zohra** » qui ont partagée avec
moi les moments difficiles de ce travail et son familles.*

*Sans oublier mes braves amies de la promotion de **Toxicologie** et
santé.*

Mouna





Dédicace

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

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

*A mon cher père qui m'a appris le sens de la persévérance tout au
long de mes études, pour son sacrifice ses conseils et ses
encouragements.*

Je ne pourrai jamais oublier d'exprimer ma profonde gratitude à :

*Mes adorables frères et sœurs : Adel, Imed, Fares et sa femme
Soumia , Hafida, Warda, Radia et son marie Hichem*

A mes très chères Neveux :Islem et Iyed.

A mes très cher amis « Besma et Nada ».

A toute ma famille, proche ou éloignée

*A toute mes cousines : Dalal, Imen, Hadjer, Chahra-zad, Rania,
Marwa.*

*A mon trinome « Mouna et Fatima -zohra » qui ont partagée avec
moi les moments difficiles de ce travail et son familles.*

*Sans oublier mes braves amies de la promotion de Toxicologie et
santé.*

SAMIRA





Dédicace

À mon dieu : ALLAH.

À mon cher père : Ahmed,

*«L'épaule solide, l'œil attentif compréhensif et la personne la plus
Digne de mon estime et de mon respect.*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer mes sentiments, que dieu te
Préserve et te procure santé et longue vie. Merci. »*

Je t'aime papa.

À ma chère mère : Fadila,

« Merci Tu m'as donné la vie, la tendresse et le courage pour réussir.

*Tout ce que je peux t'offrir ne pourra exprimer l'amour et la
Reconnaissance que je te porte.*

En témoignage, je t'offre ce modeste travail pour te remercier

*Pour Tes sacrifices et pour l'affection dont tu m'as toujours
Entourée, que dieu te Préserve et te procure santé et longue vie. »*

Je t'aime maman.

À mon cher frère : Charf eddine.

*À mes chères sœurs : Amina, Chaïma, Chahrazed, Saïda et son mari
Ayadi Kacem et surtout ses enfants : Abde El kodouse, Alae Rahaf.*

À mon cher mari : Mohamed et sa famille

À ma famille, ma gronde mère : Moudjari Aljia, ma tante : Aïcha

À mon trinôme : Mouna, Samira.

À mes amis surtout : Talha Linda.

Fatima Zohra



Abréviations

Cu: Cuivre.

Cu,Zn-SOD : SOD à cuivre et à zinc.

ERA : Espèces réactives d'azote.

ERO: Espèces réactives de l'oxygène.

Fe : Fer.

Fe²⁺: Ferrique.

Fe³⁺: Ferreux.

HO[•]: Le radical hydroxyle.

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

GPx : Glutathion peroxydase.

GS : Glutathion synthase.

GSH : Glutathion réduit.

GSSG : Glutathion oxydé.

GR : Glutathion réductase.

kDa : kilo Dalton.

Mn : Manganèses.

Mn-SOD : superoxyde dismutase à manganèse.

NADPH: Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate.

NO[•]: Monoxyde d'azote.

NO₂[•]: Dioxyde d'azote.

ONOO⁻: Le peroxydinitrite.

ONOOH : Acide du peroxydinitrite.

O₂⁻ : L'anion superoxyde.

¹O₂ : L'oxygène singulet.

PFG : produits finaux de glycosylation.

RL : Radical libre.

ROO[•] : Le radical peroxyde.

Se : Sélénium.

Se-Cys : séléno-cysteine.

SH: groupement thiol.

SOD : Le superoxyde dismutase.

TRx : Thiorédoxine.

Abréviations

Txnr : thiorédoxine réductase.

TCA : l'acide trichloracétique.

Zn : Zinc.

Liste des figures et des photos

Figure 01 : Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturé et nature des produits terminaux formés	8
Figure 02 : Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydant de leurs cofacteurs métalliques.....	13
Figure 03 : La structure chimique de l'amylose	15
Figure 04 : La structure chimique de l'amylopectine	16
Figure 05 : La structure chimique de la cellulose	17
Figure 06 : Structure chimique de la chitine	17
Photo 01 : Les feuilles de <i>Ziziphus lotus</i>	21
Figure 07 : Protocole de préparation de l'extraction de polysaccharide par eau chaud... ..	24
Figure 08 : Pourcentage d'inhibition du DPPH [•] en fonction de la concentration de l'extrait Brut des polysaccharides (PsZI) et de l'acide ascorbique.....	27
Figure 09 : La réduction de molybdène en présence de l'extrait brut saccharidique (PsZI).....	28
Figure 10 : Pouvoir réducteur de l'extrait brut saccharidique (Ps ZI) et de l'acide Ascorbique (Vit C).....	29

Sommaire

Liste des abréviations	1
Liste des figures	
Introduction	1
Chapitre I : Stress oxydant	3
I.1. Les Radicaux libres	3
I.1.1. Définition.....	3
I.1.2. Les espèces réactives de l'oxygène radicalaires.....	3
I.1.2.1. L'anion superoxyde.....	3
I.1.2.2. Le radical hydroxyle.....	4
I.1.2.3. Les radicaux alkyles et pyroxyles	4
I.1.3. Les espèces réactives de l'oxygène non radicalaire.....	4
I.1.3.1. L'oxygène singulet.....	4
I.1.3.2. Le peroxyde d'hydrogène.....	5
I.1.4. Les espèces réactives de l'azote.....	5
I.1.4.1. Le monoxyde d'azote.....	5
I.1.4.2. Le peroxydinitrite.....	5
I.1.5. Les sources de production des radicaux libres.....	5
I.1.5.1. Les sources endogènes.....	5
I.1.5.1.1. Les sources non enzymatiques.....	6
I.1.5.1.2. Les sources enzymatiques.....	6
I.1.5.2. Sources exogènes.....	7
I.1.6. Les cibles des radicaux libres.....	7
I.1.6.1. L'altération de l'ADN.....	7
I.1.6.2. La peroxydation lipidique.....	8
I.1.6.3. Les dommages oxydatifs aux protéines.....	9
I.1.6.4. Altérations des glucides.....	9
I.2. Le système Antioxydant	9
I.2.1. Définition.....	9
I.2.2. Les antioxydants enzymatiques.....	10
I.2.2.1. La superoxyde dismutase.....	10
I.2.2.2. La catalase.....	10
I.2.3. Le système glutathion	11

I.2.3.1. La glutathion peroxydase.....	11
I.2.3.2. La glutathion réductase.....	11
I.2.2.4. Le système thiorédoxine.....	11
I.2 .3. Des antioxydants exogènes non enzymatiques.....	12
I.2.3.1. La vitamine E.....	12
I.2.3.2. La vitamine C	12
I.2.3.3. Les caroténoïdes.....	12
I.2.3.4. Les polyphéns.....	13
I.2.3.5. Oligoéléments.....	13
Chapitre III : Les polysaccharides	
II.1. Définition.....	14
II.2. Structure et classification des polysaccharides.....	14
II.2.1. Homopolysaccharides.....	15
II.2.1.1. Les homopolysaccharides de réserve.....	15
II.2.1.2. Les homopolysaccharides de structure.....	16
II.2.2. Les hétéropolysaccharides.....	17
III. Matériel et méthodes	20
III.1. L'extraction des polysaccharides hydrosolubles.....	20
III.1.1. Origine de la plante.....	20
III.1.2. Extraction et semi-purification des polysaccharides hydrosolubles.....	22
III.2. L'activité antioxydante <i>in vitro</i>	24
III.2.1. Test de neutralisation du DPPH'.....	24
III.2.2. Test de la capacité antioxydante totale	25
III.2.3. Test du pouvoir réducteur.....	26
IV. Résultats et discussion	27
IV.1. Le rendement en polysaccharides.....	27
IV.2. L'activité antioxydante.....	27
Conclusion et perspectives	29
Références bibliographiques.	
Les Résumés	

Introduction

INTRODUCTION

Nous ne pouvons survivre sans oxygène. Rares étaient ceux qui soupçonnaient récemment encore que ce souffle de vie pouvait également être mais en rapport avec nombre de maladies. Ce paradoxe de l'oxygène est une des phénomènes les plus curieux de la nature. Les effets nocifs de l'oxygène ne sont pas provoqués par l'oxygène en soi, mais par les espèces oxygénées réactives formées sur place. Celles-ci se créent notamment par pertes successives d'un électron de l'oxygène moléculaire conduisant à la formation du radical superoxyde, du peroxyde d'hydrogène et du radical hydroxyle (Percival, 1989 ; Gardès-Albert *et al.*, 2003 ; Vamecq , 2004 ;) .

Les espèces oxygénées réactives oxydent lentement nos molécules biologiques. Heureusement, il existe un système de défense, le système antioxydatif. Ce réseau d'antioxydants, enzymatiques ou non, permet à notre corps de se défendre contre les substances réactives oxygénées (Vamecq *et al.*, 2004).

Les antioxydants sont des molécules capables d'interagir sans danger avec les radicaux libres et de mettre fin à la réaction en chaîne avant que les molécules vitales ne soient endommagées. Chaque molécule antioxydant ne peut réagir qu'avec un seul radical, il existe plusieurs types de molécules à activité antioxydant : les enzymes antioxydants directement synthétisées par l'organisme (superoxyde dismutases, glutathion peroxydases, â catalase...) et les composés antioxydants d'origine exogène c'est-à-dire alimentaire (les vitamines A, C et E ; les caroténoïdes comme le lycopène et la lutéine ; la taurine ; les polyphénols ; certains minéraux et oligoéléments comme le magnésium, le zinc, le sélénium et le manganèse). Ces systèmes antioxydants interviennent en protégeant les cellules des dommages oxydatifs induits par les radicaux libres. Le principe de leur emploi pour prévenir l'apparition et le développement de certaines maladies dans lesquelles sont impliqués des phénomènes oxydatifs semble séduisant (percival, 1989).

Les polysaccharides sont les macromolécules les plus abondants sur terre et dans les Océans. Ils sont fortement utilisés dans l'industrie agroalimentaire et pharmaceutique Ces macromolécules sont les éléments structuraux majeurs de la paroi des végétaux (ex : Cellulose, Carraghénanes, alginates) (Percheron *et al.*, 1981). Ils présentent une variabilité structurale et une richesse De propriétés physico-chimiques, que l'on ne rencontre chez aucune autre classe D'organismes

Un très grand nombre des plantes contient des milliers de substances actives trouver dans leurs différentes organes soit dans les feuilles, les fleurs ou dans les racines, Ce travail vise à étudier rôle des antioxydant de l'extraits brut de la Plante aromatique et médicinales *zizyphus lotus* qui appartient à la famille Rhamnaceae, contient de nombreux éléments actifs, tels que des flavonoïdes, des glycosides tri terpènes, des acides aminés et des traces de minéraux et des polysaccharides

La Sélection de cette plantes est fondée sur les critères suivants : sont parmi les plus populaires plantes aromatique et médicinales utilisée dans le monde le entier , leur utilisation fréquente par nos population dans le domaine culinaire et celui de la médecine traditionnelle ; à coté du fait quelque huiles essentielles sont utilisée dans les industrie alimentaires , pharmaceutique et cosmétique , leur efficacité dans le traitement des maladies de la peau et des infection (gale, pimples) , et purifie sang ,elle représentent récemment un sujet de recherche scientifique intéressant.

Nos travail sera réparti en de trois partie :

- Une partie relative à l'étude bibliographique, de l'introduction, stresse oxydant et polysaccharides
- Une 2^{eme} partie réservée à l'étude expérimentale la présente des méthodes et les technique utilisée pour la réalisation de ce travail.
- Une 3^{eme} partie présente la discussion et résultat obtenu.

Chapitre I

Le stress oxydant

I.1. Radicaux libres

I.1.1. Définition

Le stress oxydatif est défini comme un état tissulaire particulier qui perturbe l'homéostasie de nos cellules. Il se caractérise comme un déséquilibre entre les tissus qui génèrent des radicaux libres dérivés de l'oxygène et l'ensemble des réactions mises en jeu pour rétablir l'équilibre (Helliwell, 1989 ; Perceval, 1998 ; Dröge, 2002).

Un radical libre est une molécule ou un atome ayant un ou plusieurs électrons non appariés, ce qui le rend extrêmement réactif. L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Favier, 2003). Les radicaux libres sont électriquement neutres ou chargés (ioniques) (Eboh, 2014).

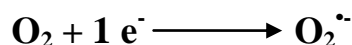
Actuellement, on emploie le terme « espèces réactives de l'oxygène » pour désigner un ensemble plus large de molécules (Favier, 2003) :

- les ERO caractérisés par un électron non apparié : l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), les radicaux hydroxyles (HO^{\cdot}), radicaux peroxydes (ROO^{\cdot}), alkoxyde (RO^{\cdot}).
- les ERO non radicalaires comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), l'oxygène singulet (1O_2) et le peroxyde nitrite ($ONOO^{\cdot}$).

I.1.2. Les espèces réactives de l'oxygène radicalaires

I.1.2 .1.L'anion superoxyde

C'est la forme réduite de l'oxygène moléculaire (O_2) par la réception d'un électron (Halliwell, 1989) :

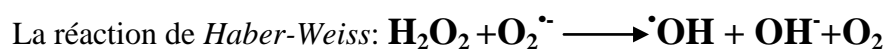
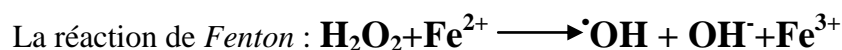


L'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) est considéré comme le type le moins réactifs des espèces réactif de l'oxygène (Halliwell, 1989; Huet & Duranteau, 2008 ; Miller *et al.*, 2005). Il est formé lors du transport des électrons au niveau de la chaîne respiratoire et la principale source c'est l'explosion oxydative des cellules phagocytaires qui entré en contact avec des antigènes (microbe pathogène, bactérie...). Les cellules phagocytaires connue pour produire l'anion superoxyde sont : les Nitrophile, les éosinophile, les monocytes et les macrophages (Favier, 2003 ; Scheibmeir *et al.*, 2005). L'anion superoxyde joue un rôle important dans la génération de d'autres radicaux libres,

tel que le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), le radicale hydroxyle (·OH) et peut réagir avec l'oxyde nitrique (NO·) pour former le peroxynitrite (ONOO⁻) (Lone et al 2013 ; Huet & Duranteau, 2008 ; Eboh, 2014).

I.1.2.2. Le radical hydroxyle

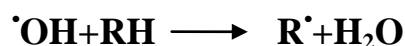
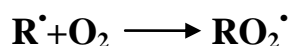
Le radical hydroxyle (·OH) provient de la réduction du peroxyde d'hydrogène ; c'est une forme très réactive. Il se forme, par la réaction de Haber-Weiss ou par la réaction de Fenton, en présence de métaux de transition tel que le Fe²⁺ ou le Cu²⁺ (Halliwell, 2001 ; Rees *et al.*, 2004 ; Eboh, 2014) :



Le radical hydroxyle ·OH a une courte demi-vie. Il représente une source potentielle des lésions moléculaires, tissulaires et cellulaires. Ce radical intervient directement et très rapidement dans la dégradation de l'ADN, la peroxydation lipidique et l'oxydation des protéines (Deby-Dupont *et al.*, 2002 ; Scheibmeir *et al.*, 2005 ; Eboh, 2014).

I.1.2.3. Les radicaux alkyles et pyroxyles

Les radicaux alkyles (R·) sont les derniers maillons dans la chaîne de production des espèces réactives de l'oxygène. Ils sont les résultats de l'action oxydante du ·OH sur les chaînes d'acides gras polyinsaturés. Les radicaux alkyles (R·) et pyroxyles (ROO·) sont à l'origine des processus radicalaires en chaîne et en particulier de la peroxydation lipidique (Rees *et al.*, 2004 ; Eboh, 2014) :



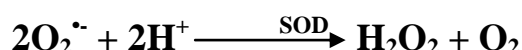
I.1.3. Les espèces réactives de l'oxygène non radicalaire

I.1.3.1. L'oxygène singulet

Il correspond à une forme excitée de l'oxygène. L'oxygène singulet (¹O₂) possède la même structure électronique que l'oxygène, mais agencée différemment, à savoir que les électrons de la couche externe initialement non appariés se sont appariés. Donc c'est une espèce non radicalaire. Son état excité lui confère un potentiel oxydant supérieur à celui de l'oxygène (Gardès-Albert *et al.*, 2003 ; Vamecq *et al.*, 2004; Halliwell & Gutteridge, 2007).

I.1.3.2. Le peroxyde d'hydrogène

Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) est une molécule stable et facilement diffusable à travers les membranes cellulaires avec une longue demi-vie (Rees *et al.*, 2004 ; Huet & Duranteau, 2008). L'anion superoxyde qui reçoit un électron d'hydrogène peut former le peroxyde d'hydrogène par un processus appelé dismutation. Cette réaction est catalysée par une enzyme appelée ainsi la superoxyde dismutase (SOD) (Schneider & Reischak de Oliveira, 2004 ; Scheibmeir *et al.*, 2005 ; Eboh, 2014) :



Le peroxyde d'hydrogène est capable de générer les radicaux libres hautement réactifs en présence des métaux de transition (fer et cuivre) pour donner via la réaction de Fenton le radical hydroxyle (Halliwell, 2001 ; Deby-Dupont *et al.*, 2002 ; Eboh, 2014).

I.1.4. Les espèces réactives de l'azote

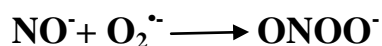
I.1.4.1. Le monoxyde d'azote

Le monoxyde d'azote (NO^\bullet) est synthétisé par voie enzymatique à partir d'un atome d'azote de l'acide aminé l'arginine et d'une molécule d'oxygène. Les réactions du NO^\bullet avec l'oxygène et l' $\text{O}_2^{\cdot-}$ forment respectivement le dioxyde d'azote (NO_2^\bullet) et l'anion peroxydinitrite (ONOO^-) (réaction 1 et 2), les conséquences délétères de ces deux dérivés sont considérées comme des effets indirects du NO^\bullet (Deby-Dupont *et al.*, 2002 ; Gardès-Albert *et al.*, 2003 ; Vamecq *et al.*, 2004).



I.1.4.2. Le peroxydinitrite

L'apparition du peroxydinitrite (ONOO^-) est extrêmement rapide, et se produit par la réaction de NO^\bullet avec l' $\text{O}_2^{\cdot-}$ selon la réaction suivante (Eboh, 2014):



L'ion ONOO^- est considéré comme une espèce réactive de l'azote mais aussi de l'oxygène. Sa protonation en acide peroxydinitreux (ONOOH) donne une espèce réactive de l'azote possède une réactivité qui lui est propre et peut agir sur divers constituants cellulaires (Eboh, 2014).

I.1.5. Les sources de production des radicaux libres

I.1.5.1. Les sources endogènes

On distingue deux sources endogènes ; l'une enzymatique et l'autre non enzymatique :

I.1.5.1.1. Les sources non enzymatiques

A. La chaîne respiratoire mitochondriale

La principale source des espèces radicalaires de l'oxygène réside dans la respiration mitochondriale. En effet, l'oxygène est indispensable à la production d'énergie sous forme d'adénosine triphosphate (ATP) dans la cellule. Cette production d'énergie, appelée phosphorylation oxydative se fait via les chaînes de transports des électrons au sein de la membrane interne mitochondriale. La réduction tétravalente de l'oxygène en eau se déroule en plusieurs étapes successives donnant naissance à des intermédiaires potentiellement réduits appelés les ERO. On estime que 2 à 5% de l'oxygène consommé au niveau mitochondrial est transformé en $O_2^{\cdot-}$ de manière continue et physiologique (Halliwell, 1989 ; Aravind *et al.*, 2003 ; Appel & Hirt, 2004 ; Rees *et al.*, 2004) .

B. La phagocytose

Les radicaux libres dérivés du métabolisme sont produits dans toutes les cellules. De même, si certaines en fabriquent des quantités plus importantes particulièrement au niveau des polynucléaires, des neutrophiles et des macrophages pendant la phagocytose. Les neutrophiles sont les leucocytes les plus importantes au début de la reperfusion et ils contiennent dans leur membrane plasmique la NADPH-oxydase qui réduit l'oxygène moléculaire en anion superoxyde. Ce dernier se produit par dismutation de l'eau oxygénée (Favier, 2003 ; Vamecq *et al.*, 2004).

C. Les peroxysomes

- Ils sont le siège d'une forte activité métabolique très centrée sur le métabolisme oxydatif et ils possèdent de nombreux systèmes antioxydants et pro-oxydants. En fait, les peroxysomes ce sont des vésicules cytoplasmiques minuscules entourées d'une membrane simple, contenant des oxydases et des enzymes spécifiques des métabolismes du peroxyde d'hydrogène (Ji & Leichtweis, 1997 ; Lone *et al.*, 2013)

I .1.5.1.2. Les sources enzymatiques

A. La xanthine-oxydase

D'une part, elle catalyse la dégradation de l'hypoxanthine en acide urique en condition de forte demande d'ATP et déficit en oxygène. D'autre part, la xanthine-oxydase peut également catalyser l'oxydation de la xanthine en acide urique notamment lors d'ischémie-reperfusion ou d'hypoxie. Dans cette réaction, l'oxygène moléculaire agit comme un accepteur d'électrons produisant $O_2^{\cdot-}$ (Ji & Leichtweis, 1997).

B. La NADPH oxydase membranaire

En plus de la production des ROS par la respiration mitochondriale, la NADPH oxydase membranaire (NOx) est capable de produire des radicaux superoxydes. La NOx est une enzyme qui catalyse la réduction de l'O₂ en utilisant comme donneur d'électron le nicotinamide adénine di-nucléotide phosphate (NADPH dans sa forme réduite ou NADP dans sa forme oxydée (Al-Dalaen & Al-Qtaitat, 2014) :



Cette enzyme est importante dans les cellules phagocytaires pour assurer la défense de l'organisme contre les pathogènes. Elle existe également dans les autres cellules non phagocytaires et participe à la signalisation cellulaire. Elle est localisée à la membrane cytoplasmique et dans certains granules des polynucléaires neutrophiles (Deby-Dupont *et al.*, 2002)

I.1.5.2. Sources exogènes

Il existe également différents phénomènes induisant la formation des radicaux libres ou des molécules favorisant leur formation. Parmi ces facteurs on trouve (Favier, 2003 ; Rees *et al.*, 2004):

- l'alimentation : l'alcool, les additifs, le café, les nourritures d'origine animale.
- les polluants : fumé de la cigarette, air atmosphérique, produits de nettoyage, solvant industriel...
- des métaux toxique : le cadmium, le nickel, l'arsenic, l'amiante, ainsi queles métaux de transition telle que le mercure et le fer.
- les médicaments : adriamycine, bleomycine,...
- les radiations : ionisantes, les rayons X et gamma ou ultra-violette sont capables de produire des anions superoxyde et l'oxygène singulet.
- les pesticides.

I.1.6. Les cibles des radicaux libres

I.1.6.1.L'altération de l'ADN

Il est désormais établi que la production d'espèces réactives d'oxygène conduit à la formation d'un large spectre de modifications de l'ADN. Les modifications des bases puriques et pyrimidiques, les cassures simple et double-brin même les sites abasiques oxydés ou non constituent les catégories principales des dommages oxydatifs de l'ADN (Favier, 2003; Gardès-Albert *et al.*, 2003 ; Abheri *et al.*, 2010).

I.1.6.2. La peroxydation lipidique

Les acides gras polyinsaturés des membranes constituent une cible privilégiée par le radical hydroxyle, qui arrache un hydrogène sur le carbone situé entre deux doubles liaisons. Une réaction appelée peroxydation lipidique, ce mécanisme de dégradation des acides gras membranaires, provoque la formation des hydroperoxydes instables qui induisent une diminution de la fluidité membranaire et donc une modification de différents récepteurs et de la transduction des signaux (Halliwell, 1989 ; Gardès-Albert et al., 2003 ; Haleng *et al.*, 2007).

L'interaction entre les espèces réactives de l'oxygène se fait par un mécanisme de réaction en trois étapes : Initiation, propagation et terminaison (Figure 01) (Favier, 2003).

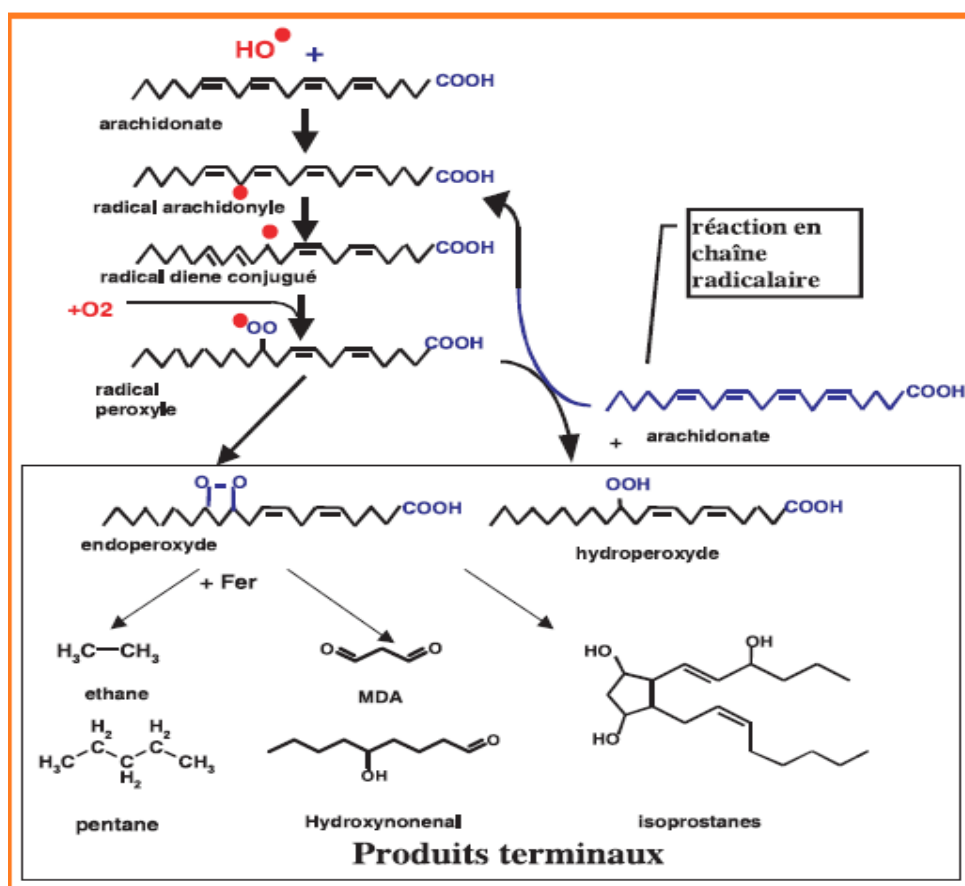


Figure 01 : Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produit terminaux (Favier, 2003).

I.1.6.3. Les dommages oxydatifs aux protéines

Tout comme les lipides, les protéines peuvent également être la cible des réactions radicalaires ou oxydatives en subissant des modifications sous l'action des ERO radicalaires et non radicalaires. Ces réactions d'oxydation sont fréquemment influencées par les cations métalliques comme le cuivre et le fer (Favier, 2003 ; Haleng *et al.*, 2007).

Les protéines atteintes peuvent se fragmenter ou se dénaturer avec l'altération de leurs structures primaires et secondaires. On peut observer une oxydation des chaînes latérales des acides aminés, notamment de la cystéine et de la méthionine, avec formation des ponts disulfures (Favier, 2003 ; Haleng *et al.*, 2007 ; Gardès-Albert *et al.*, 2003).

I.1.6.4. Altérations des glucides

Les cibles glucidiques sont essentiellement le glucose et les protéoglycanes du cartilage. L'oxydation au sens large du glucose est aussi appelée « glycosoxydation » regroupe en fait deux mécanismes possibles. Le premier mécanisme c'est l'oxydation au sens strict du glucose, donnant des dérivés carbonyles susceptibles de réagir avec une protéine pour aboutir à la formation des produits finaux de glycosylation (PFG). Alors que le deuxième mécanisme représente la formation d'une liaison covalente entre un ose et les groupements aminés libres d'une protéine ; on parle donc de glycosylation non-enzymatique des protéines. Cela forme une protéine glyquée, qui peut être facilement attaquée par des ERO telles que le HO[•] ou le ONOO⁻ pour former des PFG (Halliwell & Gutteridge, 2007).

II.2 Le système de défense antioxydant

I.2.1. Définition

C'est un ensemble de système de défense très efficace contre la production des radicaux libres. Les composants du système antioxydant réagissent facilement avec les substances oxydantes pour désactiver et éliminer ou diminuer leur production (Percival, 1998 ; Scheibmeir *et al.*, 2005 ; Lone *et al.*, 2013).

Selon leurs propriétés physico-chimiques, les antioxydants peuvent être divisés en deux groupes : hydrophobes et hydrophiles (Scheibmeir *et al.*, 2005). Généralement selon leur naturel existe deux types d'antioxydants : les antioxydants enzymatiques naturellement fabriqué par notre organisme et les antioxydants non enzymatiques d'origine alimentaire (Rees *et al.*, 2004 ; Haleng *et al.*, 2007 ; Eboh, 2014) .

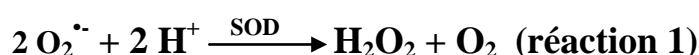
I.2.2. Les antioxydants enzymatiques

Sont considérés comme la première ligne de défense de notre organisme contre les espèces réactives de l'oxygène. Ce système est constitué des enzymes telles que la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), la glutathion peroxydases/réductases et le système thioredoxine.

Parfois ces enzymes nécessitent la présence des oligoéléments tel que le sélénium, le fer, le cuivre, le zinc, et le manganèse pour pouvoir exercer leur activité enzymatique (Rees *et al.*, 2004 ; Lone *et al.*, 2013).

I.2.2.1. La superoxyde dismutase

La Superoxyde dismutase (SOD) est un antioxydant enzymatique intracellulaire, présente chez tous les organismes : les animaux, les végétaux, les procaryotes et les eucaryotes. La famille des SOD regroupe trois métallo-enzymes qui diffèrent en fonction de leur localisation et des oligo-éléments contenu dans leur site actif. Cependant, il y a la superoxyde dismutase à manganèse (Mn-SOD) protège la mitochondrie, la SOD à cuivre et à zinc (Cu,Zn-SOD) essentiellement présente dans le cytoplasme des cellules eucaryotes et la SOD de Fer (Fe-SOD) chez les procaryotes uniquement (Halliwell, 2001 ; Favier, 2003 ; Al-Dalaen & Al-Qtaitat, 2014). Elles sont capables d'éliminer l'anion Superoxyde ($O_2^{\bullet -}$) et produisent une molécule d'oxygène et une molécule de peroxyde d'hydrogène (réaction 1) (Ji & Leichtweis, 1997 ; Rees *et al.*, 2004 ; Negre-Salvayre & Salvayre, 2005).



I.2.2.2. La catalase

C'est une enzyme antioxydante puissante. La catalase est localisée principalement dans les peroxysomes et les mitochondries. Elle est composée de quatre sous unités protéiques, chacune contenant un groupe hémique avec le Fe^{3+} lié au site actif, il réagit très efficacement avec le peroxyde d'hydrogène (réaction 2) pour former de l'eau et de l'oxygène moléculaire (Rees *et al.*, 2004 ; Vamecq *et al.*, 2004; Scheibmeir *et al.*, 2005).

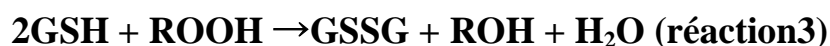


I.2.3. Le système glutathion

I.2.3.1. La glutathion peroxydase

C'est une enzyme dépendante de sélénium, elle contient un seul résidu séléno-cysteine (Se-Cys). La glutathion peroxydase (GPx) comprend quatre unités identiques, chaque unité est essentielle pour l'activité enzymatique. Il existe plusieurs iso enzymes de la glutathion peroxydase (GPx) trouvé chez les mammifères. Bien que leur expression soit ubiquitaire les niveaux de chaque isoforme varient selon le type de tissu (Ji & Leichtweis, 1997 ; Halliwell 2001 ; Rees *et al.*, 2004).

La glutathion peroxydase utilise le glutathion (GSH) comme un donneur de proton (H^+) et le GSH sera oxydé en glutathion oxydé (GSSG) (réaction 3). Elle catalyse la réduction d'une variété d'hydro-peroxydes organique (ROOH) ou inorganique (H_2O_2), en utilisant le glutathion (Singh Gill & Tuteja, 2010 ; Lone *et al.*, 2013) :



I.2.3.2. La glutathion réductase

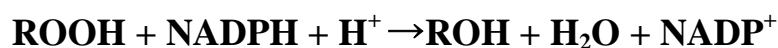
Le glutathion (GSH) est formé à base d'un tripeptide (Gly-Cys-Gly). Sous l'action de la glutathion peroxydase (GPx) il élimine les espèces réactives de l'oxygène (H_2O_2 , $^{\bullet}OONO$, LO^{\bullet} ,...) et forme ainsi le GSSG (Halliwell, 2001 ; Lone *et al.*, 2013 ; Eboh *et al.*, 2014).

Le GSH est un antioxydant peptidique abondant dans l'organisme où elle joue un rôle important dans la protection des tissus et des protéines transporteurs d'ions actifs comme l'hémoglobine, la transferrine, la ferretine et l'albumine. Il est capable de régénéré les vitamines E et C oxydées. Le glutathion est un détoxifiant au niveau hépatique où il peut se lier aux métaux toxiques (mercure, arsenic...). En effet, le GSH est utilisé comme marqueur du système antioxydant et du stress oxydant (Vamecq *et al.*, 2004 ; Singh Gill & Tuteja, 2010 ; Eboh *et al.*, 2014).

I.2.2.4. Le système thiorédoxine

Les thiorédoxines sont des petites protéines (12 KDa) doués d'une activité intrinsèque d'oxydoréduction. Comme toutes les protéines à groupement thiol (-SH) elles sont capable de réduire les espèces réactive de l'oxygène et de restituer leur conformation aux protéines oxydées (Vamecq *et al.*, 2004 ; Haleng *et al.*, 2007).

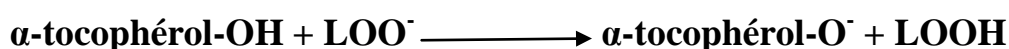
Trois variantes de la thiorédoxine sont codés par trois gènes différents ; thiorédoxine (1) cytosolique, thiorédoxine (2) mitochondriale et la troisième au niveau des spermatozoïdes. Une fois oxydées, la thiorédoxine réduite par la thiorédoxine réductase (Txnr) qui est une enzyme possédant un groupement séléno-cysteine au niveau de son site actif, elle intervient aussi dans la dégradation du peroxyde d'hydrogène et dans régénération du radicale ascorbyle en acide ascorbique (Vamecq *et al.*, 2004 ; Haleng *et al.*, 2007).



I.2.3. Des antioxydants exogènes non enzymatiques

I.2.3.1. La vitamine E

La vitamine E est l'antioxydant liposoluble qui a la plus grande concentration molaire cellulaire. On ne dénombre pas moins de huit formes de vitamine E dont la plus active est le α -tocophérol (Halliwell, 1989 ; Vamecq, 2004). Elle permet de diminuer la peroxydation lipidique dans la membrane cellulaire. Elle agit en neutralisant les radicaux libres, devenant elle-même un radical non toxique selon la réaction (Halliwell, 1989) :



Le α -tocophérol porteur d'un radical peut réagir avec un nouveau radical libre pour former une espèce neutre, ou être régénéré par la vitamine C (Halliwell, 1989 ; Vamecq, 2004).

I.2.3.2. La vitamine C

Cette vitamine est un antioxydant hydrosoluble qui n'est pas synthétisée par notre organisme (Ji & Leichtweis, 1997). Sa concentration dépend en grande partie de l'alimentation. Elle joue un rôle important dans la protection de divers substrats biologiques comme l'ADN, les protéines et les acides gras. Lors de son oxydation en acide déshydro ascorbique, elle passe à une forme radicalaire intermédiaire (radical ascorbyle) qui joue un rôle essentiel dans la régénération de la vitamine E (Halliwell, 1989 ; Ji & Leichtweis, 1997).

I.2.3.3. Les caroténoïdes

Ils sont majoritairement représentés par la β -carotène, appelée aussi « provitamine A » (Haleng *et al.*, 2007) .

La plupart des caroténoïdes et la vitamine A interagissent avec l'oxygène singulet et ainsi empêchent l'oxydation de plusieurs substrats comme les acides gras polyinsaturés (Haleng *et al.*, 2007).

I.2.3.1. Les polyphénols

Les polyphénols constituent un vaste ensemble de molécules comprend au moins un noyau aromatique et un ou plusieurs groupement hydroxyles. Ils se répartissent en acides phénoliques, flavonoïdes, lignanes et stilbénes. Ce sont de puissants antioxydants qui neutralisent les espèces réactives de l'oxygène en cédant un atome d'hydrogène (Haleng *et al.*, 2007 ; Eboh, 2014).

I.2.3.5. Oligoéléments

Le cuivre (Cu^{2+}), le zinc (Zn^{2+}), le manganèse (Mn^{2+}), le sélénium (Se^{2+}) et le fer (Fe^{2+}) sont des métaux essentiels dans la défense contre le stress oxydant. Toutes les enzymes antioxydantes requièrent un cofacteur pour maintenir leur action catalytique (Figure 02). Ainsi, la SOD mitochondriale a besoin de manganèse, la SOD cytosolique de cuivre et de zinc, la catalase de fer et la GPx se sélénium. (Goussard, 1999 ; Haleng *et al.*, 2007).

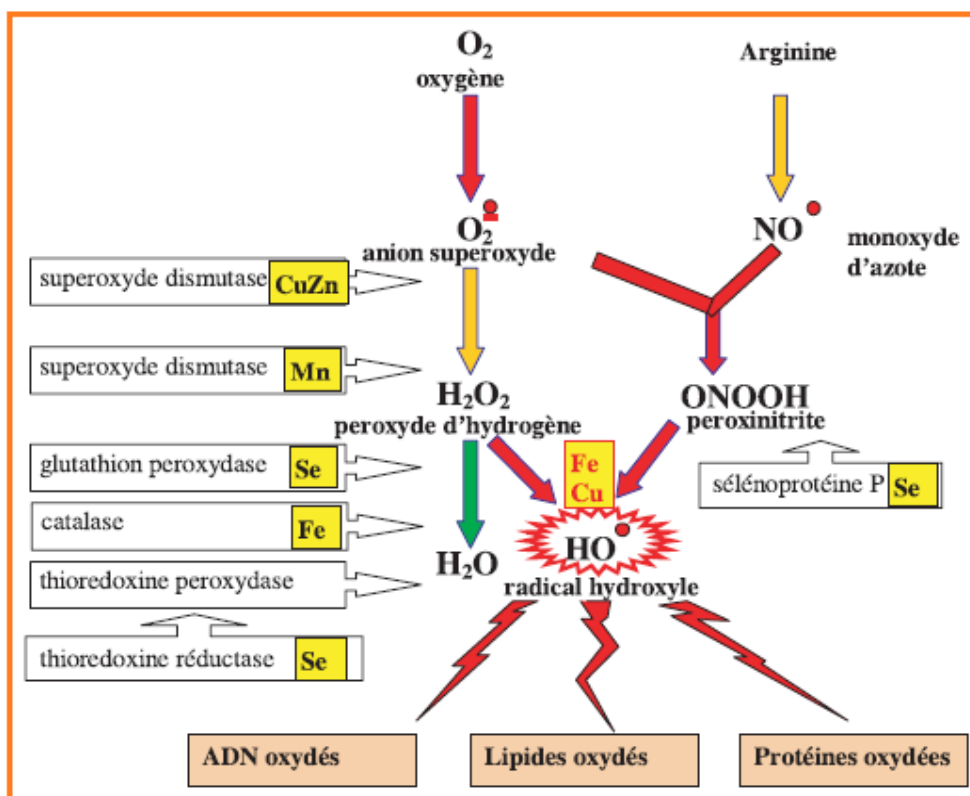


Figure02 : Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques (Favier, 2003).

Chapitre II

Les polysaccharides

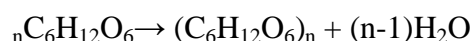
II.1. Définition

Les polysaccharides qui sont appelés polyosides ou glycanes, sont formés de nombreuses unités monosaccharidiques liées entre elle par liaison glucidique. Les polysaccharides peuvent être linéaires ou, au contraire, ramifiées (Percheron *et al.*, 1981; Florain *et al.*, 2005 ; Hennen, 2006 ; Moussard, 2010).

Les polysaccharides présents dans la plupart des organismes vivants, se trouve dans les algues, les animaux et principalement dans les végétaux. On distingue les polysaccharides homogènes et les polysaccharides hétérogènes (Hames *et al.*, 2006 ; Moussard, 2010 ; Gabert et Galons, 2011).

II.2. Structure et classification des polysaccharides

Les polysaccharides présentent une polymérisation et une condensation avec masse moléculaire élevée. Les deux unités contiguës sont attachées par une liaison osidique qui résulte de l'élimination d'eau entre l'hydroxyle hémiacétalique C1 d'un monosaccharide et un autre hydroxyle du monosaccharide dans l'une des positions suivantes : C2, C3, C4, C5 ou C6 du cycle pyranosidique voisin selon cette équation (Voet & Voet, 2005 ; Hames *et al.*, 2006) :



La nature des liaisons osidiques d'un polysaccharide donné dépend de sa source. Ces liaisons peuvent être à la configuration α ou β selon la conformation du groupement hydroxyle (-OH) des carbones C2, C3, C4 ou C6. La configuration α ou β de la liaison osidique est d'importance capitale puisqu'elle à une très grande influence sur la conformation de la chaîne d'où résultent certaines propriétés des polysaccharides. La chaîne des unités glucosidiques ainsi formée peut être linéaire ou branchée (Voet & Voet, 2005 ; Hames *et al.*, 2006 ; Gabert & Galons, 2011).

La majorité des polysaccharides naturels est formée à partir de 80 à 100 unités de glucose. Pourtant, certains polysaccharides naturels comme la cellulose (approximativement 3000 unités) et l'amidon (250-500 unités) dépassent largement ce nombre d'unités (Robyt, 1998).

Les polysaccharides peuvent être classés selon la base de leur composition en monomère en deux groupes :

II.2.1. Homopolysaccharides

C'est la forme la plus abondante à l'état naturel. Les homopolysaccharides sont formés par la condensation répétitive d'un ose par liaison glycosidique, dépassant 10 unités pour atteindre plusieurs centaines ou milliers. On peut les subdiviser en deux catégories par rapport à leur fonction sont constitués aussi d'un seul type d'ose : Les homopolysaccharides de réserve et les polysaccharides de structure (Weil *et al.*, 1983 ; Voet & Voet, 2005 ; Hames *et al.*, 2006 ; Gabert & Galons, 2011).

II.2.1.1. Les homopolysaccharides de réserve

A. L'amidon

C'est la principale substance de réserve d'hydrates de carbone des végétaux, il est composé de longues chaînes de molécules de glucose, reliées entre elle de façon un peu différente. L'amidon a deux structures variées : l'amylose (20%) et l'amylopectine (80%), distingués par présence ou non de ramifications (Weil *et al.*, 1983 ; Voet & Voet, 2005 ; Moussard, 2010).

A₁.L'amylose

C'est un homopolysaccharide linéaire formé par des unités D-glucopyranose réunies par des liaisons α (1-4) (Figure 03) (Weil *et al.*, 1983 ; Voet & Voet, 2005 ; Moussard, 2010).

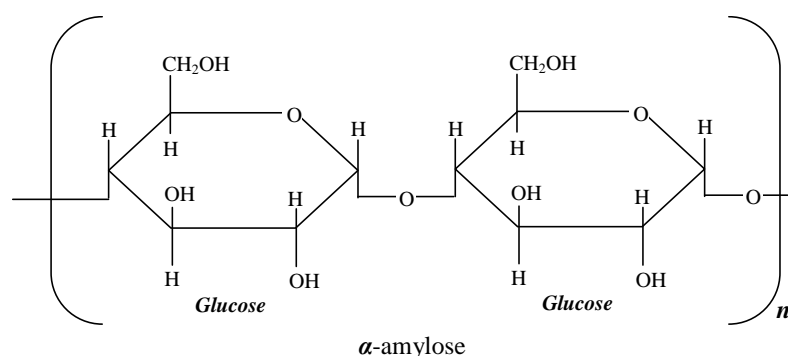


Figure03 : La structure chimique de l'amylose (Voet& Voet, 2005).

A₂. L'amylopectine :

C'est un polysaccharide ramifié, constitués des chaînes d'unités de D-glycopyranose reliés par liaison α (1-4), ces chaînes étant réunis entre elles par liaisons α (1-6). Il existe environ un branchement pour 20 à 25 unités de D-glucose (Figure04) (Weil *et al.*, 1983 ; Voet & Voet, 2005 ; Moussard, 2010).

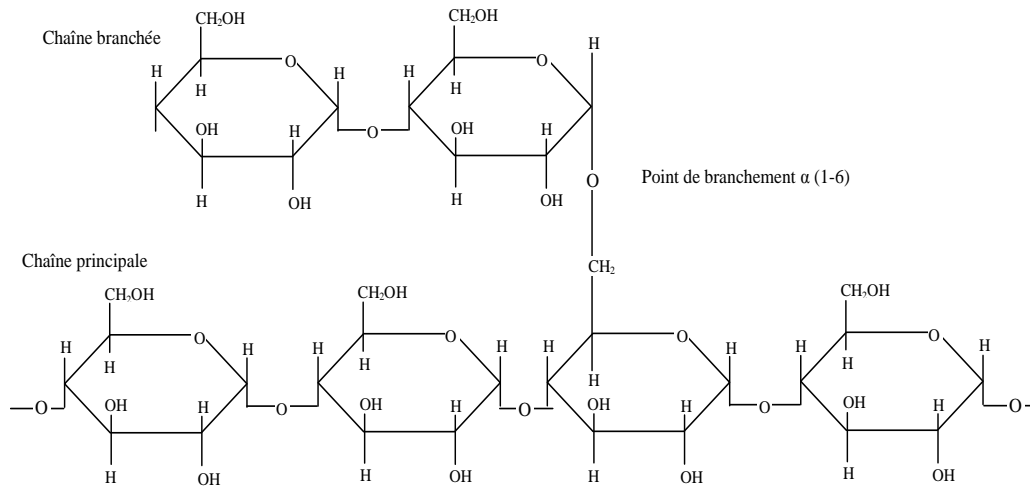


Figure04 : La structure chimique de l'amylopectine (Gabert & Galons, 2011).

III.2.1.2. Les homopolysaccharides de structure

A. La cellulose

C'est un polysaccharide le plus répandu des parois cellulaires rigides des cellules végétales. Elle est aussi organisée pour donner leur structure aux plantes et aux arbres (Florian *et al.*, 2005 ; Hennen, 2006).

La cellulose est un polymère d'unité glucose réunies par liaison β (1-4). L'abondance des liaisons hydrogène assure la cohésion entre les chaînes (Figure 05), formant des fibres solides. La cellulose est utilisée intensivement pour la construction (bois et dérivés) et la fabrication du papier (Florain *et al.*, 2005 ; Voet & Voet, 2005 ; Merghem, 2009 ; Moussard, 2010).

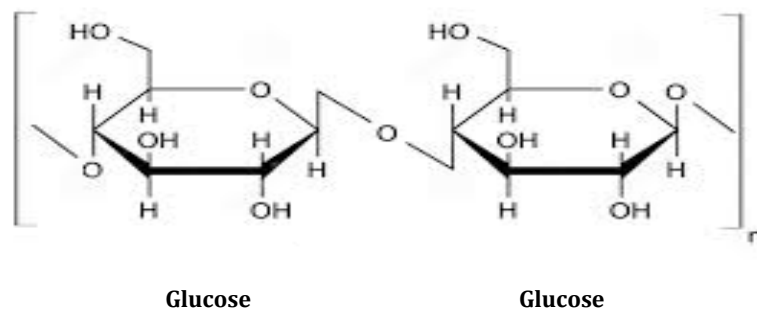


Figure 05 : La structure chimique de la cellulose (Voet & Voet, 2005).

B. La chitine

La chitine est un polymère naturel, résulte de l'enchaînement linéaire des unités de N- acétyl-D-glucosamine réunies par liaison β (1-4) (Figure 06). Avec des protéines auxquelles, il s'associe, il est constituant de l'exosquelette des insectes, arthropodes, araignées et crustacés, on le trouve aussi dans les parois cellulaires des champignons et de nombreuses algues. Son importance pour la biomasse approche de la cellulose (Weil *et al.*, 1983 ; Florain *et al.*, 2005 ; Voet & Voet, 2005 ; Moussard, 2010).

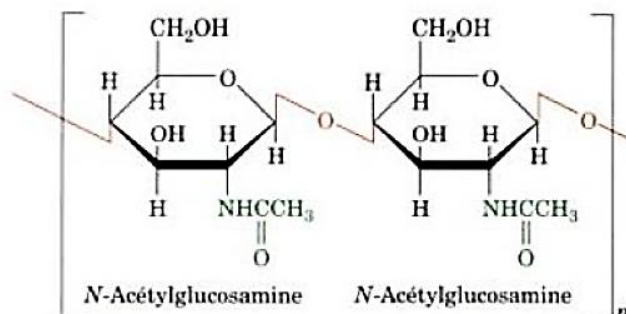


Figure 06: Structure chimique de la chitine (Voet & Voet, 2005).

II.2.2. Les hétéropolysaccharides

Les hétéropolysaccharides sont généralement formés de quelques types de monosaccharides qui alternent selon une séquence répétitive. Il existe deux types différents d'hétéropolysaccharides : les hétéropolysaccharides neutres et hétéropolysaccharides acides (Voet & Voet, 2005).

Les hétéropolysaccharides neutres sont fréquemment rencontrés dans les graines, les racines et le bois des végétaux supérieurs. Les hétéropolysaccharides acides sont des structures complexe et ramifiée contenant du : D-galactose, L-arabinose, les acides pectiques, et l'hémicellulose, Cette dernière représente une chaîne constituée des unités D-xylopyranose reliées par des liaisons β (1-4) avec des branchements contenant l'acide uronique et par fois l'arabinose (Percheron *et al.*, 1981).

A. La gomme

Il s'agit de polysaccharides qui au contact de l'eau forment des gels ou des solutions colloïdales et que l'on regroupe parfois sous le vocable d'hydro-colloïdes. Les gommes sont des substances qui exsudent des végétaux traumatisés et qui calment la plaie. Les gommes sont insolubles dans les solvants organiques ce qui les différencie des résines. Elles sont fréquemment formées chez les rosales et les légumineuses (Merghem, 2009).

B. Les mucilages :

Ce sont des polymères complexes, formés d'oses neutres et acides. Les mucilages peuvent également provenir de graines, les plus utilisés sont le psyllium et l'ispaghule (Basdevant *et al.*, 2002).

C. L'hémicellulose

Il s'agit de polysaccharides complexes formés d'une chaîne principale, constituée du même ou de différents oses et portant des chaînes latérales de composition osidique variée.

Les oses constitutifs sont des pentose (xylose, galactose, glucose) ou acides (acides uroniques). La dénomination des hémicelluloses dépend le plus souvent des oses constituant la chaîne principale : xylanes, mannanes, galactane, arabino-galactanes, arbinogalactanes ou glucanes (Basdevant *et al.*, 2002 ; Bruneton, 2009).

D. La pectine

Les pectines proviennent de la lamelle et de la paroi des cellules des végétaux supérieurs. Elles servent de ciment intercellulaire. Elles constituent également la peau des fruits (orange 30%, pomme 15%, oignon 12%) (Merghem, 2009).

Ce sont des polygalacturonanes très hydrophiles qui constituent la matrice au sein de laquelle on retrouve les fibres de cellulose de la paroi. Les pectines sont constituées d'unités α (1-4) galacturoniques, sur lesquelles sont intercalées des unités de L-rhamnose et associées à d'autres sucres (pentoses ou d'hexoses).

Les pectines sont abondantes dans les fruits charnus immatures. D'abord insolubles, elles assurent une certaine rigidité aux tissus, puis sont dégradées en sucres et en acides au cours du mûrissement. Elles sont obtenues par extraction à partir de pulpe résiduelle de citrons et de pommes (Bruneton ,2009 ; Merghem , 2009).

E. L'inuline

Ces composés sont des polymères du fructose, reliés par de liaisons β (2-1) à des résidus glucoses. Tout comme l'amidon, ils représentent des formes de stockage de produits issus de la photosynthèse et sont retrouvés dans les vacuoles.

L'inuline est majoritairement présente chez les Astéracées, les Boraginacées et les Campanulacées (Dicotylédones) (Bruneton, 2009 ; Merghem, 2009).

F. La lignine

Elle est retrouvée dans les parois secondaires des végétaux et confère à celui-ci sa rigidité, son imperméabilité et sa résistance. Il s'agit d'un hétéropolymère tridimensionnel constitué d'unités phénylpropaniques. C'est un composé très hydrophobe, généralement peu abondant dans les tissus végétaux ingérés par l'homme (Bruneton, 2009).

Chapitre III

Matériels et methodes

III. Matériel et méthodes

III.1. L'extraction des polysaccharides hydrosolubles

III.1.1. Origine de la plante

Les feuilles de *Ziziphus lotus* (Photo 01), ont été collectées en automne 2016, qui est une subdivision à dominante rurale de la région Chaaba Arassas à Constantine. Elles sont nettoyées et séchées à l'ombre ensuite broyées avant leurs utilisations pour la préparation de l'extrait.

A. Description botanique du *Ziziphus lotus*

Le nom « *Ziziphus* » est souvent écrit par erreur comme *Zizyphus*. Le nom provient de la version latinisée du nom vernaculaire arabe « Zizouf » pour *Z. jujuba*. Le nom spécifique dérive de son nom commun Christ épine.

Le *Zizyphus lotus* (le jujubier) communément appelé dans pays Marocain « Sedra » (nom arabe locale :sidr, siddi, nubak, nabdag, nabbak, nabak, nbeg, kurna)est un arbuste fruitier, épineux (Photo 01) appartenant à la famille des Rhamnacées. Il s'étale sur quelques mètres de diamètres avec une hauteur qui peut arriver jusqu'à 2 mètre (Borgi *et al.*, 2007).

Les épines par paires : une droite l'autre courbée. Feuilles glabres sur la surface supérieure, courtement ellipsoïdes ou ovales-ellipsoïdes, arrondies à la pointe. Les marges presque entières, latérales et les veines sont remarquables. Chaque feuille porte à sa base les deux épines inégales.

Les fleurs sont jaunes, pentamètres et groupées en inflorescence cymeuses. Les fruits sont des drupes à noyaux soudés, l'endocarpe mucilagineux appelé « nbeg ».

B. Classification botanique

Selon sa classification cet arbuste épineux appartient à la famille des Rhamnacées (Ozenda, 1958).

Embranchement : Spermatophytes.
 Sous-embranchement : Angiospermes.
 Sous-classe : Dicotylédone.
 Ordre : Celastrales.
 Famille : Rhamnacées.
 Genre : *Ziziphus*.
 Espèce : *Ziziphus lotus*.

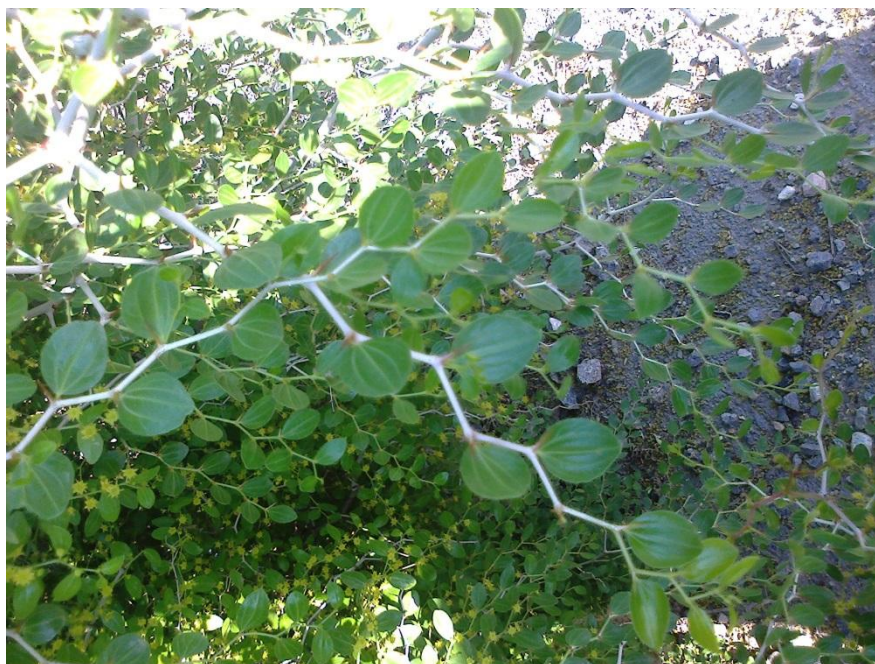


Photo 01 : Les feuilles de *Ziziphus lotus*.

C. Distribution de l'espèce étudiée

- **Originaire de** : Tchad, Djibouti, Erythrée, Éthiopie, Kenya, Jamahiriya, arabe libyenne, mali, Mauritanie, Nigéria, Pakistan, Sénégal, somalie, Tunisie, Turquie, Zimbabwe.
- **Exotique** : Algérie, Comores, Égypte, inde, Iran, Irak, Israël, Jordanie, Madagascar, maroc, Pays-Bas, Arabie Saoudite, République Arabe syrienne, Emirats Arabes Unis, Zanzibar.

D. L'utilisation traditionnelle

Le Jujubier de Berberie (*Ziziphus lotus*), est de la famille des Rhamnacées. Cette espèce spontanée est à usage multiple. Depuis l'antiquité, elle est utilisée comme nourriture, ses fruits (nebeg) sont appréciés comme aliment. Dans les pays Arabe, le jujubier est considéré comme

plante médicinale fréquemment utilisée en médecine traditionnelle et qui prend son importance dans les rites religieux. Des travaux récents ont montré les activités anti-inflammatoires, les activités analgésiques, antispasmodiques et même des effets antioxydants prouvés des extraits de leur fruit (Kao & Chen, 2014).

IV.1.2. Extraction et semi-purification des polysaccharides hydrosolubles

L'extraction des polysaccharides s'effectue par nombreuses méthodes selon le type polysaccharides; certains sont soluble dans l'eau (Chaude, froide), leur extraction se fait par l'eau chaude ou froide, et d'autres insoluble dans de l'eau sont extraits par les acides, les bases, les sels. La méthode utilisée dans cette étude est l'extraction à l'eau chaude.

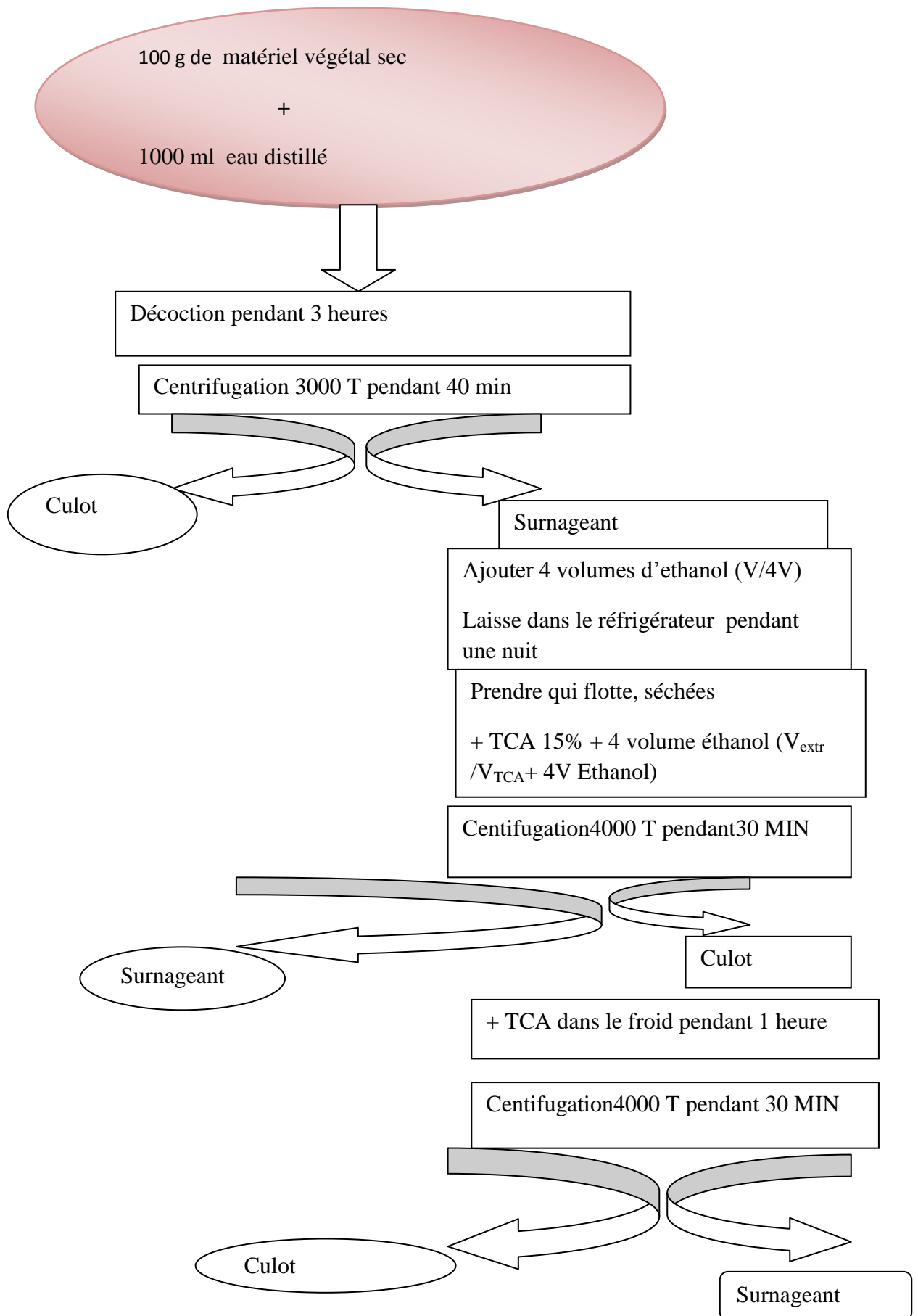
A. Extraction des polysaccharides à l'eau chaude

L'extraction des polysaccharides est réalisée à partir de l'extrait aqueux des feuilles de la plante médicinale *Ziziphus lotus* à l'eau chaude pendant 3 heures puis précipités par l'éthanol 96% (El-sayed, 1982 ; Basu *et al*, 1984).

B. La semi-purification des polysaccharides

Les protéines liées aux polysaccharides extraits sont enlevés par l'acide trichloracétique (TCA : $C_2HCl_3O_2$) suivi de l'acétate de sodium ($C_2H_3NaO_2$) (Proksch & Wanger, 1987 ; Wagner & Jordon, 1988).

L'extrait obtenue a été précipité dans l'éthanol absolu et lyophilisé jusqu'à l'obtention d'un solide facile à broyer. Ensuite, il est utilisé *in vitro* à différentes concentrations pour des tests de l'activité antioxydante.

C. Extrait poudre par la méthode de l'eau chaude :

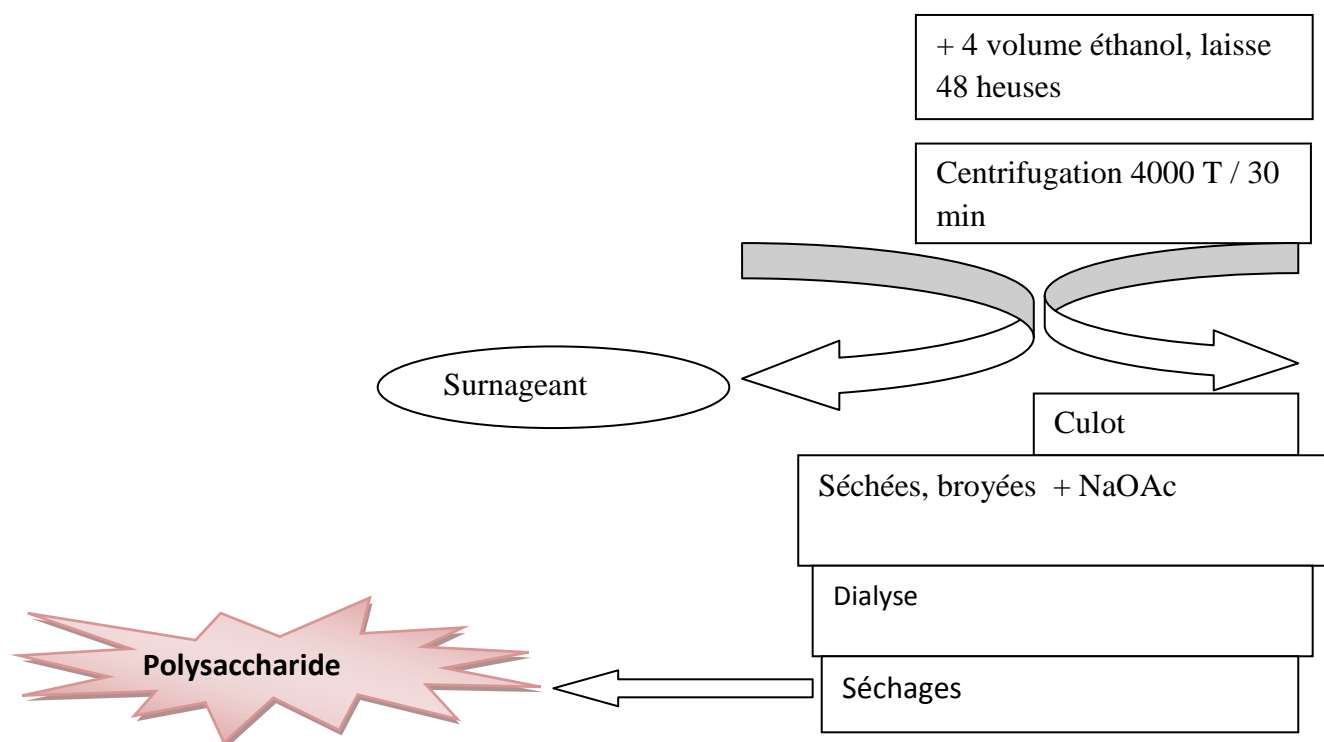


Figure 07 : Protocole de préparation de l'extraction de polysaccharide par eau chaud

III.2. L'activité antioxydante *in vitro*

Dans notre étude nous avons utilisés différents tests chimiques à savoir : l'effet scavenger sur le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH[·]), le test de molybdate et le test ferricreducing/antioxydant power assay (FRAP) qui mesure le pouvoir de réduction des ions ferriques.

III.2.1. Test de neutralisation du DPPH[·]

A. Principe

Le test au 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) permet de mesurer le pouvoir réducteur par le calcul de la CI_{50} des substances antioxydantes contenues dans un extrait. Le DPPH est un radical libre de couleur violette qui devient jaune quand il est réduit par un donneur de proton H^+ .

B. Méthode de dosage

L'activité antioxydante *in vitro* a été évaluée par la mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH selon la méthode décrite par (Wang *et al*, 2011) 1,5 ml de la solution d'extrait

glycosidique testée à différentes concentrations (des dilutions en série de l'extrait) (0.15, 0.31, 0.62, 1.25, 2.50, 5 et 10 mg/ml) est mélangé avec 0,5ml d'une solution méthanolique de DPPH[·] (0,2 mmol). Après une période d'incubation de 30 minutes à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance est mesurée à la longueur d'onde de 517 nm. L'inhibition du radical libre DPPH par l'acide ascorbique a été également analysée à la même concentration pour faire la comparaison. Tous les essais ont été effectués trois fois.

C. Les paramètres de calcul

On détermine les paramètres de calcul de l'activité antioxydante pour l'acide ascorbique et pour l'extrait brute des polysaccharides.

C₁. Calcul du pourcentage d'inhibition

$$\% \text{ d'Inhibition} = [(Abs_{control} - Abs_{\text{échantillon}}) / Abs_{control}] \times 100$$

Avec : $Abs_{control}$: absorbance du control et $Abs_{\text{échantillon}}$: absorbance de l'échantillon.

C₂. Détermination d'IC₅₀

L'IC₅₀ est la concentration d'extrait nécessaire pour l'obtention de 50% de la forme réduite du radical DPPH. Ce paramètre est inversement lié à la capacité antioxydante.

Les valeurs de l'IC₅₀ ont été estimées à partir des % d'inhibition par rapport à la courbe sigmoïde de concentration par analyse de régression non linéaire.

III.2.2. Test de la capacité antioxydante totale (TAC)

A. Principe :

La capacité antioxydante totale (TAC) de l'extrait de la plante *Z. lotus* est évaluée par la méthode de Phosphomolybdène. Cette technique est basée sur la formation de molybdène MoO₄²⁺ présent sous la forme d'ions molybdate MoO₄²⁻ en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate/ MoO₄²⁺ à un pH acide (Prieto et al., 1999).

B. Préparation de solution de réactif de molybdate :

- 1.19 g Na₃PO₄ + 1.24 g molybdate
- Ajouter 100 ml eau distillé et agiter la solution
- Ajouter 8.41 ml acide sulfurique

- Transférer dans une fiole et compléter jusqu'à 250 ml avec eau distillé

B. Méthode de dosage :

Les polysaccharides solubles des feuilles de *Zizyphus lotus* avec différentes concentrations (50 µg/ml jusqu'à 600 µg/ml), sont ajoutées à 1 ml du réactif de molybdate d'ammonium (28mM de Na_3PO_4 , 4mM de $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_7 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0,6 M de H_2SO_4) (Prieto *et al.*, 1999). Les tubes sont vissés et incubés à 95°C pendant 90 min. Après refroidissement, l'absorbance des solutions est mesurée à 695 nm (Phatak & Hendre, 2014). Le contrôle positif est représenté toujours par une solution de l'antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration le test est répété 3 fois.

III.2.3. Test du pouvoir réducteur (RP)

A. Principe :

Ce test (RP : *reducing power*) est basé principalement sur la capacité de l'extrait à convertir le fer de la forme à Fe^{3+} à la forme Fe^{2+} . Cette réaction se manifeste par l'apparition de couleur bleu-verte (reflétant la formation du complexe entre : le ferricyanide de potassium, l'acide trichloro-acétique et le chlorure ferrique) mesurable à 700 nm, Donc une absorbance élevée indique que l'extrait possède un grand pouvoir réducteur.

B. Méthode de dosage

Le pouvoir réducteur a été déterminé en appliquant la méthode de (Fan *et al.*, 2011) ; avec quelques modifications. On ajoute 2,5 ml d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH6,6) et 2,5 ml de 1% $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ à 2,5 ml des différentes concentrations de l'extrait ou de l'acide ascorbique. Après incubation de 20 min au bain marie à 50 C°, on ajoute 2,5 ml d'une solution aqueuse du TCA (10%) au milieu réactionnel. Le mélange a été agité et centrifugé à 3000 rpm/10 min. Un aliquote (2,5ml) de surnageant est combinée avec 2,5ml d'eau distillée et 0,5ml d'une solution aqueuse de FeCl_3 à 0,1%. La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700nm contre un blanc semblablement préparé et les résultats sont comparés avec ceux de l'acide ascorbique. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés.

résultats et discussion

IV. Résultats et discussion

IV.1. Le rendement en polysaccharides

La teneur de l'extrait aqueux de *Ziziphus lotus* en polysaccharides bruts est uniquement de 6,5 % du poids sec des feuilles.

IV.2. L'activité antioxydante

L'activité antioxydante est tributaire de la mobilité de l'atome d'hydrogène du groupement hydroxyle des polysaccharides de l'extrait aqueux de *Ziziphus lotus* (PsZI). En présence d'un radical libre DPPH[•], l'atome H est transféré sur ce dernier pour le transformer en une molécule stable DPPH. Ceci provoque une diminution de la concentration du radical libre et également l'absorbance au cours du temps de réaction jusqu'à l'épuisement de l'antioxydant donneur d'hydrogène.

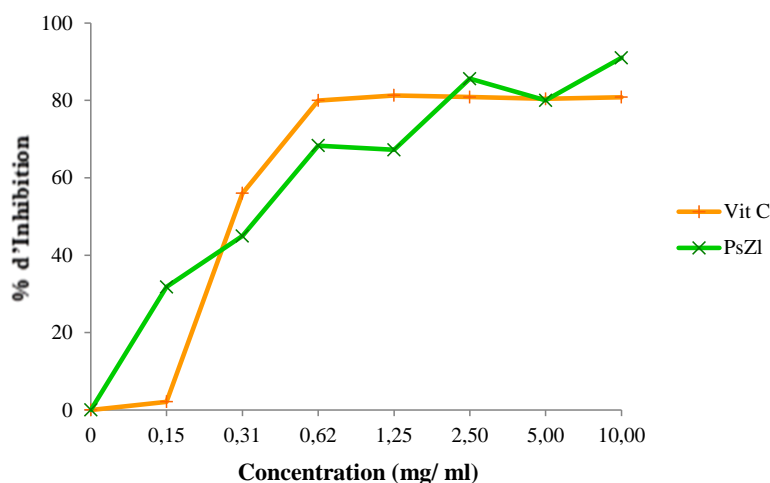


Figure 08 : Pourcentage d'inhibition du DPPH[•] en fonction de la concentration de l'extrait Brut des polysaccharides (PsZI) et de l'acide ascorbique.

Les résultats montrent que le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH[•] augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour l'acide ascorbique ou pour les polysaccharides des feuilles de *Z. lotus* (figure 08). On observe que le pourcentage de balayage de l'extrait est dans

l'ensemble proche de celui de l'acide ascorbique. Ainsi, le pourcentage d'inhibition de l'extrait testé montre que l'effet est remarquable dépassant 90% à une concentration de l'extrait de l'ordre de 10 mg/ml.

Selon les résultats enregistrés, l'extrait PsZI possède une EC_{50} de 0,35 mg/ml mais relativement faible que celle de la vitamine C dont la valeur est de l'ordre de 0.26 mg/ml. En fait, la concentration efficace (EC_{50}) exprime la quantité de l'extrait antioxydant nécessaire pour le piégeage et la réduction de 50% de moles de $DPPH^{\bullet}$ en dissolution dans du méthanol.

Il est démontré que les polysaccharides du champignon *Cariolusversicolor* possèdent *in vitro* un effet piègeur des radicaux libres (Flandroy, 1996) ce qui concorde avec nos résultats. De même, un polysaccharide de la fougère *Lygodium Japonicum* a montré une forte activité antioxydante contre le $DPPH^{\bullet}$ et réduit le fer ferrique. Ainsi que l'effet inhibiteur du polysaccharide purifié était plus faible que celui de l'acide ascorbique à la même dose (Li *et al.*, 2003). Ces résultats sont semblables à ceux obtenus dans l'étude récente sur extrait brut des polysaccharides du thé *Camellia sinensis* (Yang *et al.*, 2011).

En effet, ces résultats de l'activité antioxydante des PsZI contre le $DPPH^{\bullet}$ ont été consolidés par ceux de la remarquable capacité antioxydante totale (TAC) et qui est finement identique à celle de l'acide ascorbique (figure 09). En arrivant à la concentration 700 $\mu\text{g/ml}$ l'extrait brut des polysaccharides des feuilles de *Z. lotus* dans le milieu réactionnel fait apparaître une absorbance maximale reflétant la formation totale du complexe vert le phosphomolybdène (100 %). Cette absorbance maximale est la même pour la vitamine C à partir de la même concentration.

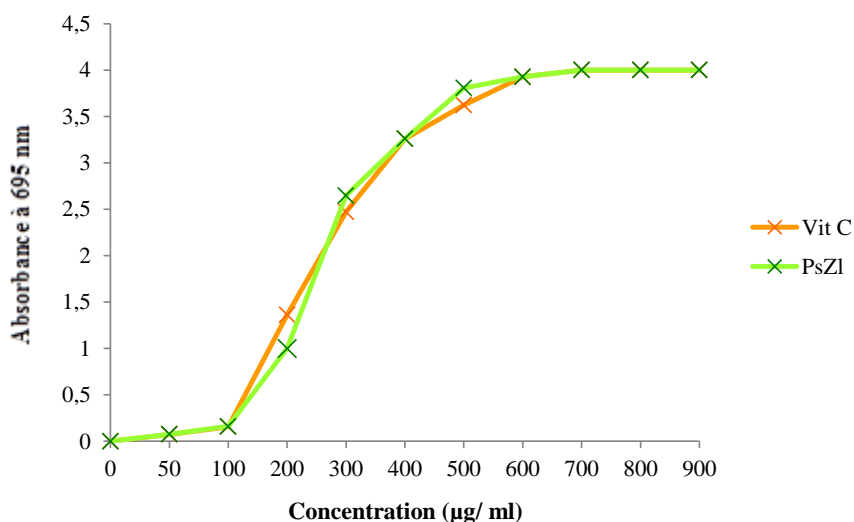


Figure 09 : La réduction du molybdène en présence de l'extrait brut des polysaccharides (PsZI) et de l'acide ascorbique.

En revanche, dans l'ensemble des concentrations utilisées (0.5 à 10 mg) la transformation ferrique-ferreux par l'extrait PsZI est nettement minimal et fortement inférieur à celui enregistré sous l'action de l'acide ascorbique (figure 10).

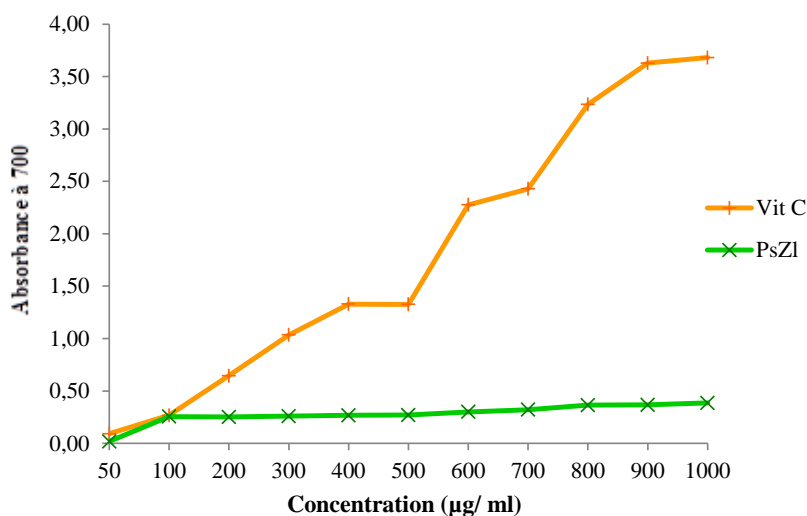


Figure 10 : Le pouvoir réducteur de l'extrait brut des polysaccharides (PsZI) et de l'acide Ascorbique (Vit C).

Généralement, la présence des réducteurs dans les extraits des plantes provoque la réduction de Fe^{3+} /complexe ferricyanide à la forme ferreux. Par conséquent, le Fe^{2+} peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu dans le milieu réactionnel à 700 nm. En d'autre terme, le système $\text{FeCl}_3/\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ confère à la méthode la sensibilité pour la détermination « semi-quantitative » des concentrations des polysaccharides qui participent à la réaction (Ibrahim & El-hela, 2012).

D'une part, l'augmentation de l'absorbance avec un rythme faible tend d'être constante ou bien stable et qui ne dépassent pas 10.47 % de l'action de la vitamine C. Cependant, même si les valeurs de l'absorbances été basses mais ils montrent qu'il y a une certaine réactivité prouvant

l'existante de la capacité réductrice ($\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$) des polysaccharides aux concentrations testées. Ces résultats sont semblables avec ceux enregistrés dans l'étude de Chen et ses collaborateurs (2013) menée sur les polysaccharides extrait à partir du thé vert de qualité inférieure.

Généralement, nos résultats des trois tests réalisés concordent avec ceux observés dans l'étude de Ibrahim et El-hela (2012) menée sur un polysaccharide extrait à partir des racines de la plante *Polygonum equisetiforme*.

En fait, l'augmentation de l'activité antioxydante *in vitro* pourrait théoriquement être associée à l'effet préventif attribué généralement aux polysaccharides.

Conclusion

V. Conclusion et Perspectives

Cette étude a participé à l'évaluation des effets biologiques des polysaccharides extraits par l'eau chaude à partir des feuilles de la plante médicinale *Ziziphus lotus*.

Nos résultats suggèrent que ces composés hydrosolubles, dans un milieu contenant un accepteur d'électrons comme le DPPH^{*} ou un accepteur de protons possèdent une capacité de les réduire facilement. Cette activité ressemble celle de l'antioxydant standard l'acide ascorbique.

Par conséquent, on peut considérer ces polysaccharides comme des réducteurs et inactivateurs des oxydants. Cependant, l'activité réductrice des polysaccharides bruts de l'extrait aqueux des feuilles de *Ziziphus lotus* (PsZl) est expliquée par la mobilité de l'atome d'hydrogène du groupement hydroxyle de chaque ose rentrant dans leur composition.

En réalité, cette étude reste une simple expérience pour la mise en évidence du rôle des polysaccharides dans l'élimination des radicaux libres. Cependant, et dans le but que ces produits naturels seront utilisés comme des antioxydants, il faut approfondir cette étude en :

- mesurant *in vivo* l'effet de cet extrait de polysaccharides sur la catalase et sur d'autres enzymes de la défense antioxydante.
- étudiant l'efficacité de ces molécules dans des cas pathologique, en les employant dans la protection à longue durée comme traitement ou comme adjuvant
- procédant aux techniques d'analyse de fractionnement et de purification dans le cadre de la mise en évidence du principe actif et afin d'étudier leurs propriétés physico-chimiques et la relation entre la structure et la fonction.

En fait, les phytomédicaments pharmacologiquement actifs, préparés avec des plantes dépourvues de toxicité, ouvrent des perspectives thérapeutiques nouvelles tout à fait intéressantes. Il nous reste qu'à souhaiter que l'industrie pharmaceutique continue à développer les recherches dans ce domaine, car bien souvent les principes actifs ne sont pas identifiés avec précision et il reste quelques milliers de plantes à étudier.

Références

Bibliographiques

Références Bibliographiques

A

Abheri. D. S ; Anisur. R. M & Ghosh. A. K. (2010). Free radicals and their role in different clinical conditions: an overview. *International journal of pharma sciences and research.* 1(3) : 185-192.

Al-Dalaen. S. M & Al-Qtaitat. A. I. (2014). Review article : Oxidative stress versus antioxidants. *American Journal of Bioscience and Bioengineering.* 2(5) : 60-71.

B

Basu. N. G ; Chosal. D. C. & Thakur. S. (1984). Structural Studies on a Polysaccharide Fraction from Fruits of *Cardia dichotoma Forst.* *Carbohydrate Research.* 131 : 149-155.

Basdevant. A ; Lavillie. M & Lerebours. E. (2002). Traité de nutrition clinique de l'adulte. Flammarion, Paris. p : 150-148.

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

Bruneton. J. (2002). Pharmacologie, phytochimie, plantes médicinales. Ed : TEC et DOC. p : 77-87.

C

Chen. P ; Zhang. Y ; Zhu. L ; Jin. H ; Zhang. G ; Su. D. & Li. J. (2013). Chemical Analysis and Antioxidant Activity *in vitro* of Polysaccharides Extraction from Lower Grade Green Tea. *Advanced journal of Food Science and Technology.* 5 (10) : 1355-1360.

D

Deby-Dupont. G ; Deby. C & Lamy. M. (2002). Données actuelles sur la toxicité de l'oxygène, Réanimation. *Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS.* 11 : 28-39.

Dröge. W. (2002). Free Radicals in the Physiological Control of *Cell Function.* *J : PhysiolRev.* 82 : 47-95.

E

Eboh. A. S. (2014). Review Article. Biochemistry of free radicals and oxidants scholars. *Academic journal of biosciences (SAJB)*. 2(2) : 110-118.

EL-Sayed. M. M. (1982). The Polysaccharides of the Brown Seaweed *Tubinarianurayana*. *J : Carbohydrate Research*. 110 : 277-287.

F

Fan. Y ; Ge. Z & Luo. A. (2011). *In vitro* antioxidant activity of polysaccharide from *Gardenia jasminoides Ellis*. *Journal of Medicinal Plants Research*. 5(14) : 2963-2968.

Favier. A. (2003). Stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *J : L'actualité chimique*. P : 108-115.

Flandroy. L. (1996). Histoire stimulante des Sucres. Glycobiologie. *J : Biofutur*. 159 : 35-41.

Florian. H ; Lindenmeier. G ; Moc. I ; Berghold. C ; Sneider. N ; Munster. B & Grillhòsl. C. (2005). Chapitre 3 : Cellule et chimie- Les glucides ou hydrates de carbone. Biochimie Humaine. Ed : Flammarion, Paris. p : 23-32.

G

Gabert. J & Galons. H. (2011). Chapitre 14 : Glucides : Structure et fonctions. Atomes Biomolécules Génome Bioénergétiques Métabolisme. Ed : Flammarion, Paris. p : 194-201.

Gardés-Albert. M ; Bonnefont-Rousselot. D ; Abedinzadeh. Z & Jore. D. (2003). Espèce réactives de l'oxygène. *J : Mécanisme biochimiques*. p : 91-95

Goussard. J-P. (1999). Les radicaux libres et les antioxydants. p : 2-10.

H

Haleng. J ; Pincemail ; Defraigne. J. O ; Harlier. C. C & Chapelle. J. P. (2007). Le stress oxydants. *J : Rev Med Liege*. 62(10) : 628-638.

Halliwell. B. (1989). Free radicals, reactive oxygen species and human disease: a critical evaluation with special reference to atherosclerosis. *Br J ExpPathol*. 70 : 737-757.

Halliwell. B. (2001). Free radicals and other reactive species in disease encyclopedia of life sciences. *J : Nature publishing group*. 1(3) : 185-192.

Halliwell. B & Gutteridge. J. M. (2007). Free Radicals in Biology and Medicine. Oxford University press.

Hames. B. D. N ; Hooper. M & Houghton. J. D. (2006). Chapitre J : Métabolisme d'un glucide L'essentiel en Biochimie. Ed : Berti, Paris. p : 249-287.

Hase. K. Kadota. S ; Basnet. P ; Takahashi. T & Namba. T. (1996). Protective Effect of Celosian an Acidic Polysaccharide on chemically and Immunologically Induced Liver Injuries *Biolpharm Bull.* 19(4) : 567-572.

Hennen. G. (2006). Biochimie Approche bioénergétiques et médicale. Ed : Dunod, Paris. P : 14-17.

Huet. O & Duranteau. J. (2008). Dysfonction endothéliale : rôle des radicaux libres. Endothelia ldysfunction : Involvement of reactive oxygen species. *J : Réanimation.* 17: 387-392.

I

Ibrahim. A. T & El-hela. A. A. (2012). Polysaccharide from the roots of *Polygonum quisetiforme* SIBTH & SM : isolation, chemical composition, antioxidant potential and cytotoxic activity. *International Journal of Pharma and Bio Sciences.* 3(4) : 478 -492.

J

Ji. L & Leichtweis. S. (1997). Exercise and oxidative stress : sources of free radicals and their impact on antioxidant systems. Interdepartmental Program of Nutritional Sciences, and Institute on Aging University of Wisconsin-Madison. 20 : 91-106.

K

Kao. H. T & Chen. B. H. (2014). Functional component in *Zislyphus* with emphasis on polysaccharides. *J : Polysaccharides.* 6 : 1-28.

Karuppanapandian. T ; Cheol. M. J ; Kim. C ; Manoharan. K & Kim. W. (2011). *Review article.* Reactive oxygen species in plants : their generation single, transduction and scavenging mechanisms. *Austration journal of crop science.* 5(6) : 709-725.

L

Li. X. L ; Zhou. A. G. & Han. Y. (2003). Anti-oxidation and anti-microorganism activities of purification polysaccharide from *Lygodium japonicum in vitro.* *J : Carbohydrate Polymers.* 66 : 34-42.

Lone. A. A ; Shaiq. A. Ganai. S. A ; Ahanger. R. A ; Bhat. H. A ; Bhat. T. A & Wani. I. A. (2013). Free radicals and antioxidants : Myths, facts and mysteries. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*. 7 (3) : 91-113.

M

Merghem. R. (2009). Chapitre 1 : Les glucides des végétaux. Élément de la biochimie végétale. Ed : Bahaeddine, Constantine. p : 13-40.

Miller. E. R ; Pastor-Barriuso. R ; Dalal. D ; Riemersma. R. A ; Appel. L. J & Guallar. E. (2005). Meta-analysis : High-dosage Vitamin E supplementation may increase all-cause mortality. *J : Ann. Intern. Med.* 142 : 37-46.

Moussard. C. (2010). Chapitre 5: Les glucides -Structures et propriétés. Biochimie et biologie. Ed : de boeck, Paris. p : 51-62.

N

Negre -Salvayre. A. & Salvayre. R. (2005). Effet protecteur des acides gras contre le stress oxydatif. *J : Implication en physiopathologie vasculaire*. 12(5-6) : 433-438.

O

Ozenda. P. (1958). Flore du Sahara. Septentrional et Central. *Centre National de la Recherche Scientifique* : 344-349.

P

Perceval. M. (1998). Antioxydants. *J : Clinical nutrition insights*. p : 1-4.

Percheron. F ; Perlès. R & Fogletti. M. J. (1981). Chapitre 2 : Les glucides-structure et propriétés. Abrégé de Biochimie générale 2. Ed : Masson, Paris. p : 31-77.

Prieto. P ; Pineda. M & Aguilar. M. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *J : Anal Biochem.* 269(2) : 337-41

Proksch. A & Wagner. H. (1987). Structural Analysis of A-4-O-Methyl GlucuronOArabinoxylan with Immuno-Stimulating Activity from *Echinacea purpurea*. *J. Phyto chemistry*. 26 (7) : 1989-1993.

R

Rees. F. J ; Zal. F & Thome. J. P. (2004). Enfer et paradis : la toxicité de l'oxygène chez les organismes abyssaux. *J : Océanis.* 30 (3) : 277-291.

Robyt. J. F. (1998). Essentials of Carbohydrate Chemistry, Springer-Verlag. NewYork. P : 157-168.

S

Scheibmeir. H. D; Christensen. K ; Whitaker. S. H ; Jegaethesan. J ; Clancy. R & Pierce. J. D. (2005). A review of free radicals and antioxidants for critical care nurses. *J : Intensive and Critical Care Nursing.* 21 : 24-28.

Schneider. C . D & Reischak. A. O. (2004). Review article. Oxygen free radicals and exercise : mechanisms of synthesis and adaptation to the physical training. *Rev BrasMed Esporte.* 10(4). P : 314-318.

Singh Gill. S & Tuteja. N. (2010). Review. Reactive oxygene species and antioxydant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *J : Plant physiology and biochemistry.* 48:909-930.

V

Valko. M ; Leibfritz. D ; Moncol. J ; Cronin. M. T ; Mazur. M & Telser. J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological function and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 39 : 44-84.

Vamecq. J ; Vallée. L ; Storme. L ; Gelé. P & Bordet. R. (2004). Les acteurs immédiats du stress oxydatif. *J : La Lettre du Pharmacologue.* 18(1) : 16-22.

Voet. D & Voet. j. G. (2005). Chapitre 11: Sucre de polysaccharides. Biochimie 2^{ém}.Edition :Gaudermergy y et Cier de boeck université, Paris. p : 356-380.

W

Wagner. H. & Jordan. E. (1988). An Immunologically Active Arabino Galactan from *Viscumalbum* Berries. *J : Phytochemistry.* 27 (8) : 2511-2517.

Wang. Q ; Luo. A ; Fan. Y ; Luo. A & Liu. J. (2011). *In vitro* antioxidant activity of Polysaccharide from *Sedum aizoon L.* Extracts. *Journal of Medicinal Plants Research.* 5(30) : 6604-6608.

Weil. J-H. Avec la collaboration de : Bonnet. J ; Boulanger. Y ; Chambon. P ; Ghtheron. D ; Kedineger. C ; Lazdunski. M ; Montreuil. J ; Patte. J. C ; Rebel. G & Wright. M.(1983). Chapitre 4 : Structure et métabolisme des glucides. *Biochimie générale.* Ed : Masson,Paris. p : 161-168.

γ

Yang. F ; Yang. Z & Xiao. J. (2011). Radical Scavenging Activity Of Crude Polysaccharides From *Camellia sinensis.* *J : Arch. Biol. Sci.* 63 (3) : 717-721.

Résumé

Résumé

L'extrait brut des polysaccharides isolés des feuilles de *Ziziphus lotus* est obtenu par la méthode de l'extraction à l'eau chaude et la précipitation dans l'éthanol. Le rendement total des polysaccharides bruts est de 6,5 %.

L'activité antioxydante de l'extrait est évaluée par le balayage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH[•]) la capacité antioxydante totale (par la formation du complexe phosphomolybdène) et le pouvoir réducteur du fer. L'extrait brut des polysaccharides montre un pouvoir meilleur de balayer le radical DPPH avec une capacité antioxydant identique à celle de la vitamine C. Par contre le test antioxydant indique que les polysaccharides bruts possèdent un faible pouvoir réducteur semblable pour toutes les concentrations utilisées dans cette étude.

Mots-clés : *Ziziphus lotus*, polysaccharides bruts, activité antioxydante *in vitro*.

الملخص

استخلصت متعدد السكاكر من أوراق نبات *Ziziphus lotus* بطريقة الماء الساخن والترسيب بالإيثانول، حيث قدر المردود الكلي لعديدات السكريات الخام بـ 6,5 %.

تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلص عن طريق إزاحة الصورة الجذرية لمادة 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH^{*})، والقدرة المضادة للأكسدة الإجمالية (عن طريق تشكيل معقد الفوسفو / موليبيدات) وقياس قدرة إرجاع شوارد الحديد *reducing power*. أظهر مستخلص الخام لعديدات السكريات نشاط فعالاً في التخلص من جذر DPPH مع قدرة اجمالية مضادة للأكسدة مساوية لتلك المسجلة بالفيتامين C في اختبار الموليبيدات، على عكس نتائج اختبار قدرة إرجاع شوارد الحديد والتي كانت جدمنخفضة و متقاربة عند التراكيز المستعملة في التجربة.

الكلمات المفتاحية : *Ziziphus lotus*، عديدات السكريات، النشاط المضاد للأكسدة خارج العضوية

Abstract

Crude polysaccharide was isolated from the leaves of *Ziziphus lotus* by hot water-extraction and ethanol-precipitation. The total yield of crude polysaccharides was 6,5 %.

Antioxidant activity of crude polysaccharide was evaluated with 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH[•]), total antioxidant capacity (through the formation of phosphor-molybdenum complex) and reducing power activity in iron test. It exhibited a powerful DPPH[•] radical test and similar total antioxidant capacity when compared with the standard vitamin C. However, the antioxidant test indicated that crude polysaccharide had a very low reducing power and it's the same at the different tested concentrations.

Key-words: *Ziziphus lotus*, crude polysaccharide, *in vitro* antioxidant activity.

Présenté par: *Bechoua Mouna*
Deḳḳiḳhe Samira
Moudjari Fatima zohra

Session : Juillet 2017

L'activité antioxydante *in vitro* des polysaccharides extraits à partir des feuilles de *Zizyphus lotus*

Diplôme de Master en Toxicologie et santé

Résumé

L'extrait brut des polysaccharides isolés des feuilles de *Zizyphus lotus* est obtenu par la méthode de l'extraction à l'eau chaude et la précipitation dans l'éthanol. Le poids total des polysaccharides bruts est de 6,5 %.

L'activité antioxydante de l'extrait est évaluée par le balayage du radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH[•]) la capacité antioxydante totale (par la formation du complexe phosphomolybdène) et le pouvoir réducteur du fer. L'extrait brut des polysaccharides montre un pouvoir meilleur de balayer le radical DPPH avec une capacité antioxydant identique à celle de la vitamine C. Par contre le test antioxydant indique que les polysaccharides bruts possèdent un faible pouvoir réducteur semblable pour toutes les concentrations utilisées dans cette étude.

Mots-clés : *Zizyphus lotus*, polysaccharides bruts, activité antioxydante *in vitro*.

Rapporteur : *Tour H* (MA-UFM Constantine).

Devant le jury :

Président : *Zaama Dj* (professeur- UFM Constantine).

Examineurs : *Amrani A* (MC-UFM Constantine).

Boulkandoul R (MA- UFM Constantine).

