



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 Constantine 1 Frères Mentouri
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منتوري
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Biochimie et biologie moléculaire et cellulaire

قسم: الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الخلوية والجزيئية

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Étude phytochimique et évaluation des activités biologiques des extraits de feuilles de *Zizyphus lotus*

Présenté par : MECHERI Ilhem

Le :25/06/2025

RAHALI Aya

Jury d'évaluation :

Présidente : Dr. OUELBANI R. (MCB- UConstantine 1 Frères Mentouri).

Encadrante : Dr. AYECHÉ A. (MCB- UConstantine 1 Frères Mentouri).

Examinatrice : Dr. BENSARI S. (MCB- UConstantine 1 Frères Mentouri).

**Année universitaire
2024 - 2025**



REMERCIEMENTS

Tout d'abord, et avant toute chose et tout mot, nous remercions Dieu, le Très-Haut, le Tout-Puissant et l'Omniscient, qui nous a accordé la force, la patience et la persévérance nécessaires pour mener à bien ce travail, aboutissement de cinq années d'études universitaires.

Nos remerciements s'adressent tout particulièrement à notre promotrice, Mme **AYECHE A.**, pour son encadrement, sa disponibilité et ses précieux conseils, ses efforts et avant tout sa gentillesse tout au long de ce projet. Sa disponibilité et sa rigueur scientifique ont été essentielles à la réussite de ce mémoire.

Nous remercions l'ensemble des membres de jury pour avoir accepté d'évaluer ce travail : Dr. **OUELBANI R.** et Dr. **BENSARI S.**, dont le regard critique et les suggestions précieuses ont permis d'enrichir et d'améliorer ce travail.

Le remerciement est destiné aussi à Mr **BENSOUICI Ch.** chef de laboratoire de la biochimie au Centre de Recherche en Biotechnologie CRBT de nous avoir accepté dans son laboratoire et de nous avoir dirigé durant la période de notre pratique.

Nous remercions également Mr **BAHRI L.**, responsable de l'animalerie de l'UMFC, pour nous avoir accordé l'accès à cette dernière et pour sa précieuse collaboration.

Nous exprimons également notre vive gratitude à l'ensemble de nos professeurs pour leur contribution à notre formation tout au long de ces années.

En fin nous adressons nos remerciements à toutes les personnes que nous n'avons pas pu citer leurs noms ici, et qui ont participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.



Dédicaces



Je dédie ce travail Aux êtres les plus chers :

Papa et Mama.

Avant toute chose, je dédie ALLAH, le tout puissant pour m'avoir donné la force et la patience

À l'homme de ma vie, mon cher père **AZZEDDINE**, mon exemple éternel, mon soutien et ma source de bonheur. Merci pour tes sacrifices, ta patience et ton amour constant. Ce travail est le fruit de tous tes efforts depuis ma naissance. Que Dieu te bénisse et t'accorde une longue et heureuse vie.

À la flamme de mon cœur Ma mère pour m'avoir donnée la vie et la joie de vivre j'espère que par ce travail, je vous rends un peu de sentiments et de fierté que j'éprouve d'être votre fille.

À moi-même, à mes rêves, à ma résilience, et au chemin parcouru. Ce travail est l'aboutissement de tant d'années de persévérance, et le reflet d'une seule conviction : je n'ai jamais cessé de croire en moi.

A ma chère tante, pour ses conseils précieux, son aide et support dans les moments difficiles.

A ma très chère sœur **Israa**

A mes chers frères : **Yasser et khaled**

À mon encadrante et directrice de recherche, Madame **AYECHE Amina**,

A toutes mes amis ; **Nour Elhouda, Amira, Ikram, Ahlam.**

Mon amie d'étude et binôme de travail : **MECHRI Ilhem**

A mes chères grand-mères, mes cousins et toute ma famille **RAHALI**

A tous ceux qui me sont chers et que j'ai involontairement omis de citer A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.



AYA

Dédicaces



Avec mes pensées les plus sincères, je dédie ce travail

*À mes très chers **parents**, pour leur amour, leurs sacrifices et leur soutien inconditionnel tout au long de mon parcours. Aucune parole ne saurait traduire la reconnaissance profonde que je leur porte. Que ce travail soit le reflet de leur espérance et de tout ce qu'ils m'ont offert.*

*À la mémoire de mon frère **AMINE**, que je garde au plus profond de mon cœur. Que Dieu l'accueille dans Son vaste paradis.*

À moi-même, mes sacrifices, mes espoirs, mes rêves.

*À tous mes chères frères **Hichem, Samir, Mohamed, Nasreddine** et ma chère sœur **Zahra**, qui ont toujours été présent à chaque fois que j'avais besoin d'eux, ils sont le pilier de ma vie.*

*À mon encadrante et directrice de recherche, Madame **AYECHE Amina**,*

À toute ma famille, maternelle et paternelle.

*À ma binôme **RAHALI Aya**, qui a été ma compagne de route tout au long de ce parcours de recherche.*

*À Toutes mes amies et collègues d'étude : **Ikram, Chafika, Nour, Ahlem ... etc.***

À Toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à ce parcours.

À Tous ceux que j'aime



ICHEM

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction ----- 1

PARTIE I: ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Présentation de <i>Zizyphus lotus</i>	3
1. La phytothérapie et les plantes médicinales	3
2. Origine et historique de <i>Zizyphus lotus</i>	3
3. Position systématique	3
4. Description botanique de <i>Zizyphus lotus</i>	4
4.1. La morphologie de <i>Zizyphus lotus</i>	4
4.1.1. Le système racinaire	4
4.1.2. Les rameaux	5
4.1.3. L'écorce	5
4.1.4. Les feuilles	5
4.1.5. Les fleurs	6
4.1.6. Les fruits	6
4.2. Cycle végétatif de <i>Zizyphus lotus</i>	7
5. Aspet écologique de <i>Zizyphus lotus</i>	7
6. Répartition géographique	8
6.1. Dans le monde	8
6.2. En Algérie	8
7. Les activités biologiques de <i>Zizyphus lotus</i>	9
7.1. L'activité antioxydante	9
7.2. Activité anti-inflammatoire et analgésique	9
7.3. Activité anti-ulcérogène	10
7.4. Activité antispasmodique	10
7.5. Activité antimicrobienne	10
7.6. Activité antidiabétique	10
7.7. Activité antiallergique	11
7.8. L'activité cardiovasculaire	11
7.9. L'activité anticancéreuse	11
7.10. L'activité neuroprotectrice	11
7.11. Activité anti-anémique	11

7.12. Autres activités -----	12
Chapitre II : Les propriétés bioactives de <i>Zizyphus lotus</i> -----	13
1. Généralités-----	13
2. Analyse phytochimique de <i>Zizyphus lotus</i> -----	13
2.1. Les métabolites primaires-----	13
2.2. Les métabolites secondaires -----	14
3. Classification des métabolites secondaires -----	15
3.1. Les alcaloïdes -----	16
3.1.1. Définition -----	16
3.1.2. Distribution des alcaloïdes-----	16
3.1.3. Classification des alcaloïdes -----	16
3.2. Les composés phénoliques -----	16
3.2.1. Définition -----	17
3.2.2. Classification des composés phénoliques -----	17
3.2.3. Principales classes des composés phénoliques-----	18
3.2.3.1. Les flavonoïdes -----	18
□ Les anthocyanes-----	20
□ Les leucoanthocyanes-----	20
3.2.3.2. Les tanins -----	20
3.2.3.3. Les coumarines -----	22
3.3. Les terpènes-----	22
3.3.2. Classificatin des terpènes -----	23
3.4. Stérols-----	24
3.5. Stéroïdes -----	24
3.6. Les saponosides-----	24
3.7. Anthraquinones -----	25
Chapitre III : Les Activités biologiques de <i>Zizyphus lotus</i> -----	26
1. L'activité antioxydante -----	26
1.1. Généralités -----	26
1.2. Le stress oxydatif-----	26
1.3. Les antioxydants -----	26
1.4. Définition d'un radical libre -----	27
1.5. L'activité antiradicalaire et antioxydante -----	27
1.6. Classement des antioxydants -----	27
1.6.1. Antioxydants enzymatiques -----	27
1.6.1.1. Superoxyde dismutase (SOD)-----	28
1.6.1.2. Catalase-----	28
1.6.1.3. Glutathion peroxydase (GPx)-----	28

1.6.2.	Antioxydants non enzymatiques -----	28
1.6.2.1.	L'Acide urique -----	28
1.6.2.2.	Le glutathion -----	28
1.6.2.3.	La vitamine C -----	29
1.6.2.4.	La vitamine E-----	29
1.6.2.5.	Les caroténoïdes -----	29
1.6.2.6.	Les polyphénols -----	29
1.7.	Méthode d'évaluation de l'activité antioxydante -----	30
2.	L'activité antidiabétique -----	30
2.1.	Définition du diabète sucré -----	30
2.2.	Classification-----	30
2.1.1.	Diabète de type 1 (anciennement insulino-dépendant DID) -----	31
2.2.2.	Le diabète de type 2 -----	31
2.2.3.	Diabète gestationnel-----	31
2.3.	Diagnostic-----	32
3.	Inhibition de l'activité de l'alpha-amylase-----	32
3.1.	Généralités -----	32
3.2.	Définition de l'alpha-amylase -----	32
3.3.	Structure de l'alpha amylase -----	32
3.4.	Caractéristiques générales -----	33
3.4.1.	PH optimal -----	33
3.4.2.	Température optimale -----	33
3.5.	Activateurs et inhibiteurs de l'alpha-amylase-----	33
3.6.	L'alpha-amylase et le métabolisme glucidiques-----	34
PARTIE II EXPERIMENTALE -----		35
Chapitre I : Matériel et méthodes -----		35
1.	Matériel végétal -----	35
1.1.	Séchage et broyage -----	35
2.	Méthodes-----	35
2.1.	Extraction par infusion -----	35
2.2.	Extraction par macération-----	35
2.3.	Évaporation -----	36
2.4.	Extraction liquide-liquide-----	37
2.5.	Détermination du rendement d'extraction-----	39
2.6.	Chromatographie sur couche mince (CCM)-----	40
2.7.	Criblage phytochimique-----	41
2.8.	Caractérisation quantitative des composés phénoliques -----	44
2.8.1.	Dosage des polyphénols totaux -----	44

2.8.2. Dosage des flavonoïdes totaux -----	45
2.9. Les activités biologiques-----	45
2.9.1 L'activité antioxydante-----	46
2.9.1.1. Test de piégeage du radical libre DPPH-----	46
2.9.1.2. Test de piégeage du radical ABTS+• -----	47
2.9.1.3. Activité du pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP) -----	47
2.9.1.4. Activité de réduction par la formation du complexe Fe ²⁺ phénanthroline -----	48
2.9.2. L'activité antidiabétique -----	49
2.9.2.1. Inhibition de l'alpha-amylase in vitro -----	49
2.9.2.2. Évaluation de l'activité anti-diabétique in vivo -----	50
Chapitre II : Résultats et discussions -----	53
1. Résultat de l'extraction -----	53
2. Chromatographie sur couche mince (CCM)-----	55
3. Criblage phytochimique -----	57
4. Caractérisation quantitative des extraits de <i>Z. lotus</i> -----	62
4.1. Teneur en composés phénoliques -----	62
4.2. Teneur en flavonoïdes totaux -----	64
5. Évaluation des activités biologiques -----	66
5.1. Évaluation de l'activité antioxydante -----	66
5.1.1. Test du piégeage du radical DPPH -----	66
5.1.2. Test de l'ABTS -----	68
5.1.3. Activité du pouvoir réducteur (FRAP) -----	71
5.1.4. Le test phénanthroline -----	73
5.2. Evaluation de l'activité antidiabétique-----	76
5.2.1. Inhibition de l'alpha-amylase-----	76
5.2.2. Évaluation de l'activité antidiabétique in vivo -----	79
Références bibliographiques-----	83
Résumés -----	107

Liste des Abréviations

- \pm : Écart-type
- **A_{0,5}** : Absorbance à une concentration de 0.5 M
- **ABTS** : Acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)
- **Abs** : Absorbance
- **ADA** : American Diabetes Association
- **ADN** : Acide désoxyribonucléique
- **Al³⁺** : Ion aluminium
- **Al(NO₃)₃** : Nitrate d'aluminium non hydraté
- **Asp** : Aspartate
- **BaCl₂** : Chlorure de baryum
- **BHA** : Hydroxyanisole butylé
- **BHT** : Hydroxytoluène butylé
- **Ca²⁺** : Ion calcium
- **CCM** : Chromatographie sur couche mince
- **CH₃COOK** : Acétate de potassium
- **CHCl₃** : Chloroforme
- **CuSO₄** : Sulfate de cuivre
- **Da** : Dalton (unité de masse atomique)
- **DID** : Diabète Insulino-Dépendant (anciennement utilisé)
- **DNID** : Diabète Non Insulino-Dépendant
- **DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (test antioxydant)
- **EC** : Enzyme commission (selon contexte)
- **ERO** : Espèces Réactives de l'Oxygène (ROS en anglais)
- **EXT** : Extrait
- **FAO** : Food and Agriculture Organization
- **FCR** : Réactif de Folin-Ciocalteu
- **Fe²⁺** : Ion ferreux
- **Fe³⁺** : Ion ferrique
- **FRAP** : Ferric Reducing Antioxidant Power (test antioxydant)
- **GAE** : Équivalent en acide gallique
- **Glu** : Acide glutamique
- **GSH/GSSG** : Glutathion réduit / glutathion oxydé
- **H₂O₂** : Peroxyde d'hydrogène

- **H₂SO₄** : Acide sulfurique
- **H₃PMo₁₂O₄₀** : Acide phosphomolybdique
- **H₃PW₁₂O₄₀** : Acide phosphotungstique
- **HCl** : Acide chlorhydrique
- **HgCl₂** : Chlorure de mercure (II)
- **I₂** : Diiode
- **IC₅₀** : Concentration inhibitrice à 50 %
- **INRF** : Institut National de la Recherche Forestière (Algérie)
- **K₂S₂O₈** : Persulfate de potassium
- **K₃Fe(CN)₆** : Ferricyanure de potassium
- **KOH** : Hydroxyde de potassium
- **KI** : Iodure de potassium
- **kDa** : Kilodalton (1000 daltons)
- **Mg** : Milligramme ou Magnésium (selon contexte)
- **mM** : Millimolaire
- **Mo₈O₂₃** : Oxyde de molybdène
- **NaOH** : Hydroxyde de sodium (soude)
- **NH₃** : Ammoniac
- **NH₄OH** : Hydroxyde d'ammonium
- **Nm** : Nanomètre
- **ROS** : Espèces Réactives de l'Oxygène
- **SOD** : Superoxyde dismutase
- **TCA** : Acide trichloroacétique
- **µg EQ/mg d'extrait** : Microgramme d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait
- **µL** : Microlitre
- **UV** : Ultraviolet
- **W₈O₂₃** : Oxyde de tungstène
- ***Z. lotus*** : *Zizyphus lotus*

Liste des figures

Figure 1 : Plante de <i>Zizyphus lotus</i>	5
Figure 2 : Feuilles de <i>Zizyphus lotus</i>	6
Figure 3 : Fleurs de <i>Zizyphus lotus</i>	6
Figure 4 : Représentation des parties du fruit de <i>Zizyphus lotus</i>	7
Figure 5 : Aire de répartition de la famille des rhamnacées dans le monde	8
Figure 6 : Distribution de <i>Z. lotus</i> en Algérie	9
Figure 7 : Squelette de base des polyphénols	17
Figure 8 : Structure de base des flavonoïdes	19
Figure 9 : Structure des tanins	21
Figure 10 : Structure des tanins hydrolysables	21
Figure 11 : Structure des tanins condensés	22
Figure 12 : Structure d'une molécule de coumarine	22
Figure 13 : Structure de l'isoprène et de l'isoprène actif	23
Figure 14 : Structure générale d'anthraquinone	25
Figure 15 : Structure tridimensionnelle de l' α -amylase	33
Figure 16 : Broyage des feuilles de <i>Zizyphus lotus</i>	35
Figure 17 : Préparation de l'extrait hydro-méthanolique de <i>Zizyphus lotus</i>	36
Figure 18 : Extrait hydro-méthanolique des feuilles de <i>Z. lotus</i>	36
Figure 19 : Evaporation du solvant à l'aide d'un évaporateur rotatif	36
Figure 20 : Schéma des différentes étapes d'extraction de <i>Zizyphus lotus</i>	39
Figure 21 : Mécanisme de la réaction de 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) avec Un antioxydant	46
Figure 22 : Formation d'un radical ABTS (ABTS+) stable à partir d'ABTS avec du persulfate de potassium	47
Figure 23 : Mécanisme réactionnel du test FRAP	48
Figure 24 : Formation du complexe Fe ⁺² -phénanthroline	49
Figure 25 : Répartition des rats dans les trois lots expérimentaux selon les traitements administrés	51
Figure 26 : Injection des différents traitements par voie intrapéritonéale	52
Figure 27 : Administration de la solution du glucose à l'aide d'une seringue de gavage.....	52
Figure 29 : L'extrait aqueux de <i>Zizyphus lotus</i>	54
Figure 28 : Les différents extraits obtenus à partir des feuilles <i>Zizyphus lotus</i>	54
Figure 30 : Rendements des différents extraits de <i>Zizyphus lotus</i>	54
Figure 31 : Les différents phases dans les systèmes solvants	56
Figure 32 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	62
Figure 33 : Teneurs en polyphénols totaux des extraits de <i>Z. lotus</i>	63
Figure 34 : La courbe d'étalonnage de la quercétine	64
Figure 35 : Teneur en flavonoïdes des extraits de feuilles de <i>Z. lotus</i>	65
Figure 36 : Profil de la microplaque de dosage de l'activité anti-radicalaire (DPPH) des extraits de <i>Z. lotus</i>	66
Figure 37 : Valeurs des IC ₅₀ du test DPPH des extraits de <i>Z. lotus</i> et des standards.....	67

Figure 38 : Profil de la microplaque de dosage de l'activité anti-radicalaire (ABTS) des extraits de <i>Z. lotus</i>	69
Figure 39 : Valeurs des IC ₅₀ du test ABTS pour les extraits de <i>Z. lotus</i> et les standards.....	70
Figure 40 : Profil de la microplaque de l'activité du pouvoir réducteur (FRAP) des extraits de <i>Z. lotus</i>	71
Figure 41 : Valeurs des A _{0.5} du test FRAP pour les extraits et les standards	72
Figure 42 : Profil de la microplaque du test phénanthroline des extraits de <i>Z. lotus</i>	74
Figure 43 : Valeurs des A _{0.5} du test phénanthroline des extraits et des standards.....	75
Figure 44 : Profil de la microplaque de l'inhibition de l'alpha-amylase des extraits de <i>Z. lotus</i>	77
Figure 45 : Pourcentages d'inhibition de l'α-amylase et les IC ₅₀ des extraits et du standard.....	78
Figure 46 : Graphique représentatif du taux de glycémie des rats traités par l'eau physiologique, la metformine et l'extrait n-butanolique	79

Liste des tableaux

Tableau 1 : La position systématique de <i>Zizyphus lotus</i>	4
Tableau 2 : Constitution en métabolites primaires de <i>Zizyphus lotus</i>	14
Tableau 3 : Répartition et contenu des principaux composés bioactifs dans les différentes parties de <i>Zizyphus lotus</i>	15
Tableau 4 : Classification des composées phénoliques	17
Tableau 5 : Classification des flavonoïdes.....	19
Tableau 7 : Évaluation de l'activité antioxydante in vitro.....	30
Tableau 8 : Activateurs et inhibiteurs inorganiques et organiques de l' α -amylase salivaire.	34
Tableau 9 : Les différentes phases obtenues lors de l'extraction liquide-liquide de l'extrait hydro-méthanolique.....	37
Tableau 10 : Systèmes solvants utilisés pour CCM	41
Tableau 11 : Concentrations des dilutions des extraits par rapport à la concentration initiale.	46
Tableau 12 : Les résultats de révélation chimique et physique de la chromatographie sur couche mince.....	56
Tableau 13 : Les résultats du screening phytochimique des extraits de <i>Z. lotus</i>	57
Tableau 14 : Teneurs en polyphénols totaux des extraits de <i>Z. lotus</i>	62
Tableau 15 : Teneur en flavonoïdes des extraits de feuilles de <i>Z. lotus</i>	65
Tableau 16 : Pourcentages d'inhibition et IC ₅₀ du radical DPPH des extraits et des standards	67
Tableau 17 : Pourcentages d'inhibition et IC ₅₀ du cation ABTS des extraits et des standards	69
Tableau 18 : Valeurs d'absorbance et A _{0.5} des extraits et standards du test FRAP	72
Tableau 19 : Valeurs d'absorbance et A _{0.5} du test phénantroline des extraits et des standards.....	74
Tableau 20 : Pourcentages d'inhibition de l' α -amylase et les CI ₅₀ des extraits et du standardB	77
Tableau 21 : Évolution du taux de glycémie au cours du temps.....	79

Introduction générale

Depuis l'Antiquité, les plantes médicinales jouent un rôle crucial dans le traitement des maladies humaines. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), près de 80 % de la population dans les pays en développement dépend de la médecine traditionnelle à base de plantes pour les soins de santé primaires **(WHO, 2013)**. Cette dépendance s'explique non seulement par l'accessibilité et le coût relativement faible des traitements phytothérapeutiques, mais aussi par leur efficacité avérée dans plusieurs pathologies chroniques, dont le diabète et le stress oxydatif **(Eddouks et al., 2012)**.

Le stress oxydatif résulte d'un déséquilibre entre la production de radicaux libres et les mécanismes de défense antioxydante de l'organisme. Il est impliqué dans la genèse de nombreuses maladies dégénératives telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires, les troubles neurologiques et le diabète de type 2 **(Valko et al., 2007)**. Face à cette problématique, l'intérêt pour les antioxydants naturels issus des plantes médicinales ne cesse de croître, car ils offrent une alternative prometteuse aux composés synthétiques, souvent associés à des effets secondaires **(Lobo et al., 2010)**.

Parmi les pathologies les plus préoccupantes à l'échelle mondiale figurent le diabète sucré, une maladie métabolique chronique caractérisée par une hyperglycémie persistante. En 2021, l'IDF (International Diabetes Federation) estimait à plus de 537 millions le nombre de personnes vivant avec le diabète dans le monde, un chiffre en constante augmentation. Si les traitements conventionnels permettent de contrôler la glycémie, ils restent souvent coûteux et accompagnés d'effets indésirables. De ce fait, la recherche de nouvelles molécules bioactives d'origine végétale, présentant une activité antidiabétique sans toxicité, constitue une priorité pour la médecine moderne **(American Diabetes Association, 2021)**.

Dans cette optique, les plantes du genre *Zizyphus* (famille des Rhamnaceae) attirent l'attention des chercheurs pour leurs vertus thérapeutiques. *Zizyphus lotus*, en particulier, est un arbuste épineux largement répandu dans les régions arides et semi-arides du bassin méditerranéen, notamment en Afrique du Nord. Traditionnellement utilisée dans la médecine populaire pour le traitement du diabète, des troubles digestifs, des inflammations et des infections, cette plante renferme une grande variété de métabolites secondaires, tels que les flavonoïdes, les saponines, les tanins et les alcaloïdes **(Cheurfa et al., 2017 ; Bouallegue et al., 2021)**.

Les études phytochimiques réalisées sur *Zizyphus lotus* ont mis en évidence la richesse de ses feuilles en composés bioactifs, ce qui en fait un excellent candidat pour l'évaluation de son potentiel pharmacologique. Cependant, malgré un usage traditionnel reconnu, peu d'études ont approfondi l'analyse combinée de sa composition chimique et de ses effets biologiques antioxydants et antidiabétiques sur des modèles expérimentaux normalisés (**Bouallegue *et al.*, 2021 ; El Ghazouani *et al.*, 2020**).

Dans ce contexte, le présent travail vise à contribuer à la valorisation de *Zizyphus lotus* à travers une double approche. Il s'agit, d'une part, de réaliser une étude phytochimique approfondie des extraits obtenus à partir des feuilles de la plante, afin d'identifier les principales familles de composés bioactifs ; et d'autre part, d'évaluer *in vitro* leur activité antioxydante à l'aide de tests standards tels que le DPPH, l'ABTS, le FRAP et la phénanthroline, ainsi que leur activité antidiabétique évaluée à la fois *in vitro* (par inhibition de l'enzyme α -amylase) et *in vivo* chez les rats.

L'objectif principal de ce mémoire est donc de mettre en évidence le potentiel thérapeutique des feuilles de *Zizyphus lotus*, en tant que source naturelle de composés bioactifs susceptibles d'intervenir dans la prévention et/ou le traitement des maladies métaboliques, en particulier celles associées au stress oxydatif et au diabète de type 2, et d'établir une corrélation entre ces effets et la présence de composés phytochimiques.

PARTIE I

ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Présentation de *Zizyphus lotus*

1. La phytothérapie et les plantes médicinales

La phytothérapie, ou médecine par les plantes, constitue l'une des approches thérapeutiques les plus anciennes et représente un patrimoine culturel essentiel à travers le monde. Encore aujourd'hui, dans de nombreuses régions, la capacité à identifier et récolter des plantes médicinales garantit une autonomie en matière de soins de santé (Steffen *et al.*, 2021).

Les plantes médicinales sont des espèces botaniques dont une ou plusieurs parties (feuilles, tiges, racines, ... etc.) contiennent des substances aux propriétés thérapeutiques. Utilisées depuis des millénaires, elles constituent la base de la phytothérapie et permettent de prévenir, soulager ou traiter divers maux (Bernard, 2001).

En plus de leur usage traditionnel, elles servent également de source précieuse pour la synthèse de médicaments, jouant ainsi un rôle essentiel en médecine naturelle et en pharmacologie moderne (Sofowora *et al.*, 2013).

2. Origine et historique de *Zizyphus lotus*

Décrit pour la première fois en 1767, le genre *Zizyphus* tire son nom de racines linguistiques berbères, persanes et grecques (Bellakhdar, 1997). *Zizyphus lotus*, espèce autochtone du bassin méditerranéen appartenant à la famille des Rhamnaceae, est présente depuis l'Antiquité dans les régions arides d'Afrique du Nord, du Proche-Orient et du sud de l'Europe (Ozenda, 1991 ; Quézel et Médail, 2003).

Dans la mythologie grecque, il est associé aux Lotophages, peuple cité dans l'*Odyssée*, pour qui les fruits provoquaient l'oubli et un état d'euphorie (Bellakhdar, 1997). Biogéographiquement, l'espèce est une relique thermophile de la flore méditerranéenne, adaptée aux milieux secs et pauvres (Maire, 1933 ; Ozenda, 1991).

Traditionnellement valorisé pour ses usages alimentaires, médicaux et écologiques, *Z. lotus* est protégé ou cultivé en Algérie, Tunisie, Maroc, Libye et Égypte pour ses fruits, ses vertus thérapeutiques et son rôle dans la lutte contre l'érosion (Bamouh, 2002 ; Bencheikh *et al.*, 2023).

3. Position systématique

Le genre *Zizyphus*, appartenant à la famille des Rhamnaceae, comprend environ 170 espèces classifiés principalement selon leurs caractéristiques morphologiques et leurs usages ethnobotaniques (Tomeguelt et Amzal, 2016).

Tableau 1: La position systématique de *Zizyphus lotus* (Ghedira, 2013)

Règne	Végétal
Embranchement	Magnoliophyta (= Phanérogames)
Sous-embranchement	Magnoliophytina (= Angiospermes)
Classe	Magnoliopsida (Dicotylédones)
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Rhamnales
Famille	Rhamnaceae
Tribu	Zizyphae
Genre	<i>Zizyphus</i>
Espèce	<i>Zizyphus lotus</i> (L.)

4. Description botanique de *Zizyphus lotus*

4.1. La morphologie de *Zizyphus lotus*

Zizyphus lotus (ou jujubier) est un arbuste épineux de la famille des Rhamnaceae, mesurant généralement entre 1,3 et 2,2 mètres. Il est fortement ramifié et forme des touffes pouvant atteindre plusieurs mètres de diamètre (Ghedira, 2013 ; Bencheikh *et al.*, 2023). Plante xérophile à croissance lente, elle commence à fructifier vers l'âge de 4 ans, avec une production pouvant durer jusqu'à 25 ans (Bonnet, 2001). Peu exigeant en eau, le jujubier est bien adapté aux milieux arides (Waston et Dallwitz, 1992).

4.1.1. Le système racinaire

Le *Z. lotus* dispose d'un système racinaire très élaboré, parfaitement adapté aux conditions de sécheresse. Cette plante a des racines capables de s'enfoncer dans le sol à plusieurs mètres de profondeur. Dans des contextes où les pluies sont peu fréquentes et irrégulières, *Z. lotus* a la capacité à puiser de l'eau des nappes phréatiques ou de poches d'humidité bien enfouies sous terre est vitale pour sa survie (Ehleringer et Dawson, 1992).

En plus de ses racines ancrées, *Z. lotus* constitue une étendue considérable de racines latérales qui s'étalent largement. Ces racines latérales favorisent l'absorption de nutriments et d'eau présents dans la couche superficielle du sol, optimisant ainsi l'utilisation des ressources même lors de brefs épisodes de pluie intense (Arndt *et al.*, 2001).

4.1.2. Les rameaux

Les branches de *Z. lotus* se caractérisent particulièrement par leur robustesse et leur capacité à résister aux conditions sèches. Ces branches, fréquemment sinueuses et émaillées de nombreuses épines, constituent une défense efficace contre les herbivores. La taille et la compacité des épines, qu'elles soient simples ou les bifurquées varient selon les conditions environnementales et ont un rôle crucial dans la défense physique de l'arbuste (Gharnit *et al.*, 2010).



Figure 1 : Plante de *Zizyphus lotus* (Constantine, Mai 2025)

4.1.3. L'écorce

L'écorce de *Z. lotus* présente plusieurs propriétés notables, adaptées aux régions arides où cet arbuste pousse fréquemment. Elle possède une épaisseur et une fissure, variant d'un brun sombre à un gris, et assure une protection face aux conditions météorologiques extrêmes, comme les hautes températures et la sécheresse (Quézel et Santa, 1963).

4.1.4. Les feuilles

Les feuilles peuvent être de petite ou moyenne taille, distiquées, d'un vert éclatant, ovales ou allongées, parfois acuminées, dentées ou lisses et glabres de 1 à 2 cm de longueur et de 7 mm de largeur (Munier, 1973).

Chaque feuille est dotée à sa base de deux stipules qui se transforment en épines inégales et délicates (Rsaissi *et al.*, 2013 ; Tardío *et al.*, 2016).

Deux stipules à la base de la feuille, transformés en épines inégales, présentent une forme plus ou moins droite et effilée. L'un est dirigé vers le haut mesure 1.8 cm de longueur, tandis que l'autre dirigé vers le bas est légèrement plus court (Rsaissi *et al.*, 2013).



Figure 2 : Feuilles de *Zizyphus lotus* (Vannette, 2018)

4.1.5. Les fleurs

Les fleurs peuvent être isolées ou regroupées, chacune portée par un pédicelle court. Elles possèdent un calice en forme d'entonnoir et une corolle de petite taille composée de cinq pétales. Elles sont dotées de cinq étamines épipétalées et de deux styles courts (**Ghedira, 2013**). Les inflorescences, petites et axillaires, sont constituées de fleurs bisexuées à symétrie pentamère, réunies en cymes. Les sépales sont disposés en étoile, accompagnés de petits pétales et d'un ovaire supérieur. La floraison s'étend généralement de juin à juillet (**Dahlia et al., 2019**).



Figure 3 : Fleurs de *Zizyphus lotus* (Ghedira, 2013)

4.1.6. Les fruits

Les fruits de *Zizyphus lotus* (L.), connus sous le nom de jujube ou N'beg en Algérie, sont des drupes sphériques de couleur brun foncé à maturité. Ils renferment un noyau osseux biloculaire, petit et rond, entouré d'une pulpe semi-charnue, croquante, au goût sucré et à la flaveur caractéristique. La pulpe, riche en sucres, se dessèche rapidement, ce qui lui confère une excellente aptitude à la conservation pouvant durer jusqu'à plusieurs années (**Ghedira, 2013**).

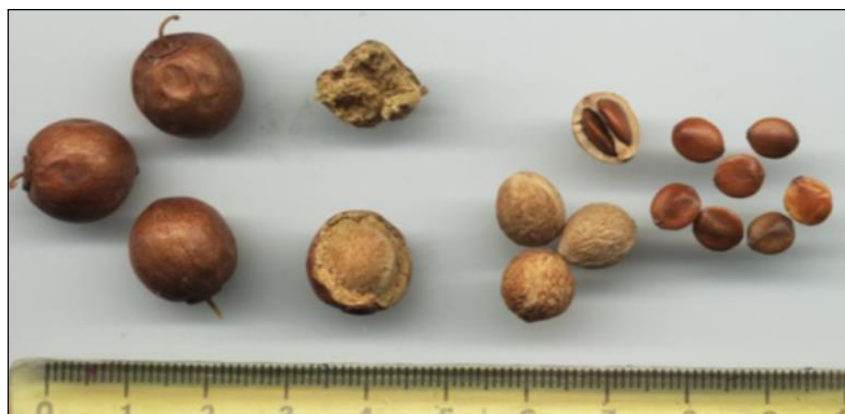


Figure 4 : Représentation des parties du fruit de *Zizyphus lotus* (Abdeddaim, 2018)

4.2. Cycle végétatif de *Zizyphus lotus*

Le cycle végétatif du *Zizyphus lotus* est la période de croissance de cette plante, allant de la germination ou du réveil après l'hiver jusqu'à l'arrêt de son développement avant la reproduction (Dahlia, 2019).

- **Janvier - Février :** levée de la dormance grâce aux basses températures hivernales.
- **Mars - Avril :** élimination des dormances résiduelles dues à la photopériode.
- **Avril - Mai :** débourrement et début de la phase de végétation après dépassement du seuil thermique d'activation biologique.
- **Juillet - Août :** fin de la croissance avec l'atteinte des seuils photopériodiques et préparation à l'hiver (bourgeons terminaux, aoûtement, stockage des réserves).
- Entre **juin** et **août**, la croissance du *Zizyphus lotus* atteint son pic, représentant 50 % de sa croissance annuelle totale. Le développement racinaire est aussi plus intense durant cette période, favorisant l'ancrage et l'absorption des nutriments (Dahlia, 2019).
- **D'octobre** jusqu'à **mars**, les plantes de *Zizyphus lotus* entrent en dormance (Regehr et El Brahli, 1995).

5. Aspet écologique de *Zizyphus lotus*

Les espèces fruitières du genre *Zizyphus*, notamment *Zizyphus lotus*, sont des plantes pérennes remarquablement adaptées aux milieux arides et semi-arides, en raison de leur fort potentiel de sélection et de leurs adaptations morpho-physiologiques spécifiques (Reich, 1991 ; Clifford *et al.*, 1998 ; Arndt *et al.*, 2001). Leur répartition naturelle se situe principalement entre les latitudes 20° et 30°, correspondant à des zones chaudes et désertiques (Reich, 1991).

Z. lotus se distingue par sa résilience exceptionnelle face aux conditions climatiques extrêmes. C'est une espèce thermophile, résistante à la sécheresse, nécessitant des températures élevées pour

fructifier (Emberger et Chadeaud, 1960 ; Laamouri *et al.*, 2008 ; Paquereau, 2013). Elle est répandue dans les zones méditerranéennes, où elle tolère la sécheresse, le rayonnement solaire intense et les précipitations faibles (Su et LiuScientia, 2005 ; Asatryan et Telzur, 2014).

Grâce à un système racinaire profond et vigoureux, cette espèce peut coloniser une grande diversité de sols, même pauvres, salins, calcaires ou rocheux (Maire, 1933 ; Chopra *et al.*, 1960 ; Ozenda, 1991 ; Liu *et al.*, 2009). En outre, ses racines contribuent à la stabilisation des sols et à la réduction de l'érosion hydrique, soulignant ainsi son rôle écologique clé (Bamouh, 2002 ; Laamouri *et al.*, 2008).

6. Répartition géographique

6.1. Dans le monde

Le *Zizyphus lotus* est présent :

- **En Afrique**, principalement au Maroc, en Algérie, en Tunisie et en Libye, avec une forte abondance en Tunisie, notamment dans les régions du Centre, la vallée de la Medjerda et les monts de Matmata (Ghedira, 2013).
- **En Asie**, la répartition couvre le Yémen, l'île de Socotra, ainsi que plusieurs régions du Moyen-Orient comme la Palestine, la Syrie et la Turquie (Ghedira, 2013)
- **En Europe**, la présence est attestée à Chypre, en Grèce, en Sicile et dans le sud de l'Espagne et au Portugal (Ghedira, 2013).
- On signale également la présence de *Zizyphus lotus* en Amérique du Sud.



Figure 5 : Aire de répartition de la famille des rhamnacées dans le monde (Dupont et Guignard, 2012)

6.2. En Algérie

Le *Zizyphus lotus* est une espèce largement répandue dans les régions chaudes, où il est principalement cultivé pour ses fruits. En Algérie, on le retrouve dans plusieurs zones arides,

notamment dans le sud du pays. Il est particulièrement présent à Aïn Ouessara et Maâssad (wilaya de Djelfa), qui se distinguent par un climat aride, ainsi qu'à Taghit (wilaya de Béchar), caractérisée par un climat saharien (Saadoudi, 2008 ; Meddour *et al.*, 2010).

Le *Zizyphus* est également présent dans la région de Kabylie, notamment à Harrouch, ainsi que dans les gouvernorats de Skikda et de Tamalous. Dans la wilaya de Constantine, on le retrouve particulièrement dans les communes d'Aïn Smara et de Hamma Bouziane (Loucif et Hamida, 2019).

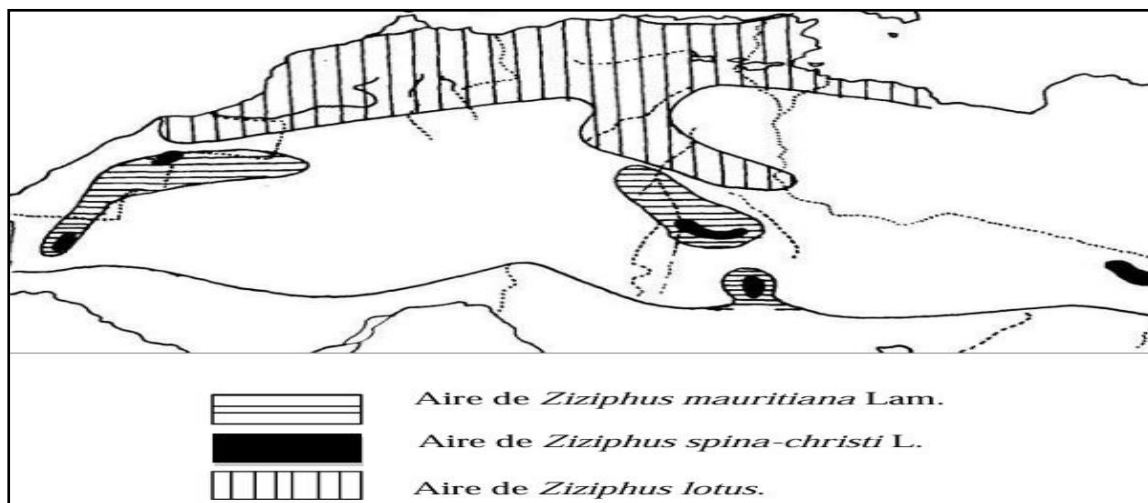


Figure 6 : Distribution de *Z. lotus* en Algérie (Quezel et Santa, 1962)

7. Les activités biologiques de *Zizyphus lotus*

Zizyphus lotus est une plante connue pour sa richesse en substances biologiques bénéfiques pour la santé. Elle contient des polyphénols, des flavonoïdes et des tanins, ainsi que des cyclopeptides, des isoquinolines et des saponines (Hamza et Meziani, 2015). Les recherches actuelles sur *Zizyphus lotus* ont mis en évidence plusieurs activités biologiques importantes :

7.1. L'activité antioxydante

Plusieurs études ont montré que différentes parties de *Zizyphus lotus* (rameaux, feuilles, fruits, graines et racines) possèdent une activité antioxydante remarquable. Le potentiel antioxydant a été évalué à l'aide des méthodes DPPH, FRAP, TAC, β -carotène et ABTS. Ces activités antioxydantes sont principalement attribuées à la richesse en composés phénoliques et en flavonoïdes présents dans les différentes parties de la plante (Bouyahya *et al.*, 2016).

7.2. Activité anti-inflammatoire et analgésique

Z. lotus possède des propriétés anti-inflammatoires attribuées à des composés naturels tels que les flavonoïdes, les saponines et les tanins (Djidel et Bouzid, 2018). Des extraits des feuilles et des racines ont montré une capacité à réduire l'inflammation, notamment par l'inhibition de la production

de monoxyde d'azote (NO), et ont également révélé des effets analgésiques (**Borgi et al., 2007**). L'activité anti-inflammatoire est particulièrement liée aux saponosides et aux oligomères flavonoïques totaux (OTF) extraits des écorces racinaires, qui induisent une inhibition significative de l'œdème de la patte chez la souris (**Borgi et al., 2007**). Par ailleurs, d'autres extraits racinaires (aqueux, chloroformique, acétate d'éthyle, méthanolique) ainsi que l'extrait foliaire ont également démontré des propriétés anti-inflammatoires et analgésiques, avec une efficacité notable de l'extrait acétate d'éthyle, supérieur aux autres en termes d'activité analgésique (**Borgi et al., 2008**).

7.3. Activité anti-ulcérogène

L'activité antiulcéreuse de *Zizyphus lotus* est attribuée aux composés bioactifs présents dans les écorces de racines et les feuilles, notamment les polyphénols et flavonoïdes. Les décoctions ainsi que les extraits méthanoliques, à l'acétate d'éthyle et au chloroforme ont montré une inhibition significative des ulcères gastriques induits expérimentalement. Ces effets ont été confirmés par une réduction du volume et de l'acidité du suc gastrique chez des rats pyllore-ligaturés (**Ghedira, 2013**).

7.4. Activité antispasmodique

Les extraits aqueux et méthanoliques des feuilles et des racines de *Zizyphus lotus* contiennent des constituants antispasmodiques qui induisent une relaxation des contractions spontanées et provoquées (acétylcholine, KCl, BaCl₂) sur le duodénum isolé de rat. Ces effets sont médiés par l'interaction avec les récepteurs cholinergiques et le blocage de l'influx de Ca²⁺. Ces résultats soutiennent l'utilisation traditionnelle de *Zizyphus lotus* dans le traitement des maladies intestinales (**Borgi et Chouchane, 2006 ; Ghdira, 2013**).

7.5. Activité antimicrobienne

L'extrait méthanolique des tiges de *Zizyphus lotus* a montré une activité antibactérienne significative contre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*, probablement grâce à sa richesse en polyphénols et flavonoïdes, connus pour leurs propriétés antimicrobiennes. Ces composés agiraient notamment en perturbant le métabolisme microbien par chélation des ions métalliques essentiels (**Abderrahim et al., 2019**). Par ailleurs, plusieurs études ont confirmé l'activité antimicrobienne plus large des extraits de *Zizyphus lotus*, incluant des effets antifongiques, antiviraux et anti-levures (**Jürgen et al., 2009**).

7.6. Activité antidiabétique

Les différentes espèces du genre *Zizyphus*, notamment *Zizyphus lotus*, présentent des effets antidiabétiques notables, attribués en grande partie à leur capacité à moduler la sécrétion d'insuline (**Niamat et al., 2012**).

Les extraits aqueux des racines et des feuilles de *Z. lotus* réduisent significativement la glycémie chez des rats diabétiques induits par la streptozotocine (**Benammar *et al.*, 2014**).

7.7. Activité antiallergique

Les extraits aqueux de feuilles de *Zizyphus lotus* ont démontré une forte activité anti-allergique, mise en évidence par l'inhibition des réactions d'hypersensibilité retardée, notamment dans un modèle induit par l'oxazolone. Par ailleurs, leurs propriétés anti-allergiques et anti-anaphylactiques ont été confirmées par l'évaluation de leur capacité à inhiber l'activation de l'hyaluronidase (**Mahajan et Chopda, 2009 ; Nadeem *et al.*, 2011**).

7.8. L'activité cardiovasculaire

Le jujuboside B, l'un des principaux constituants bioactifs du *Zizyphus*, pourrait jouer un rôle clé dans les effets bénéfiques observés sur le système cardiovasculaire, en agissant potentiellement comme un agent cardioprotecteur (**Chen *et al.*, 2017**).

7.9. L'activité anticancéreuse

L'extrait aqueux du fruit de *Zizyphus jujuba* a montré un effet protecteur contre l'anémie, la lymphocytose et la neutropénie chez le rat, et pourrait avoir un potentiel thérapeutique dans le traitement des tumeurs mammaires (**Hoshyar *et al.*, 2015**). Selon **Huang *et al.* (2007)**, cet extrait présente également une activité anticancéreuse contre les cellules de carcinome hépatocellulaire (HepG2), en réduisant leur viabilité cellulaire. À faible dose, il provoque un arrêt du cycle cellulaire en phase G1, et à dose plus élevée en phase G2/M, accompagné d'une augmentation des ROS, d'une altération du potentiel mitochondrial, et de modifications dans la phosphorylation des protéines du cycle cellulaire, suggérant un mécanisme d'action basé sur l'induction de l'apoptose.

7.10. L'activité neuroprotectrice

L'extrait aqueux de *Zizyphus* a démontré un potentiel neuroprotecteur dans des conditions d'hyperglycémie. Cet effet s'est manifesté par une réduction de l'apoptose neuronale observée. Cette action protectrice pourrait être liée à la capacité de l'extrait à inhiber la production des espèces réactives de l'oxygène (ROS), contribuant ainsi à limiter le stress oxydatif et les dommages cellulaires au niveau du tissu nerveux (**Kaeidi *et al.*, 2015**).

7.11. Activité anti-anémique

Des études sur modèles cellulaires et animaux ont montré que le jujube peut atténuer l'anémie en stimulant la production d'érythropoïétine via le facteur HIF, en favorisant la récupération du fer lors de l'érythrophagocytose et en renforçant l'immunité. Ces effets sont attribués aux flavonoïdes présents dans le fruit, faisant du jujube un candidat prometteur comme supplément naturel contre l'anémie (**Chen et Tsim, 2020**).

7.12. Autres activités

Zizyphus lotus présente de nombreuses activités pharmacologiques. Il possède une activité antiproliférative démontrée par une inhibition significative des cellules du cancer du sein triple négatif (**Zazouli et al., 2022**), ainsi qu'une activité néphroprotectrice contre les lésions rénales induites (**Bencheikh et al., 2021**) et une activité hépatoprotectrice grâce à l'extrait aqueux de graines (**Bencheikh et al., 2019**). Il exerce également une action hypotensive et anti-néphritique, en réduisant la pression artérielle et en améliorant le débit sanguin rénal (**Mahajan et Chopda, 2009**).

Une activité anti-fertilité a été rapportée, caractérisée par une inhibition de la stéroïdogénèse et une diminution de la motilité des spermatozoïdes (**Rekha et Chandrashekhara, 2014**). *Z. lotus* présente aussi une activité immunostimulante par la stimulation de la chimiotaxie, de la phagocytose et de la létalité intracellulaire des neutrophiles (**Zhao et al., 2008**).

Chapitre II : Les propriétés bioactives de *Zizyphus lotus*

1. Généralités

Les métabolites sont des composés intermédiaires issus des processus métaboliques, généralement constitués de petites molécules. Ils remplissent diverses fonctions biologiques, notamment en tant que sources d'énergie, éléments structuraux, agents de signalisation ou encore modulateurs enzymatiques, avec des effets pouvant être activateurs ou inhibiteurs (**Labbani, 2022**).

Chez les plantes, ces métabolites se répartissent en deux grandes catégories selon leur origine : le **métabolisme primaire**, indispensable aux fonctions vitales telles que la photosynthèse, la respiration ou la synthèse des protéines, et le **métabolisme secondaire**, qui génère des composés comme les flavonoïdes et les alcaloïdes. Ces derniers, bien que non essentiels à la survie immédiate de la plante, jouent un rôle crucial dans sa défense et ses interactions écologiques, en plus de présenter un intérêt thérapeutique reconnu (**Dewick, 2002 ; Taiz et Zeiger, 2010 ; Wink, 2010**).

2. Analyse phytochimique de *Zizyphus lotus*

Les études phytochimiques réalisées sur le genre *Zizyphus* ont révélé la présence de métabolites primaires et secondaires, témoignant de sa richesse en composés bioactifs (**Catoire et al., 1994**).

2.1. Les métabolites primaires

Un métabolite primaire désigne un composé organique directement impliqué dans les processus fondamentaux de croissance, de développement et de reproduction d'un organisme ou d'une cellule (**Koné, 2009**). Il remplit une fonction physiologique essentielle, autrement dit, une fonction intrinsèque à la survie de l'organisme. Parmi les principaux métabolites primaires figurent (**Labbani, 2022**) :

- **Les acides aminés** : constituent les unités de base dans la biosynthèse des protéines.
- **Les lipides** : jouant un rôle dans le stockage de l'énergie et la structuration des membranes cellulaires.
- **Les glucides** : servant de source énergétique et intervenant dans la constitution de la paroi cellulaire.
- **Les acides nucléiques** : indispensables à la transmission et à l'expression de l'information génétique.

Le tableau ci-dessous présente le pourcentage des principaux métabolites primaires identifiés chez *Zizyphus lotus*.

Tableau 2 : Constitution en métabolites primaires de *Zizyphus lotus* (Chouaibi *et al.*, 2012)

Métabolites	Pourcentage (%)
Lipides	32,92%
Glucides totaux	40,87%
Protéines	19,11%
Sucres	20%

2.2. Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des substances organiques qui ne font pas partie du métabolisme de base de la plante. On les retrouve principalement chez les plantes, les champignons, les bactéries et certains animaux. Contrairement aux métabolites primaires, ils ne sont pas essentiels à la croissance ou au développement immédiat, mais jouent des rôles spécifiques selon le moment et le compartiment où ils sont produits.

Les métabolites secondaires remplissent de nombreuses fonctions dans les interactions avec l'environnement : défense contre les herbivores (goût amer, toxicité), attraction des pollinisateurs, ou encore communication chimique entre plantes, la division cellulaire et la photosynthèse.

Le *Z. 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) et les saponosides (Catoire *et al.*, 1994 ; Borgi et Chouchane, 2006). Le tableau 3 récapitule les composés chimiques majeurs et leurs quantités dans les divers organes de *Zizyphus lotus*.

Tableau 3 : Répartition et contenu des principaux composés bioactifs dans les différentes parties de *Zizyphus lotus*.

Les parties de <i>Zizyphus lotus</i>	Composition chimique	Quantité en mg/100g	Références
Fruits	Acides phénoliques totaux Flavonoïdes Tannins	297–4078.2 122 33	(Ghazghazi <i>et al.</i> , 2014) (Hammi <i>et al.</i> , 2015)
Feuilles	Acides phénoliques totaux Flavonoïdes Tannins Saponines Jujuboside B 3 glycosides de jujubogénine Jujubasaponine IV Glycoside de flavonol Rutine 3',5'-Diglucosylphlorétine	644 130–199 39 340 3 9.33 2 3 3.66 3	(Borgi <i>et al.</i> , 2008) (Ghazghazi <i>et al.</i> , 2014)
Graine	Polyphénols totaux	14,68	(Abdoul-Azize, 2016)
L'écorce de racine	Flavonoïdes totaux Saponines Jujuboside A Jujuboside C Lotuside I Lotuside II Lotusine A Lotusine B Lotusine C Lotusine D Lotusine E Lotusine F Lotusine G Polyphénols Proanthocyanidines	120 219 6,73 3,96 2,774 1,58 11,56 23,95 23,95 4,2–10 2,9–10 1,4–11,56 1,5 2009 156	(Abdoul-Azize, 2016)
La pulpe	Phénols totaux Flavonoïdes Tannins	325 173 922	(Abdoul-Azize, 2016)

3. Classification des métabolites secondaires

Ils existent plus de 200 000 métabolites secondaires identifiées (Vermerris et Nicholson, 2007), répartis en 3 classes principales : les alcaloïdes, les terpénoïdes et les composés phénoliques (Wuyts, 2006).

3.1. Les alcaloïdes

3.1.1. Définition

Les alcaloïdes sont des composés organiques naturels hétérocycliques renfermant de l'azote, de carbone, d'hydrogène et d'oxygène ayant un caractère plus ou moins alcalin (**Ameyaw et Duker-Eshun, 2009**).

L'atome d'azote présent dans les alcaloïdes est généralement dérivé d'un acide aminé, ce qui permet une classification rationnelle de ces composés en familles, selon leur précurseur biosynthétique (**Mann *et al.*, 1994 ; Hess, 2002 ; Bhat *et al.*, 2005**).

3.1.2. Distribution des alcaloïdes

Chez les végétaux, les alcaloïdes se présentent généralement sous forme soluble, combinés à des acides organiques tels que les citrates, malates, tartrates, méconates, isobutyrate ou benzoates (**Nowitz et Bohttet, 2000**). Ils sont rarement présents à l'état libre et sont souvent associés à des tanins ou à d'autres composés organiques (**Nowitz et Bohttet, 2000**).

Ces substances ne sont pas confinées à un seul organe végétal, mais se répartissent dans différentes parties de la plante, notamment les fruits, comme c'est le cas chez le pavot ou la belladone (**Bensakhria, 2018**).

3.1.3. Classification des alcaloïdes

La classification des alcaloïdes repose sur divers paramètres, notamment leur origine biologique, leur voie de biosynthèse, leur structure moléculaire ainsi que leurs caractéristiques spectroscopiques et spectrométriques (**Hess, 2002**).

➤ Alcaloïdes vrais

Ils sont des produits dérivés des acides aminés, alcalins et renferment de l'azote dans leur structure hétérocyclique, tels que la nicotine et l'atropine.

➤ Pseudo-alcaloïdes

Ils possèdent habituellement toutes les propriétés des véritables alcaloïdes : ils ont une nature alcaline sans être issus d'acides aminés (**Bruneton, 1999**) comme la caféine et la solanine.

➤ Les proto-alcaloïdes

Les proto-alcaloïdes sont des amines simples, basiques et solubles dans l'eau, dont l'atome d'azote n'est pas inclus dans un cycle hétérocyclique. Ils sont synthétisés *in vivo* à partir d'acides aminés, ce qui les classe parmi les « amines biologiques » (**Badiaga, 2011**). Un exemple bien connu est la mescaline, extraite du peyotl (**Elkolli, 2017**).

3.2. Les composés phénoliques

3.2.1. Définition

Les composés phénoliques, dont on connaît plus de 8000 structures (**Strack *et al.*, 1992**), forment une classe majeure et très diversifiée de métabolites secondaires présents dans tout le règne végétal (**Bahorun, 1997**). Ils sont largement distribués dans les différentes parties des plantes, notamment les racines, les tiges, les feuilles et les fleurs (**Macheix *et al.*, 2005**).

Les polyphénols se définissent par la présence d'au moins un noyau aromatique auquel sont directement attachés un nombre variable de groupes hydroxyles (OH) (**Hennebelle *et al.*, 2004**).

3.2.2. Classification des composés phénoliques

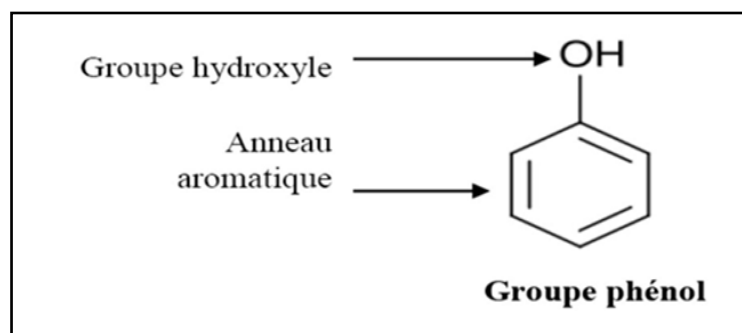


Figure 7 : Squelette de base des polyphénols (Manallah, 2012)

Les composés phénoliques se répartissent en une dizaine de classes, différenciées par la complexité de leur squelette carboné (du simple noyau C6 à des structures très polymérisées), par le degré de modifications chimiques (oxydation, hydroxylation, méthylation, ...etc.) et par leurs associations possibles avec d'autres molécules comme les glucides, lipides, protéines ou autres métabolites secondaires (**Mancheix *et al.*, 2005**). Ils peuvent exister sous forme de monomères, de polymères ou de complexes, dont la masse moléculaire peut atteindre 9000 Da (**Crozier *et al.*, 2006**).

Tableau 4 : Classification des composées phénoliques (Vermerris et Nicholson, 2007)

Structure	Classe
C6	Phénols simples
C6-C1	Acide phénolique et composante liée
C6-C2	Acétophénone et acide phénylacétique
C6-C3	Acide cinnamique et aldéhyde cinnamyle et alcool Cinnamyle
C6-C3	Coumarine, isocoumarine et chromone
C15	Chalcones, aurones, dyhydrochalcones
C15	Flavanes
C15	Flavones
C15	Flavonones

C15	Flavonoles
C15	Anthocyanidines
C15	Anthocyanines
C30	Biflavonyls
C6-C1- C6, C6-C2- C6	Benzophénones, Xanthonés, stilbènes
C6, C10, C14	Quinones
C18	Bétacyanines
(C6-C2) ₂	Lignanes
(C6-C3) _n	Lignines
(C15)	Tanins

3.2.3. Principales classes des composés phénoliques

3.2.3.1. Les flavonoïdes

A. Définition

Le terme "flavonoïde" proviendrait de flavedo, qui désigne la couche externe des écorces d'orange (**Piquemal, 2008**). Il dérive du latin flavus, signifiant "jaune". Les flavonoïdes sont des composés naturels d'origine végétale, présents dans l'ensemble du règne végétal (**Karaali et al., 2004**). Leur répartition dans les plantes varie selon l'espèce et peut concerner différentes parties, telles que les feuilles, les racines et les fruits. De plus, leur quantité et leur composition évoluent en fonction du stade de développement du végétal (**Fritsch et Griesbach, 1975**).

Grâce à leurs propriétés, les flavonoïdes remplissent des fonctions essentielles chez les plantes. Ils contribuent notamment à leur coloration, en complément de la chlorophylle, et jouent un rôle important dans divers mécanismes biologiques. Par ailleurs, ils possèdent des propriétés thérapeutiques, notamment anti-inflammatoires, antivirales et antioxydantes (**Passi, 2002**).

B. Structure chimique

Les flavonoïdes sont des dérivés du noyau flavone, également appelé 2-phénylchromone (**Milane, 2004**). Leur structure est composée de 15 atomes de carbone (C6-C3-C6) et comprend deux noyaux aromatiques, désignés par les lettres A et B (**figure 08**), reliés par un hétérocycle

oxygéné, identifié par la lettre C (**Dacosta, 2003**). Selon leur nature, ils peuvent porter des fonctions phénoliques libres, éther ou glycosidiques (**Milane, 2004**).

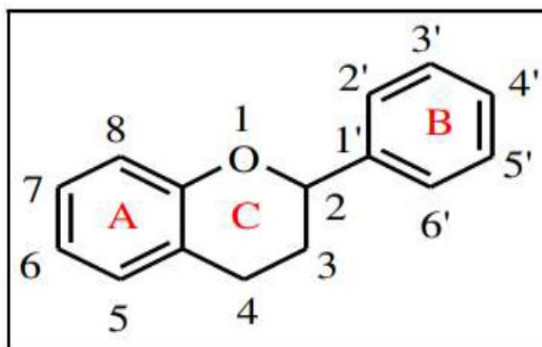


Figure 8 : Structure de base des flavonoïdes (**Karabín, 2015**)

C. Classification

Les flavonoïdes se divisent en différentes catégories de molécules, parmi lesquelles les plus notables sont les flavones, les flavonols, les flavanones, les dihydroflavonols, les isoflavones, les isoflavanones, les chalcones, les auronnes et les anthocyanes (**Szent-Gyorgyi, 1938**), comme le montre le **tableau 05**.

Tableau 5 : Classification des flavonoïdes (**Bruneton, 1999**)

Classes	Structures chimiques	R3'	R4'	R5'	Exemples
Flavones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH3	H	Diosmétine
Flavonols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myrecétine
Flavanols		OH	OH	H	Catéchine
Flavanones		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
Anthocyanidines		H	OH	H	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine
Isoflavones		R5	R7	R4'	
		OH	OH	OH	Genisteine
		H	O-Glu	OH	Daidezine

▪ Les anthocyanes

Les anthocyanes, également appelés pigments anthocyaniques, sont des composés hydrosolubles aux teintes rouges, violettes ou bleues. On les retrouve principalement dans la coloration des fleurs, des fruits, et parfois des feuilles. Dans la nature, ils n'existent que sous forme liée à des sucres, appelés anthocyanosides ou anthocyanines. Les formes aglycones, appelées anthocyanidines ou anthocyanidols, sont des dérivés du noyau phényl-2-benzopyrylium, aussi nommé flavylum, où l'atome d'oxygène est présent sous forme oxonium, et elles se trouvent dans la plante sous forme de sels (**Khoo *et al.*, 2017**). Les types d'anthocyanidines les plus courants sont la cyanidine, la delphinidine, la pélargonidine, la péponide, la pétunidine et la malvidine (**Khoo *et al.*, 2017**).

▪ Les leucoanthocyanes

Les leucoanthocyanidines, également désignées sous le nom de flavane-3,4-diols, sont des composés phénoliques incolores appartenant à la classe des flavonoïdes. Elles jouent un rôle essentiel dans la voie biosynthétique des anthocyanidines (**Heller *et al.*, 1985**).

Chez les plantes, ces composés sont produits à partir des dihydroflavonols par l'action de l'enzyme dihydroflavonol 4-réductase. Par la suite, les leucoanthocyanidines peuvent être transformées en anthocyanidines via l'enzyme anthocyanidine synthase aussi appelée leucoanthocyanidine dioxygénase ou bien réduites en flavan-3-ols par la leucoanthocyanidine réductase, participant ainsi à la biosynthèse des proanthocyanidines (**Bogs *et al.*, 2005**).

3.2.3.2. Les tanins

A. Définition

Les tanins sont des composés organiques complexes constituent une classe de composés phénoliques caractérisés par une forte teneur en groupes hydroxyles et une grande hétérogénéité structurale ayant une masse moléculaire allant de 500 à 3000 Da. Ces composés se trouvent généralement dans les feuilles, l'écorce, les racines, le bois, les fruits, et plus particulièrement dans les tissus des vacuoles (**Hassanpour *et al.*, 2011**) les tanins possèdent la capacité de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et diverses autres protéines (**Bruneton, 2009**).

B. Structure chimique

Les tanins forment un groupe chimique hétérogène, présentant des structures moléculaires diverses. Habituellement, ils se divisent en deux catégories distinctes basées sur le genre d'acide phénolique et la nature des liaisons qui définissent la dimension et la réactivité chimique de la molécule (**Khanbabaei et Van Ree, 2001**).

C. Classification

Selon la nature des assemblages moléculaires, les tanins sont classés en 2 groupes :

- **Les tanins hydrolysables**

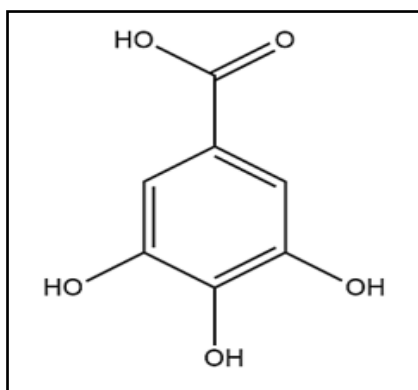


Figure 9 : Structure des tanins (Kavitha et Kandasubramanian, 2020)

Ce sont d'hétéropolymères ayant un noyau central formé d'un polyol. Il s'agit généralement d'un D-glucose qui est partiellement ou totalement estérifié par l'acide gallique (comme dans le cas des gallotanins), ou par un dimère de l'acide gallique, connu sous le nom d'acide hexahydroxydiphénique (comme c'est le cas pour les éllagitanins). Comme leur dénomination le suggère, ces composés se prêtent aisément à l'hydrolyse en environnements acides et alcalins ou par l'intermédiaire d'enzymes (comme la tannase), entraînant la production des glucides et d'acides phénoliques (Leinmüller, 1991).

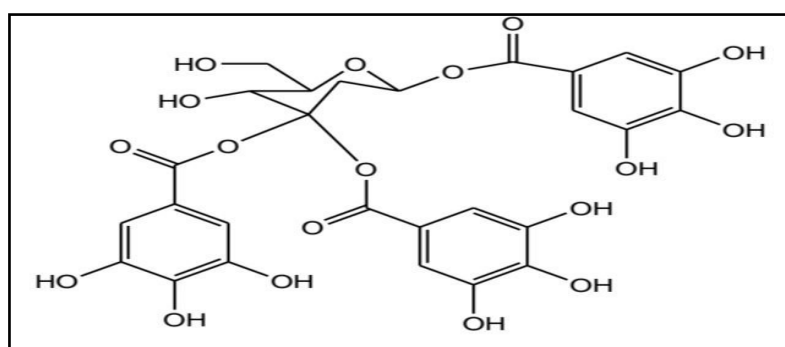


Figure 10 : Structure des tanins hydrolysables (Bruneton, 2009)

- **Les tanins condensés**

On définit chimiquement les tanins condensés comme des oligomères ou des polymères constitués d'unités flavonoïdes. Les flavan-3ols (catéchine) et/ou les flavan-3,4-diols (leucoanthocyanidines), qui constituent les monomères précurseurs de ces molécules, sont reliés par des liaisons carbone-carbone particulièrement résistantes à l'hydrolyse. On appelle les tanins condensés proanthocyanidines, car leur oxydation dans un environnement alcool-acide donne

naissance à des pigments anthocyaniques comme les cyanidines (provenant des procyanidines) et les delphinidines (issues des prodelphinidines), On les appelle également tanins « catéchiques » (Bruneton, 1993 ; Grayer *et al.*, 1992).

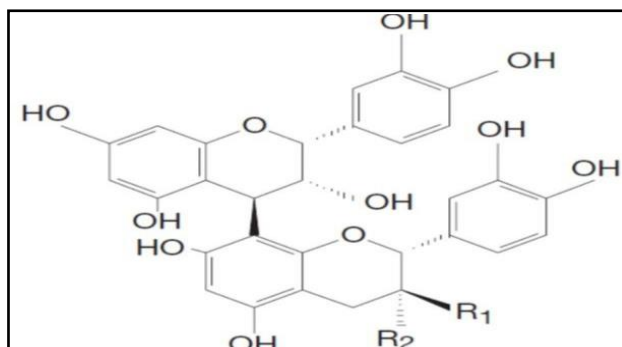


Figure 11 : Structure des tanins condensés (Bruneton, 2009)

3.2.3.3. Les coumarines

Les coumarines sont des composés phénoliques appartenant à la famille des benzopyrones (Alignan, 2006). Elles se caractérisent par un noyau formé d'un cycle benzénique fusionné à un cycle lactone (structure de type 1,2-benzopyrone) (Bruneton, 1999).

Ce sont des métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal, où elles sont impliquées dans divers rôles écologiques et physiologiques, tels que la défense contre les agents pathogènes, l'attraction des pollinisateurs ou la régulation des interactions symbiotiques avec les bactéries du genre *Rhizobium* (Macheix *et al.*, 2005). Elles sont aussi connues pour leur arôme caractéristique, utilisé en parfumerie, et certaines présentent des propriétés anticoagulantes, antimicrobiennes ou antioxydantes (Cowan, 1999).

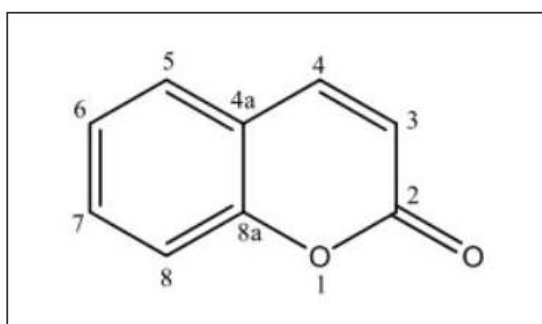


Figure 12 : Structure d'une molécule de coumarine (Cowan, 1999)

3.3. Les terpènes

Le mot terpène, introduit par Dumas en 1866, dérive du latin « térébenthine » (*Balsamum terebinthinae*), une substance liquide extraite du pin. Les terpènes, qui sont parmi les produits naturels les plus significatifs, montrent des variations structurelles majeures, telles que des hydrocarbures linéaires ou des structures carbocycliques (Ninkuu *et al.*, 2021).

3.3.1. Structure des terpènes

Les terpènes sont des composés dérivés de l'isoprène C_5H_8 et leur structure de base est un multiple de cette formule $(C_5H_8)_n$. L'isoprène peut être vu comme l'un des éléments de base favoris de la nature (Muanda, 2010).

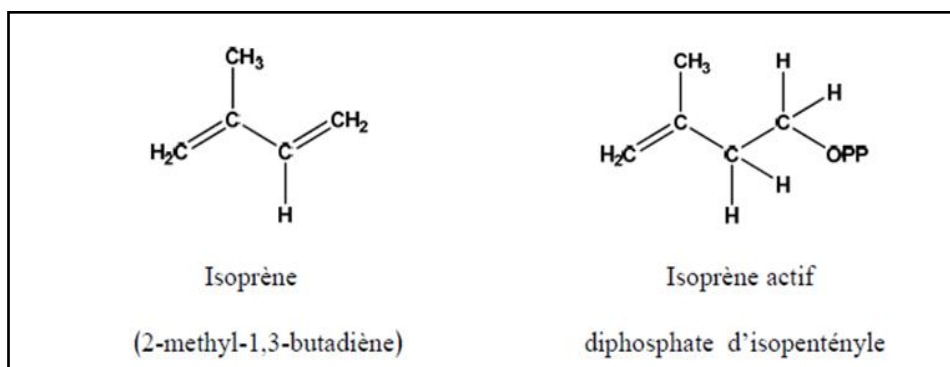


Figure 13 : Structure de l'isoprène et de l'isoprène actif (Lamarti *et al.*, 1994)

Leur structure carbonée est composée d'unités isopréniques connectées entre elles. On désigne cela comme la loi de l'isoprène. Il est possible d'organiser ces squelettes de manière linéaire ou de créer des cycles (Muanda, 2010).

3.3.2. Classification des terpènes

Selon le nombre d'unités isopréniques qui les composent, on distingue plusieurs classes (Bohn Courseau *et al.*, 2009) :

- **Les monoterpènes** (C_{10}), issus du géranyl diphosphate (GPP), sont présents dans de nombreuses huiles essentielles aromatiques. Parmi les plus connus figurent le géraniol (citronnelle), le menthol (menthe), le limonène (agrumes), les α - et β -pinènes (pin), le cinéol (eucalyptus) et le camphre (camphrier). Il s'agit principalement de alcools ou aldéhydes volatils, aux propriétés odorantes marquées.
- **Les sesquiterpènes** (C_{15}), dérivés du farnésyl diphosphate (FPP), incluent des composés tels que le farnésol, l'huile essentielle de camomille, ainsi que l'acide abscissique, une hormone végétale jouant un rôle clé dans la gestion du stress hydrique.
- **Les diterpènes** (C_{20}) regroupent notamment les gibbéréllines (autres hormones végétales), le phytol (composant de la chlorophylle), ainsi que la vitamine A, obtenue après clivage du β -carotène.
- **Les triterpènes** en C_{30} sont les précurseurs de la β -amyrine ainsi que des brassinostéroïdes, qui sont également des phytohormones.

- **Les tétraterpènes** (C40) correspondent principalement aux caroténoïdes, des pigments liposolubles essentiels dans les processus de photosynthèse et de protection contre le stress oxydatif.
- **Les polyterpènes** (jusqu'à C4000) sont formés de longues chaînes linéaires.

3.4. Stérols

Ce sont des dérivés des phytostérols. Ces composés se retrouvent naturellement dans la fraction lipidique des plantes. Un exemple fréquent de stérol est le cholestérol. Leur structure générale comprend quatre cycles dont trois possèdent six chaînes et le dernier en a cinq (**Muanda, 2010**).

3.5. Stéroïdes

Les stéroïdes sont des lipides dérivés des triterpénoïdes, principalement du squalène. Ils possèdent un noyau hydrophobe cyclopentanophénanthrénique, parfois modifié, et portent généralement des groupes méthyle (C10, C13) et un groupe alkyle (C17). En médecine, le terme désigne les hormones stéroïdiennes, tandis qu'en sport, il fait référence aux stéroïdes anabolisants (**Muanda, 2010**).

3.6. Les saponosides

Le terme « saponine » vient du latin *sapo*, qui signifie « savon », en raison de la capacité des saponines (ou saponosides) à produire de la mousse lorsqu'elles sont mélangées à de l'eau. Ce sont des composés naturels non volatils possédant des propriétés tensioactives. Ils sont largement répandus dans la nature, en particulier dans le règne végétal, où ils sont présents dans de nombreuses espèces. Leur distribution étendue et leur comportement en tant qu'agents de surface ont été bien documentés (**Hostettmann et Marston, 1995 ; Lásztity et al., 1998 ; Oleszek et Stochmal, 2002**).

Les saponines sont des hétérosides constitués de deux éléments : une chaîne glucidique soluble dans l'eau et une structure aglycone lipophile (soluble dans les lipides), généralement de nature triterpénique ou stéroïdique (**Chaieb, 2010**) :

- ✓ **Les Saponines stéroïdiques** : se trouvent presque uniquement chez les monocotylédones. Ils se composent d'un aglycone stéroïdique, un squelette spirostane de C27, qui comprend habituellement une structure à six cycles (**Betina -Bencharif, 2014**).
- ✓ **Les Saponines triterpéniques** : sont les plus fréquents, se produisent principalement chez les dicotylédones angiospermes (**Bährle-Rapp, 2007**). Ils sont formés d'un aglycone triterpénique, comportant un squelette de 30 carbones et une structure pentacyclique (**Betina -Bencharif, 2014**).

3.7. Anthraquinones

Les anthraquinones sont des composés de la famille des quinones, caractérisés par une structure à trois cycles benzéniques et deux groupes cétoniques sur le cycle central. Leur diversité provient des substituants (R1 à R8) qui remplacent les atomes d'hydrogène, tels que $-OH$, $-CH_3$, ou $-COOH$. Lorsqu'ils contiennent des groupes hydroxyles, on parle d'hydroxyanthraquinones (HAQN), des molécules colorées capables d'absorber la lumière visible (Fouillaud, 2016).

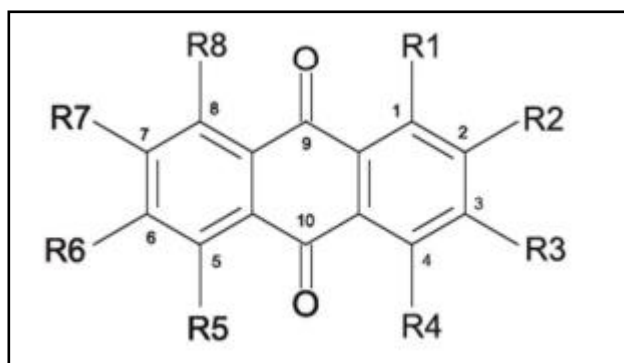


Figure 14 : Structure générale d'anthraquinone (Fouillaud, 2016)

Chapitre III : Les Activités biologiques de *Zizyphus lotus*

1. L'activité antioxydante

1.1. Généralités

L'oxygène est essentiel pour le bon fonctionnement des cellules, mais il peut aussi avoir des effets nocifs. En effet, certaines réactions dans le corps peuvent transformer l'oxygène en substances appelées espèces réactives de l'oxygène (ERO), qui peuvent endommager les cellules. Lorsque la production de ces ERO dépasse les capacités des systèmes de défense antioxydants de l'organisme, un stress oxydatif s'installe. Ce déséquilibre peut abîmer les cellules et les tissus **(Tohma *et al.*, 2017)**.

Cette situation génère des dommages cellulaires souvent irréversibles affectant l'ADN, les protéines et les lipides, et est impliquée dans la genèse de nombreuses pathologies graves telles que le cancer, l'athérosclérose, l'arthrite ou encore diverses maladies neurodégénératives **(Evans et Halliwell, 1999)**.

1.2. Le stress oxydatif

Dans les systèmes vivants, le stress oxydatif résulte d'un déséquilibre entre la formation des dérivés réactifs de l'oxygène (ERO) et leur neutralisation par les systèmes de protection antioxydants **(Ammari et Laouar, 2019)**.

1.3. Les antioxydants

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de limiter les effets néfastes des radicaux libres dans l'organisme. Ils jouent un rôle essentiel en maintenant les concentrations des ERO à des niveaux non toxiques pour les cellules **(Vansant, 2004)**.

Ces antioxydants peuvent être d'origine enzymatique ou non enzymatique, et proviennent soit de mécanismes internes (endogènes), soit de sources extérieures (exogènes) **(Abudunia, 2018)**.

Les antioxydants présents dans de nombreuses plantes sont reconnus pour leur capacité à atténuer les processus liés au stress oxydatif. Leurs effets bénéfiques sur la santé humaine ont été associés à la prévention de diverses maladies dégénératives, telles que le cancer et les pathologies cardiovasculaires **(Kromhout, 2001)**.

D'après **(Valko *et al.*, 2004)**, un antioxydant efficace doit répondre à plusieurs critères essentiels :

- Il doit posséder la capacité de neutraliser directement et spécifiquement les radicaux libres.
- Il doit pouvoir interagir avec d'autres agents antioxydants et, dans la mesure du possible, favoriser leur régénération.
- Il doit exercer une influence bénéfique sur la régulation de l'expression des gènes

- Il doit présenter une bonne biodisponibilité, c'est-à-dire être rapidement absorbé par l'organisme.
- Il doit également être actif aussi bien dans les milieux hydrophiles ou lipophiles (membranaires).

1.4. Définition d'un radical libre

Un radical libre se définit comme une espèce chimique instable, caractérisée par la présence d'un ou plusieurs électrons non appariés, ce qui la rend extrêmement réactive (**Merouane *et al.*, 2014**). Sont naturellement produits en faibles quantités dans toutes les cellules de l'organisme, principalement au niveau des mitochondries. Il s'agit notamment d'ions oxygène, d'ions hydroxyde et de peroxyde d'hydrogène, générés lors des réactions biochimiques. Avant d'être neutralisées par les systèmes antioxydants, ces espèces réactives peuvent endommager les structures cellulaires avec lesquelles elles entrent en contact (**Muanda, 2010**).

Tableau 6 : Radicaux libres dérivés de l'oxygène et de l'azote (**Bisbal *et al.*, 2010**)

Nom	Formule
$O_2\bullet^-$	Radical superoxyde
$HO_2\bullet$	Radical perhydroxyle
$\bullet OH$	Radical hydroxyle
$RO_2\bullet$	Radical peroxyde
$RO\bullet$	Radical alkoxyde
$NO_2\bullet$	Dioxyde d'azote
$ROONO$	Peroxynitrite
$ONOO\bullet$	Radical peroxynitrite

1.5. L'activité antiradicalaire et antioxydante

L'activité antiradicalaire désigne la capacité d'un composé à réagir directement avec les radicaux libres (dans le cadre d'une réaction unique). En revanche, l'activité antioxydante correspond à l'aptitude à inhiber le processus d'oxydation, lequel implique généralement, notamment dans le cas des lipides, une série de réactions en chaîne (**Burlakova *et al.*, 1975 ; Tirzitis et Bartosz, 2010**).

1.6. Classement des antioxydants

Il existe deux principaux types de mécanismes de défense antioxydante permettant de lutter contre les effets toxiques des espèces réactives de l'oxygène (ERO) : l'un repose sur des antioxydants non enzymatiques, tandis que l'autre fait intervenir des enzymes spécifiques (**Liu, 2004**).

1.6.1. Antioxydants enzymatiques

Plusieurs systèmes enzymatiques interviennent dans la catalyse de réactions visant à neutraliser les radicaux libres et les espèces réactives de l'oxygène. Parmi ces enzymes, on retrouve notamment :

1.6.1.1. Superoxyde dismutase (SOD)

La superoxyde dismutase est une métalloprotéine qui joue un rôle clé dans le système de défense cellulaire contre les radicaux libres. Elle catalyse la réaction de dismutation de l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) en oxygène moléculaire (O_2) et en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), contribuant ainsi à la réduction du stress oxydatif (Haleng *et al.*, 2007).

1.6.1.2. Catalase

La catalase est une enzyme localisée principalement dans les peroxysomes (Valko *et al.*, 2006 ; Niki *et al.*, 2007) mais également présente dans les mitochondries ainsi que dans le cytoplasme, notamment dans les cellules dépourvues de ces organites, comme les érythrocytes (Lindau-Sehpard *et al.*, 1993). Elle catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau et en oxygène (Stocker *et al.*, 2004).

1.6.1.3. Glutathion peroxydase (GPx)

La glutathion peroxydase (EC 1.11.1.19) est une enzyme tétramérique dont chaque sous-unité contient un atome de sélénium, ce qui en fait une sélénoprotéine. Elle joue un rôle essentiel dans la détoxification des radicaux libres, notamment en protégeant l'ADN contre l'oxydation (Belkheiri, 2010) et en réduisant les peroxydes lipidiques (Haleng *et al.*, 2007). Cette action est assurée par la réduction des hydroperoxydes en parallèle avec l'oxydation d'un substrat réducteur, généralement le glutathion en utilisant les capacités réductrices du couple glutathion/glutathion disulfide (GSH/GSSG) (Matés *et al.*, 1999 ; Delattre *et al.*, 2005 ; Lacolley *et al.*, 2007 ; Tavares, 2012).

1.6.2. Antioxydants non enzymatiques

Les vitamines E (α -tocophérol) et C (acide ascorbique), ainsi que divers polyphénols d'origine végétale (flavonoïdes, xanthones, coumarines, caroténoïdes, dérivés d'acide phénolique, tanins, anthocyanines, ... etc.), sont des composés essentiels. La majorité d'entre eux ne sont pas produits par l'organisme et doivent donc être fournis par l'alimentation (McCall *et al.*, 1999).

1.6.2.1. L'Acide urique

À pH physiologique, l'urate possède des propriétés antioxydantes in vitro, comparables à celles de la bilirubine, des mélanines et de la mélatonine (Delattre *et al.*, 2005). Il agit efficacement contre les radicaux OH^{\bullet} et ROO^{\bullet} et piège puissamment 1O_2 , O_3 et $HOCl$ (Belkheiri, 2010).

1.6.2.2. Le glutathion

Parmi les nombreux thiols, il est le plus abondant et se retrouve généralement sous forme réduite. Il possède la capacité de réagir in vitro avec divers radicaux, les hydroxyles ($^{\bullet}OH$), les peroxydes (ROO^{\bullet}), le singulet d'oxygène (1O_2), l'ozone (O_3), l'acide hypochloreux ($HOCl$), le

peroxynitrite (ONOO^-), ainsi qu'avec des radicaux centrés sur le carbone. De plus, il intervient dans l'activité enzymatique impliquée dans la détoxification du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et d'autres hydroperoxydes (McCall *et al.*, 1999 ; Masella *et al.*, 2005 ; Tavares, 2012).

1.6.2.3. La vitamine C

La vitamine C appelé aussi l'acide L-ascorbique. Chez l'homme, la vitamine C, apportée par l'alimentation, agit comme un puissant antioxydant. Elle piège les espèces oxygénées réactives, régénère la vitamine E, et joue un rôle clé dans l'immunité, la synthèse du collagène, des globules rouges et le métabolisme du fer (Haleng *et al.*, 2007).

1.6.2.4. La vitamine E

La vitamine E appartient à la famille des tocophérols, qui regroupe quatre formes principales α , β , γ et δ . Parmi celles-ci, l' α -tocophérol est la forme la plus biologiquement active (Cuvelier *et al.*, 2003). Les tocophérols, grâce à leur hydrophobicité, protègent les membranes contre la peroxydation lipidique. La vitamine E possède, d'une part, la capacité de piéger chimiquement l'oxygène singulet en s'oxydant en quinone, et d'autre part, de neutraliser le radical hydroxyle ($\text{HO}\cdot$). Toutefois, sa fonction biologique principale consiste à interagir avec les radicaux peroxydes ($\text{ROO}\cdot$), conduisant à la formation d'un radical tocophéryle (Delattre, 2005).

1.6.2.5. Les caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments fabriqués par les végétaux, le lycopène et le β -carotène sont des caroténoïdes aux propriétés antioxydantes. Le β -carotène a la capacité de piéger les radicaux hydroxyles ($\text{HO}\cdot$) et peroxydes ($\text{ROO}\cdot$), ce qui lui permet d'interrompre les chaînes de peroxydation lipidique. Il peut également neutraliser l'oxygène singulet ($^1\text{O}_2$) (Beaudeux *et al.*, 2011). Le β -carotène, précurseur de la vitamine A, est bénéfique à doses alimentaires mais peut être nocif à fortes doses (Haleng *et al.*, 2007).

1.6.2.6. Les polyphénols

Les composés phénoliques, et plus particulièrement les flavonoïdes, sont largement étudiés pour leurs propriétés antioxydantes, en tant qu'alternatives naturelles aux antioxydants synthétiques, dont l'utilisation peut présenter des risques toxiques. Leur capacité à neutraliser les espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Albayrak *et al.*, 2010). Se manifeste sous diverses formes dans la régulation du stress oxydatif. En effet, ces composés peuvent agir directement en piégeant les radicaux libres, en inhibant les enzymes génératrices de ROS, ou encore en chélatant les cations métalliques impliqués dans les réactions pro-oxydantes (Marfak, 2003 ; Fuorruci, 2006).

1.7. Méthode d'évaluation de l'activité antioxydante

Tableau 6 : Évaluation de l'activité antioxydante in vitro

Exemples	Méthodes	
	Transfert d'électron	Transfert d'atome d'hydrogène et d'électron
Mécanisme réactionnels	FRAP (Ferric Reducing Antioxydant Power) (Pouvoir réducteur de l'ion ferrique) Phénantroline (1,10-Phénantroline (o-phen) (réduction par la formation de complexe Fe^{+2} -Phénantroline)	DPPH (2,2-Di-Phényle-1 Picryl-Hydrazyle) (Piégeage du radical DPPH [•]). ABTS : Acide 2,2'-azino (3-éthyl Benzo Thiazoline) 6-Sulfonique (Réduction du radical-cation ABTS ^{•+}).
Nature de la molécule testée	Hydrophile et lipophiles (FRAP). Hydrophile (Phénantroline)	Hydrophile et lipophiles (DPPH). Hydrophile (ABTS).
Référence	(Bergounhou, 1996 ; Pellegrini <i>et al.</i> , 2003)	(Arts <i>et al.</i> , 2004)

2. L'activité antidiabétique

2.1. Définition du diabète sucré

Le diabète sucré regroupe un ensemble de pathologies métaboliques définies par une hyperglycémie chronique, consécutive à un déficit de la sécrétion d'insuline, à une altération de son action, ou à la combinaison de ces deux dysfonctionnements. Cette hyperglycémie prolongée est à l'origine, à long terme, de complications organiques spécifiques, affectant notamment les yeux, les reins, les nerfs périphériques, le cœur et le système vasculaire (Drouin *et al.*, 2000).

2.2. Classification

Il existe plusieurs formes de diabète, certaines étant plus prévalentes que d'autres et présentant des étiologies distinctes. Selon l'American Diabetes Association (ADA, 2014), le diabète sucré peut être classé en quatre types majeurs :

2.1.1. Diabète de type 1 (anciennement insulino-dépendant DID)

Le diabète de type 1, aussi connu sous le nom de diabète insulino-dépendant (DID) ou anciennement appelé diabète juvénile, se caractérise par une hyperglycémie chronique résultant d'un dysfonctionnement du pancréas endocrine, ce dernier n'assure plus la sécrétion d'insuline en raison de la destruction des cellules des îlots de Langerhans, entraînant ainsi une insulino-pénie (**Calop et al., 2008**). Le diabète sucré de type 1 résulte de la synergie entre des facteurs génétiques, environnementaux et immunologiques qui aboutit à la destruction des cellules β pancréatiques (**Sollu et al., 2010**). Cette destruction auto-immune provoque une carence absolue en insuline (**Ahmadi et al., 2009**). On distingue deux sous-types (**Dejckhamron et al., 2007**) :

- **Type 1A**, caractérisé par la présence d'auto-anticorps dirigés contre les cellules des îlots de Langerhans.
- **Type 1B**, défini par l'absence de ces auto-anticorps.

2.2.2. Le diabète de type 2

Anciennement nommé Diabète Non Insulino-Dépendant (DNID). Résulte d'un déficit progressif de la sécrétion d'insuline, survenant dans un contexte de résistance à l'insuline au niveau des tissus périphériques (**ADA, 2014**).

Le diabète de type 2 constitue une pathologie métabolique multifactorielle, définie par la coexistence de deux altérations physiopathologiques majeures (**Grimaldi, 2009**) :

- Une diminution de la sensibilité des tissus cibles à l'action de l'insuline, phénomène connu sous le nom d'insulino-résistance, affectant principalement les voies métaboliques du glucose et des lipides.
- Une dysrégulation de la sécrétion hormonale pancréatique, se traduisant par une réduction à la fois quantitative et qualitative de la libération d'insuline, associée à une hypersécrétion de glucagon.

2.2.3. Diabète gestationnel

Le diabète gestationnel correspond à une intolérance au glucose diagnostiquée pour la première fois au cours de la grossesse, survenant le plus souvent au cours du deuxième ou du troisième trimestre. Il peut parfois révéler un diabète de type 2 préexistant. Cette anomalie métabolique résulte, en partie, de l'effet inhibiteur des hormones placentaires notamment l'Hormone Placentaire Lactogène (HPL) sur l'action de l'insuline, induisant ainsi une insulino-résistance. Le diabète gestationnel touche environ 1 à 4 % des grossesses (**Blumental et al., 2008**). Il est classiquement associé à une augmentation de la morbidité et de la mortalité périnatales, ainsi qu'à une fréquence accrue de complications à long terme chez la mère et l'enfant (**Jiménez-Moleón et al., 2002**). Le DG constitue également un facteur de risque majeur pour le développement ultérieur d'un diabète de

type 2 (Naylor *et al.*, 1997). Son diagnostic repose généralement sur un test de tolérance au glucose par voie orale (Naylor *et al.*, 1997).

2.3. Diagnostic

Le diagnostic du diabète repose sur la mise en évidence d'une hyperglycémie, définie par une glycémie à jeun supérieure ou égale à 1,26 g/l (7 mmol/l), ou par une glycémie mesurée deux heures après une charge orale en glucose (glycémie postprandiale) dépassant 2 g/l (11,1 mmol/l) (Bonnetfont-Rousselot *et al.*, 2004).

3. Inhibition de l'activité de l'alpha-amylase

3.1. Généralités

Les enzymes, véritables catalyseurs biologiques, interviennent de manière essentielle dans les réactions biochimiques indispensables à la croissance, à la maturation et à la reproduction des êtres vivants. Évaluer leur activité catalytique dans les échantillons biologiques permet de les quantifier, ce qui revêt une importance majeure dans de nombreux domaines scientifiques (Glatz, 2006).

3.2. Définition de l'alpha-amylase

L' α -amylase est une enzyme digestive majeure produite par les glandes salivaires et le pancréas chez les mammifères. Elle appartient à la famille des hydrolases et catalyse l'hydrolyse des liaisons $\alpha(1\rightarrow4)$ des polysaccharides comme l'amidon, produisant du glucose, de la maltodextrine et des oligosaccharides (Maarel *et al.*, 2002 ; De Souza *et al.*, 2010 ; Kato *et al.*, 2017). Produite par divers organismes (plantes, animaux, micro-organismes) (Tanyildizi *et al.*, 2005), l' α -amylase est aussi l'une des enzymes les plus utilisées en biotechnologie, représentant environ 25 % du marché mondial des enzymes (De Souza *et al.*, 2010).

3.3. Structure de l'alpha amylase

L' α -amylase humaine est une métalloprotéine dépendante du calcium, composée de 512 acides aminés avec un poids moléculaire de 57,6 kDa (Whitcomb *et al.*, 2007). Elle comprend trois domaines : le domaine A, de structure $(\alpha/\beta)_8$, le domaine B, inséré entre A et C et relié à A par une liaison disulfure, et le domaine C, en feuillet β , de fonction encore inconnue. Le site actif est situé entre les domaines A et B, dans une cavité qui accueille le substrat. Le calcium, localisé à l'interface des domaines A et B, est essentiel à l'activité enzymatique et à la stabilité structurale (Fogarty *et al.*, 1980 ; Chiba, 1988 ; Whitcomb *et al.*, 2007).

Les résidus catalytiques impliqués sont Asp206, Glu230 et Asp297 (**Muralikrishna *et al.*, 2005**), et le site de liaison du substrat comprend 5 sous-sites. La catalyse se produit au niveau du sous-site 3, avec la liaison du substrat possible aux sous-sites 1 ou 2, permettant la coupure entre différents résidus de glucose (**Whitcomb *et al.*, 2007**).

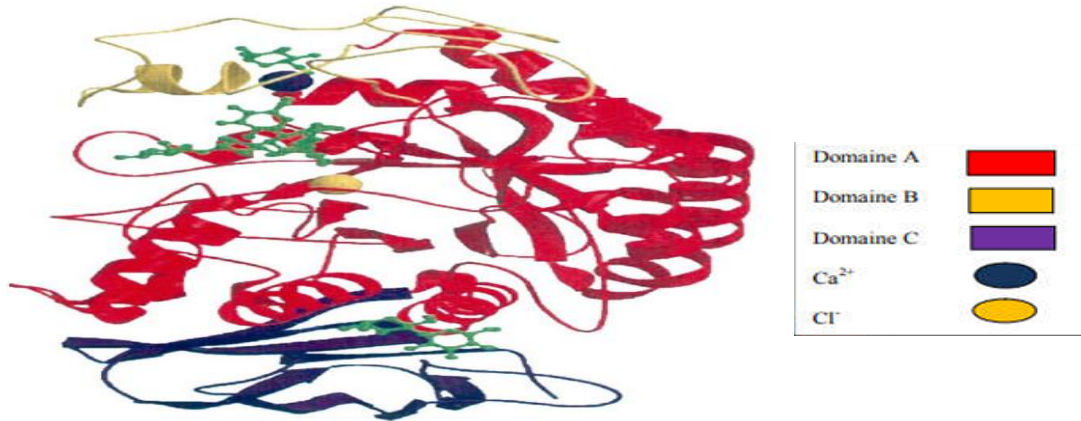


Figure 15 : Structure tridimensionnelle de l' α -amylase (**Payan, 2004**)

3.4. Caractéristiques générales

3.4.1. PH optimal

Les α -amylases sont actives dans une large gamme de pH (4 à 9). Celles d'origine fongique ont un optimum acide (pH 4 à 5), tandis que les α -amylases bactériennes sont plus efficaces en milieu légèrement alcalin (pH 6 à 8,5). Pour l'amylase pancréatique et salivaire, le pH optimal est généralement autour de 6,9, avec une variation entre 6,5 et 7,2 selon les sources (**Larpent-Gourgaud et Sanglier, 1992 ; Ishikawa *et al.*, 1993**).

3.4.2. Température optimale

Les α -amylases ont en général une température optimale comprise entre 25°C et 70°C. Les α -amylases bactériennes, particulièrement stables, présentent un optimum thermique plus élevé, variant de 50°C à 90°C), tandis que celles d'origine fongique sont actives entre 40°C et 60°C (**Larpent-Gourgaud et Sanglier, 1992 ; Vertiani *et al.*, 1998**).

3.5. Activateurs et inhibiteurs de l' α -amylase

Les plantes représentent une source précieuse de composés bioactifs capables d'inhiber l' α -amylase, une stratégie utile dans la gestion du diabète de type 2 et de l'obésité. En interagissant avec le site actif de l'enzyme, ces composés réduisent l'absorption des glucides. Certains extraits végétaux peuvent ainsi être valorisés comme agents thérapeutiques naturels ou aliments fonctionnels pour aider à réguler la glycémie (**Garrett *et al.*, 2000 ; De Sales *et al.*, 2012**).

Tableau 7 : Activateurs et inhibiteurs inorganiques et organiques de l' α -amylase salivaire.

Organique		Références	Inorganiques		Références
Activateurs	Acétyl choline Albumine Carbonate Pancréozymine	(Whelan, 1964 ; Mercier, 1985 ; Schamburg <i>et al.</i> , 1991)	Activateurs	Chlorures Bromures Nitrates Iodures Phosphates Calcium Magnésium	(Whelan, 1964 ; Mercier, 1985 ; Schamburg <i>et al.</i> , 1991)
Inhibiteurs	Maltose D-glucose, D- xylose Citrate Oxalate Acarbose Miglitol Voglibose Nojirimycine	Kameda <i>et al.</i> , 1984 ; Mercier, 1985 ; Oboh <i>et al.</i> , 2014)	Inhibiteurs	Mercure Fer Argent Cuivre	(Whelan, 1964 ; Mercier, 1985 ; Schamburg <i>et al.</i> , 1991)

3.6. L' α -amylase et le métabolisme glucidiques

La digestion des glucides est généralement simple, sauf pour l'amidon, qui nécessite une première dégradation dans la lumière intestinale avant d'être transformé en monosaccharides au niveau de la bordure en brosse des entérocytes (Lecleire, 2008). Cette dégradation débute dès la mastication par l' α -amylase salivaire, bien que son action soit limitée par l'acidité gastrique. La digestion principale est assurée par l' α -amylase pancréatique, qui hydrolyse les liaisons $\alpha(1-4)$ de l'amidon en oligosaccharides et disaccharides (Fogel *et al.*, 1973). L' α -amylase et l' α -glucosidase jouent un rôle central dans le métabolisme des glucides : la première coupe les longues chaînes d'amidon, tandis que la seconde les transforme en monosaccharides absorbables. L'inhibition de ces enzymes ralentit la digestion et retarde l'absorption du glucose, limitant ainsi les pics de glycémie postprandiale (Bischoff, 1994 ; Sudhir *et al.*, 2002).

PARTIE II

EXPERIMENTALE

Chapitre I : Matériel et méthodes

1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des feuilles de la plante *Zizyphus lotus*, achetées au mois de février chez un herboriste, après avoir été récoltées au niveau de la wilaya de Constantine.

1.1. Séchage et broyage

Les feuilles sont préalablement rincées à l'eau afin de les débarrasser de la poussière et des matières étrangères. Elles sont ensuite séchées à température ambiante, dans un endroit aéré et à l'abri de la lumière. Une fois sèches, elles sont réduites en poudre fine à l'aide d'un broyeur électrique. La poudre obtenue est conservée à l'abri de l'air, de l'humidité et de la lumière, dans un flacon en verre hermétiquement fermé. Le broyage permet d'augmenter la surface de contact entre le solvant et la poudre, facilitant ainsi l'extraction des composés bioactifs.



Les feuilles de *Zizyphus lotus*



La poudre de *Zizyphus lotus*

Figure 16 : Broyage des feuilles de *Zizyphus lotus*

2. Méthodes

2.1. Extraction par infusion

20 g de poudre végétale sont mis en contact avec 200 ml d'eau distillé bouillante, l'ensemble est laissé en infusion pendant 1 heure, puis la solution est filtrée avec du coton. Cette opération est répétée trois fois, et les trois fractions obtenues sont ensuite réunies.

2.2. Extraction par macération

50 g de poudre végétale sont mélangés avec 200 ml d'une solution hydro-méthanolique (MeOH /H₂O ; 80 : 20 ; v /v) l'ensemble est laissé en macération pendant 72 heures, à température ambiante et à l'obscurité.

L'opération est répétée trois fois, avec renouvellement du solvant toutes les 24 h, afin d'extraire le maximum des molécules bioactives. Après filtration du mélange sur papier filtre, les trois fractions obtenues sont rassemblées.

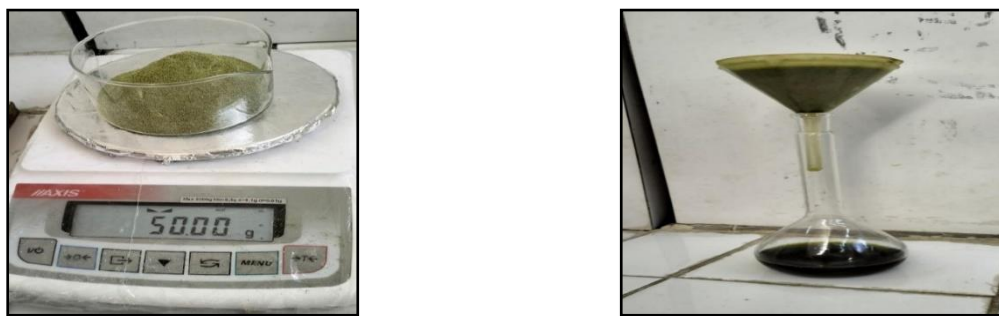


Figure 17 : Préparation de l'extrait hydro-méthanolique de *Zizyphus lotus*



Figure 18 : Extrait hydro-méthanolique des feuilles de *Z. lotus*

2.3. Évaporation

L'extrait hydro-méthanolique obtenu est concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif à 40 °C, jusqu'à évaporation complète du solvant utilisé lors de la macération. Cette étape a permis d'éliminer le solvant et d'obtenir l'extrait brut des feuilles de *Zizyphus lotus*. Cet extrait brut constitue la base des étapes de fractionnement ultérieures.

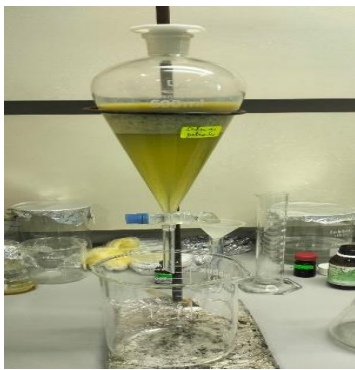









Figure 19 : Évaporation du solvant à l'aide d'un évaporateur rotatif.

2.4. Extraction liquide-liquide

Un fractionnement de l'extrait hydro-méthanolique est réalisé à l'aide de quatre solvants de polarité croissante : l'éther de pétrole, l'éther diéthylique, l'acétate d'éthyle et le n-butanol. Ce processus a permis d'obtenir trois extraits organiques : l'extrait d'éther diéthylique, l'extrait d'acétate d'éthyle et l'extrait de n-butanol. Les phases organiques ont ensuite été évaporées à sec. L'éther de pétrole, quant à lui, est utilisé uniquement pour éliminer les substances inorganiques telles que les chlorophylles, les lipides et les cires de la phase aqueuse initiale. Les extraits secs sont conservés au réfrigérateur à 4 °C en vue des analyses biologiques.

Tableau 8 : Les différentes phases obtenues lors de l'extraction liquide-liquide de l'extrait hydro-méthanolique.

<p>Éther de pétrole</p>		
<p>Éther diéthylique</p>		

<p>Acétate d'éthyle</p>		
<p>n-butanol</p>		

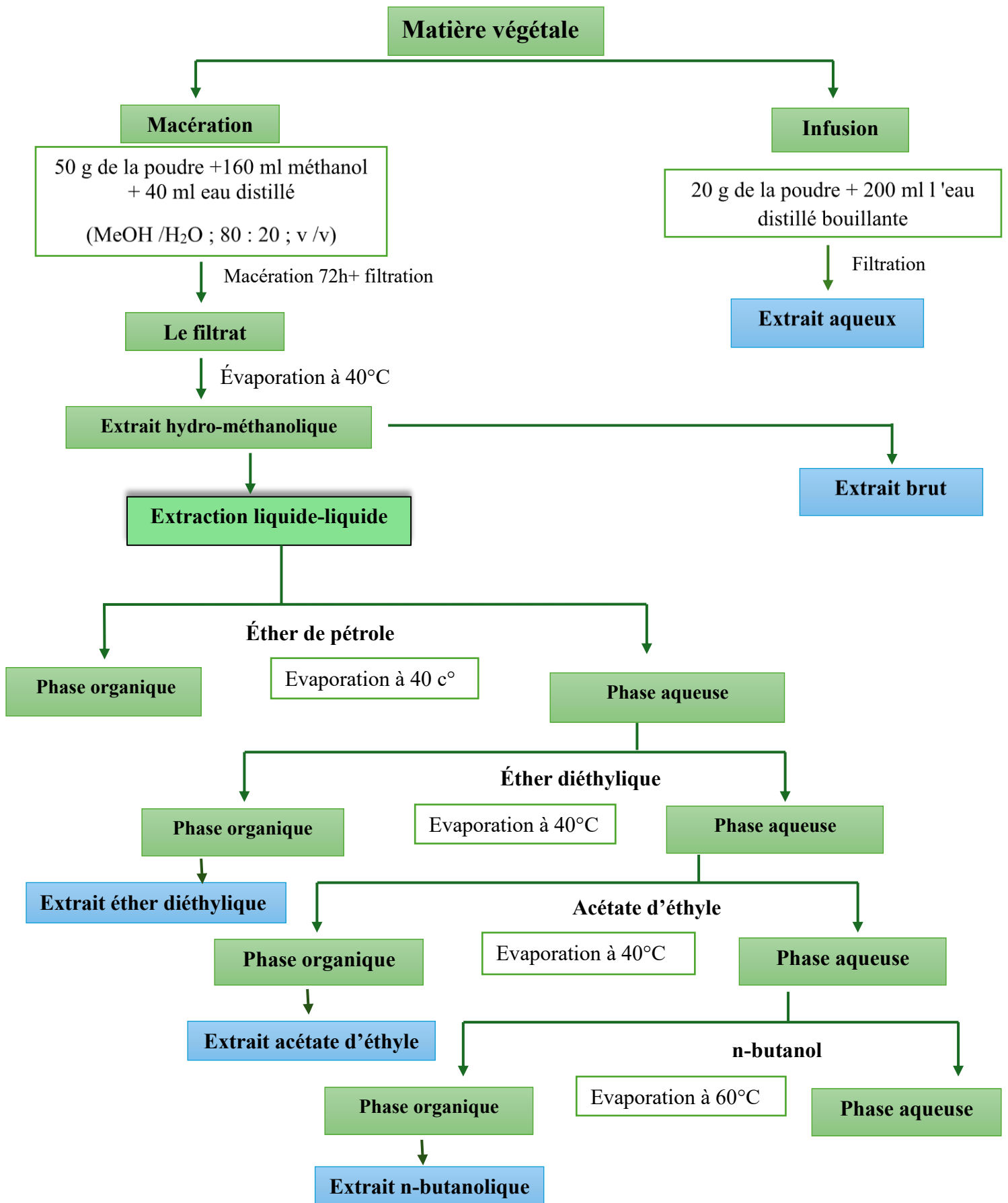


Figure 20 : Schéma des différentes étapes d'extraction de *Zizyphus lotus*

2.5. Détermination du rendement d'extraction

Le rendement d'extraction correspond au rapport entre la masse de chaque extrait obtenu après évaporation du solvant et la masse initiale du matériel végétal utilisé. Il est exprimé en pourcentage et calculé selon l'équation suivante :

$$R\% = (m_2/m_1) \times 100$$

R : représente le rendement d'extraction (%).

m_1 : la masse de la poudre végétale initialement traitée (g).

m_2 : la masse de l'extrait sec après évaporation du solvant (g).

2.6. Chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince (CCM) est une méthode analytique reposant sur la distribution des solutés entre une phase stationnaire, constituée d'un adsorbant solide et insoluble, et une phase mobile liquide. Chaque soluté subit simultanément une force de rétention due à son adsorption sur la phase stationnaire, et une force d'élution exercée par la phase mobile. L'équilibre entre ces deux forces engendre une migration différentielle des composés, permettant ainsi leur séparation au sein de l'échantillon analysé (**Richard et Thurston, 1986**).

Dans notre analyse, trois échantillons sont soumis à la CCM : l'extrait d'éther d'éthylique, l'extrait d'acétate d'éthyle et l'extrait de n-butanol afin de déterminer leurs constituants et comparer leurs profils chromatographiques.

2.6.1. Préparation de la phase stationnaire (la plaque CCM)

Une plaque de chromatographie sur couche mince recouverte de gel de silice 60 (épaisseur de 0,25 mm) est utilisée. À une distance de 1 à 1,5 cm du bord inférieur de la plaque, une ligne de dépôt est tracée délicatement au crayon à papier. Cette ligne, destinée à recevoir les échantillons, ne doit en aucun cas entrer en contact avec la phase mobile lors du développement. Les emplacements des échantillons sont marqués le long de cette ligne, en respectant un espacement suffisant entre chaque point de dépôt. Chaque emplacement est identifié à l'aide d'un chiffre afin d'assurer une traçabilité correcte.

2.6.2. Préparation de la phase mobile

Les différents systèmes solvants utilisés sont présentés dans **le tableau 10** :

Tableau 9 : Systèmes solvants utilisés pour CCM (Roumeissa et Maya, 2015)

Extrait	Système solvant (V : V : V)
Extrait éther diéthylique	CHCl ₃ /Acétone (9.5 :0.5)
Extrait acétate d'éthylique	CHCl ₃ /MeOH (9 :1)
Extrait n-butanolique	CHCl ₃ /MeOH /H ₂ O (6.5 :3.2 :0.3)
Les trois extraits	CHCl ₃ /MeOH (9 :1)

Des gouttes provenant des différents extraits sont déposées sur la ligne de départ de la plaque CCM, à environ un centimètre du bord, en plusieurs fois et en petit volume (en microlitres), en laissant sécher entre chaque dépôt. Ensuite, la plaque est placée délicatement dans la cuve contenant la phase mobile, puis celle-ci est refermée. La migration du solvant s'effectue par capillarité. Une fois que le front du solvant a atteint la hauteur souhaitée, la plaque est retirée, séchée, puis visualisée à l'aide des systèmes de révélation.

2.6.3. La révélation

Pour visualiser les composés séparés sur la plaque de chromatographie, deux types de révélation sont réalisées :

- Une révélation physique, effectuée sous lampe UV dans l'obscurité à 254 nm.
- Une révélation chimique, réalisée à l'aide d'un révélateur spécifique composé de 0,5 ml d'acide sulfurique, 50 ml d'éthanol et 0,25 g de vanilline, suivie d'un chauffage.

2.7. Criblage phytochimique

Ce test permet une analyse qualitative basée sur des réactions de coloration et/ou de précipitation utilisant des réactifs spécifiques, dans le but de mettre en évidence des substances chimiques contenues dans les feuilles de *Zizyphus lotus*. Ces techniques jouent un rôle essentiel dans l'identification des classes de composés physiologiquement actifs et peuvent contribuer à l'isolement de molécules d'intérêt (Franzyk *et al.*, 1998). Ce criblage est réalisé sur les différents extraits de feuilles de *Z. lotus*.

Les différents groupes chimiques sont caractérisés selon les techniques décrites dans les travaux de (Nemlin et Brunel, 1995 ; Békro *et al.*, 2007 ; Bruneton, 2009).

- **Détection des polyphénols (La réaction au chlorure ferrique (FeCl₃))**

Une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique à 2 % est ajoutée à 2 ml d'extrait. L'apparition d'une coloration bleu-noirâtre ou vert foncé (plus ou moins intense) indique une réaction positive, suggérant la présence de polyphénols.

- **Détection des flavonoïdes (Test à la soude)**

Dans un tube contenant 3 ml de solution de l'extrait, quelques gouttes de NaOH à 10 % sont ajoutées. L'apparition d'une coloration jaune à jaune-orangé indique une réaction positive, suggérant la présence de flavonoïdes.

- **Détection des saponines (Indice mousse)**

0,1 g d'extrait est dissous dans un tube à essai contenant 10 ml d'eau distillée. Le tube est agité vigoureusement dans le sens longitudinal pendant 30 à 45 secondes, puis laissé au repos pendant 15 minutes. La hauteur de la mousse formée est ensuite mesurée.

La présence de saponines est indiquée par la persistance d'une mousse d'une hauteur supérieure à 1 cm (Karumi et *al.*, 2004).

- **Détection des stéroïdes (Test de Salkowski)**

À 1 ml d'extrait, 5 gouttes d'acide sulfurique concentré (H_2SO_4) sont ajoutées. L'apparition d'une coloration rouge indique une réaction positive, suggérant la présence de stéroïdes.

- **Détection des leucoanthocyanes**

À 1 ml d'extrait, 5 ml d'alcool chlorhydrique (HCL et Ethanol) sont ajoutés. Le mélange est ensuite chauffé au bain-marie pendant 15 minutes.

L'apparition d'une coloration rouge cerise ou violacée indique la présence de leucoanthocyanes.

- **Détection des anthocyanes**

À 5 ml d'extrait à 5 %, 5 ml d'acide sulfurique à 10 % (H_2SO_4) sont ajoutés, suivis de 5 gouttes d'ammoniaque (NH_4OH) à 25 %.

Le renforcement de la teinte en milieu acide, suivi d'un virage vers une coloration bleu-violacée en milieu basique, indique la présence d'anthocyanes.

- **Détection des coumarines**

À 5 ml d'extrait, 2 ml d'eau distillé chaude sont ajoutés, puis la solution est divisée entre deux tubes à essai. Dans chaque tube, 0,5 ml d'ammoniaque (NH_4OH) à 25 % sont ajoutés. Les tubes sont ensuite observés sous lumière UV à 366 nm. L'apparition d'une fluorescence intense révèle la présence des coumarines.

- **Détection des tannins (Réaction au chlorure ferrique à 1 %)**

À 1 ml d'extrait placé dans un tube à essai, on a ajouté 2 ml d'eau distillée, suivis d'une à deux gouttes de solution de chlorure ferrique à 1 %.

L'apparition d'une coloration bleue, bleu-noir ou noire indique la présence de tannins

galliques, tandis qu'une coloration verte ou vert foncé révèle la présence de tannins catéchiques (Haddouchi *et al.*, 2016).

- **Détection des alcaloïdes**

Deux tests d'identification des alcaloïdes sont réalisés à l'aide de réactifs spécifiques : le réactif de Mayer et le réactif de Wagner, reposant sur des réactions de précipitation.

Dans un tube à essai, 2 mL d'une solution d'acide chlorhydrique à 1 % sont ajoutés à 1 mL de chaque extrait. Le mélange est ensuite chauffé au bain-marie. Après refroidissement, l'échantillon est divisé en deux fractions égales : La première est testée avec le réactif de Mayer et la seconde avec le réactif de Wagner.

La présence d'alcaloïdes est indiquée par la formation d'un précipité blanc jaunâtre avec le réactif de Mayer, ou d'une coloration rouge orangé à brun avec le réactif de Wagner (Haddouchi *et al.*, 2016).

- **Préparation des réactifs :**

- **Réactif de Mayer** : 5 g de KI et 1,35 g de HgCl₂ sont solubilisés dans 100 mL d'eau distillée.
 - **Réactif de Wagner** : 2 g de KI et 1,27 g de I₂ sont solubilisés dans 100 mL d'eau distillée.

- **Détection des terpènes**

Cette étape est réalisée en ajoutant 0,5 ml de chloroforme et 0,7 ml d'acide sulfurique concentré à 1 ml de chaque extrait.

L'apparition d'une coloration vert-bleu indique la présence d'hétérosides stéroïdiens, tandis qu'une teinte vert-violet traduit la présence d'hétérosides terpéniques (Haddouchi *et al.*, 2016).

- **Détection des stérols (Test de Salkowski)**

La détection des stérols repose sur la réaction de Salkowski. Quelques milligrammes de l'extrait sont placés dans 2 ml de chloroforme, puis 2 ml d'acide sulfurique concentré sont ajoutés au tube à essai. Après agitation, le mélange est laissé reposer pendant quelques minutes. La formation d'une coloration rouge dans la phase chloroformée révèle la présence de stérols (Bruneton, 1993).

- **Détection des anthraquinones**

Quelques milligrammes de chaque extrait sont dissous dans 1 ml du mélange éther de pétrole/chloroforme (1:1, v/v). La solution ainsi préparée est ensuite traitée avec 1 ml de solution de NaOH à 10 %.

L'apparition d'une couleur rouge signale la présence d'anthraquinones (Rizk, 1982).

- **Détection des protéines (réaction de biuret)**

Quelques milligrammes d'extrait sont dissous dans de l'eau, puis 1 ml d'une solution de sulfate de cuivre (CuSO_4) à 4 % est ajouté.

L'apparition d'une coloration variant du violet clair au rose indique la présence de protéines (Gornall *et al.*, 1949).

- **Détection des sucres**

Un volume de 1 ml de réactif de Fehling est ajouté à 1 ml d'extrait, préalablement dissous dans 1 ml de méthanol, dans un tube à essai. Le mélange est incubé au bain-marie bouillant pendant 8 minutes.

L'apparition d'un précipité rouge brique est interprétée comme une indication de la présence de sucres réducteurs (Belouahad et Bensammar, 2022).

2.8. Caractérisation quantitative des composés phénoliques

La caractérisation quantitative des différents extraits de la plante *Z. lotus* est réalisée de la manière suivante :

2.8.1. Dosage des polyphénols totaux

La détermination des polyphénols totaux est effectuée selon la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu (FCR), décrite initialement par (Singleton et Rossi, 1965) puis modifiée par (Muller *et al.*, 2010).

- **Principe**

Cette méthode repose sur l'utilisation d'un réactif acide de couleur jaune, composé d'un mélange d'acide phosphotungstique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$). En présence de polyphénols, ces acides sont réduits, conduisant à la formation d'un complexe bleu contenant des oxydes de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}).

L'intensité de la coloration bleue, ainsi que l'absorbance mesurée, sont proportionnelles à la concentration totale en polyphénols dans l'échantillon.

- **Mode opératoire**

Un volume de 20 μl de chaque extrait (préparé en dissolvant 1 mg de matière sèche dans 1 ml de méthanol), est ajouté à 100 μl de FCR dilué (1:10), suivi de l'ajout de 80 μl d'une solution de carbonate de sodium (7.5%). Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 2h à température ambiante, puis l'absorbance est mesurée à 765 nm. Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant les extraits par du méthanol.

L'acide gallique est préparé à différentes concentrations (0–200 $\mu\text{g}/\text{ml}$) suivant les mêmes conditions et étapes du dosage, et utilisé comme standard pour établir la courbe d'étalonnage.

Les résultats sont exprimés en mg d'équivalent d'acide gallique par gramme de poids sec de l'extrait ($\mu\text{g EAG/mg EXT}$). Toutes les mesures sont répétées trois fois.

2.8.2. Dosage des flavonoïdes totaux

▪ Principe

Le dosage des flavonoïdes dans les extraits est basé sur la formation d'un complexe avec les ions aluminium (Al^{3+}). La méthode initialement proposée par **Topçu *et al.* (2007)** est adaptée avec certaines modifications afin de permettre une analyse à haut débit en microplaque 96 puits, utilisant de faibles volumes.

▪ Procédure

Dans une microplaque à 96 puits, 50 μl de chaque extrait sont introduits, suivis de l'ajout de 130 μl de méthanol, 10 μl d'une solution d'acétate de potassium (CH_3COOK : 9,8 g/100ml de méthanol) et 10 μl d'une solution de nitrate d'aluminium non hydraté ($\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$). Un blanc est préparé en remplaçant les réactifs par du méthanol. Les mélanges ont été incubés pendant 40 minutes à température ambiante, puis l'absorbance est mesurée à 415 nm.

La quercétine, préparée à différentes concentrations (0–300 $\mu\text{g/mL}$) dans les mêmes conditions, est utilisée comme standard de référence pour établir la courbe d'étalonnage.

Les résultats sont ainsi exprimés en mg d'équivalent de quercétine par gramme de poids sec de l'extrait ($\mu\text{g EQ/mg EXT}$). Toutes les mesures sont répétées trois fois.

2.9. Les activités biologiques

Ce travail est réalisé au sein du laboratoire de Biochimie (Laboratoire 06) au niveau du Centre de Recherche en Biotechnologie de Constantine (CRBT).

Des échantillons sont préparés à partir de différents extraits : éther diéthylique, acétate d'éthyle, n-butanolique et extrait brut, à des concentrations variables. La procédure a débuté par la pesée de 4mg de chaque extrait à l'aide d'une balance analytique de haute précision. Chaque extrait est ensuite dissous dans 1 ml de méthanol (MeOH) dans des tubes Eppendorf distincts. Les tubes sont placés dans un bain à ultrasons jusqu'à obtention de solutions homogènes.

À partir de chaque solution mère, six dilutions successives sont réalisées selon l'équation (01). Pour cela, 0,5 ml de méthanol sont ajoutés dans six tubes Eppendorf de 1 ml, puis 0,5 ml de la solution mère sont transférés dans le premier tube. La dilution est répétée en transférant 0,5 ml du tube précédent dans le suivant, jusqu'au sixième tube.

$(1/2^n)$, n : nombre de dilution

Tableau 10 : Concentrations des dilutions des extraits par rapport à la concentration initiale.

Les tubes	01	02	03	04	05	06	07
Les concentrations	1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64

2.9.1 L'activité antioxydant

2.9.1.1. Test de piégeage du radical libre DPPH

➤ Principe

Le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) est un radical libre stable, chromogène de couleur violette, à température ambiante (Villaño *et al.*, 2007). Son dosage repose sur un mécanisme de transfert d'électrons : en présence d'un antioxydant capable de céder un atome d'hydrogène (AH), le radical DPPH• est réduit en sa forme non radicalaire (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine), qui est incolore ou de couleur jaune pâle (Brand-Williams *et al.*, 1995).

L'absorbance de DPPH• est généralement mesurée dans un intervalle de longueurs d'onde allant de 512 à 517 nm (Molyneux, 2004).

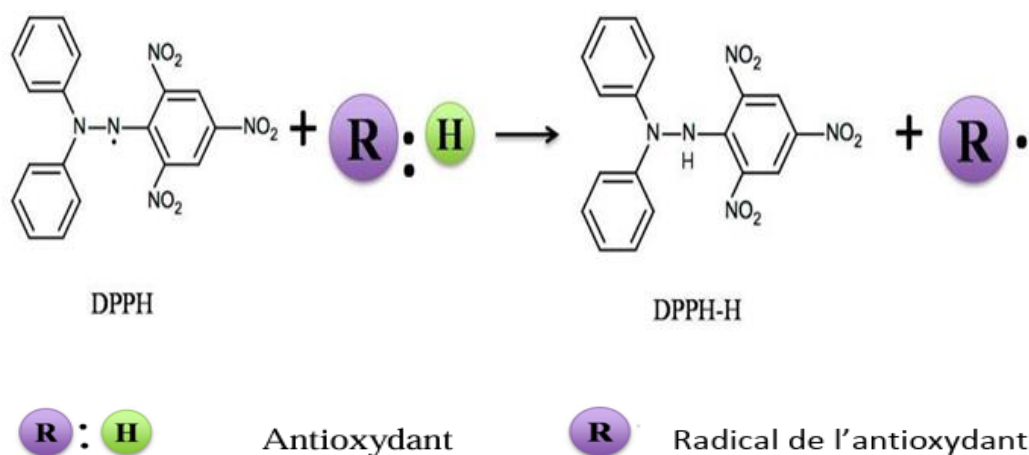


Figure 21 : Mécanisme de la réaction de 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) avec Un antioxydant (Sirivibulkovit *et al.*, 2018)

➤ Mode opératoire

Dans chaque puits de microplaque, 160 µl de la solution de DPPH récemment préparée sont versés, suivis de l'ajout de 40 µl de chaque extrait à différentes concentrations. Les puits témoins (blancs) sont préparés en remplaçant l'extrait par du méthanol (MeOH). L'ensemble est incubé pendant 30 minutes à température ambiante, à l'abri de la lumière, afin de préserver la stabilité du radical DPPH. L'absorbance est ensuite mesurée à 517 nm.

Le BHA, le BHT et l' α -tocophérol sont utilisés comme standards antioxydants dans les mêmes conditions expérimentales. Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{\text{Abs (contrôle)} - \text{Abs (extrait)}}{\text{Abs (contrôle)}} \times 100$$

2.9.1.2. Test de piégeage du radical ABTS+•

➤ Principe

L'ABTS (acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)) est une molécule stable et incolore qui en présence de persulfate de potassium ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$), s'oxyde pour former le radical ABTS+• par perte d'un électron au niveau de l'atome d'azote (**Re et al., 1999**). Ce radical se caractérise par une coloration bleu turquoise lorsqu'il est en état libre. En présence de substances antioxydantes, le radical ABTS+• est réduit, entraînant un changement de couleur de la solution vers le jaune. Ce changement de couleur est proportionnel à la capacité des antioxydants à neutraliser le radical, et dépend de leur nature, de leur concentration et de leur efficacité en tant qu'agents piégeurs de radicaux (**Miguel, 2010**).

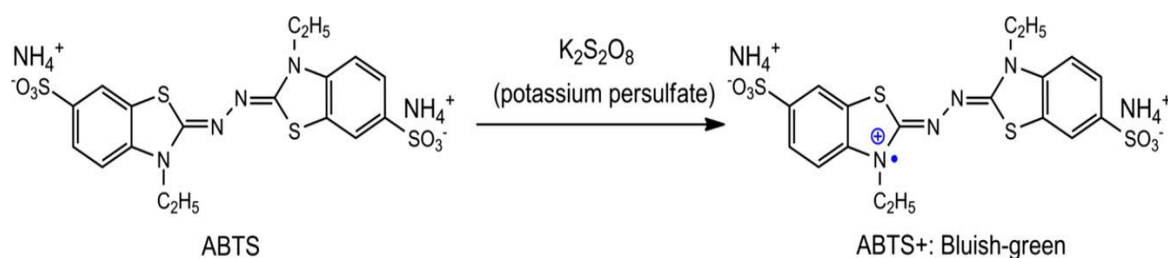


Figure 22 : Formation d'un radical ABTS (ABTS+) stable à partir d'ABTS avec du persulfate de potassium (**Xiao et al., 2020**)

➤ Mode opératoire

Dans des microplaques, 160 μl de la solution fraîche d'ABTS sont ajoutés à 40 μl d'extrait à différentes concentrations. Pour les puits témoins (blancs), l'extrait est remplacé par du méthanol (MeOH). Le mélange est ensuite incubé pendant 10 minutes dans l'obscurité, à température ambiante, avant de procéder à la lecture de l'absorbance à 734 nm. Les standards BHA et BHT sont utilisés dans les mêmes conditions expérimentales.

2.9.1.3. Activité du pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP)

➤ Principe

Le test FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) est basé sur la capacité des composés antioxydants à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}), contenu dans le complexe ferricyanure de potassium ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$), en fer ferreux (Fe^{2+}). Ce test, reconnu pour sa rapidité et sa simplicité d'exécution,

permet une évaluation directe du pouvoir antioxydant des extraits analysés. La formation du Fe^{2+} se traduit par une variation de couleur allant du jaune au bleu-vert (**Figure 19**), dont l'intensité est proportionnelle à l'activité réductrice de l'échantillon. Cette intensité est quantifiée par une lecture spectrophotométrique à 700 nm (**Chung *et al.*, 2002 ; Li *et al.*, 2008**).

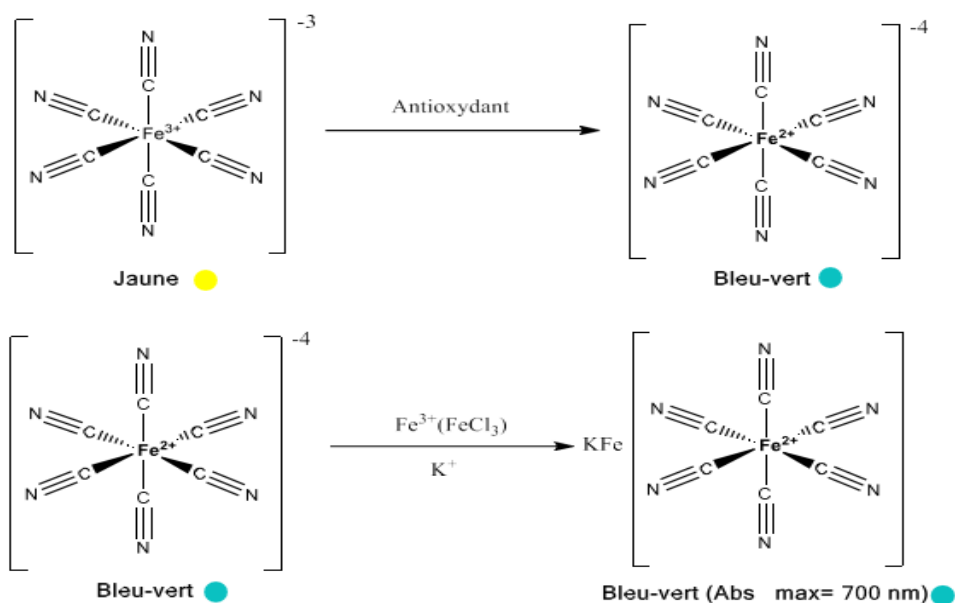


Figure 23 : Mécanisme réactionnel du test FRAP (Miller *et al.*, 1996)

➤ Mode opératoire

Le pouvoir réducteur des extraits est évalué selon la méthode décrite par (**Oyaizu, 1986**) avec quelques modifications.

Dans des microplaques à 96 puits, 10 μl d'extrait à différentes concentrations sont déposés, puis successivement 40 μl de tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et 50 μl de solution de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (1 %) sont ajoutés. Après incubation à 50 °C pendant 20 minutes, 50 μl de TCA (10 %), 40 μl d'eau distillée et 10 μl de FeCl_3 (0,1 %) sont ajoutés. L'absorbance est ensuite mesurée immédiatement à 700 nm.

Un blanc est préparé dans les mêmes conditions, l'extrait étant remplacé par du méthanol (MeOH). Les résultats sont exprimés en termes de concentration nécessaire pour atteindre une absorbance de 0,5 ($A_{0.5}$, en $\mu\text{g/ml}$). Le Trolox, l'acide ascorbique et l' α -tocophérol sont utilisés comme standards de référence.

2.9.1.4. Activité de réduction par la formation du complexe Fe^{2+} phénanthroline

➤ Principe

L'activité repose sur la formation du complexe Fe^{2+} -1,10-phénanthroline, également désigné sous le nom de ferroïne. Ce complexe est formé par la réaction entre le fer à l'état ferreux (Fe^{2+}) et la 1,10-phénanthroline (ou orthophénanthroline) en milieu acide (pH 3-4) (Figure). La ferroïne, de structure octaédrique, est un complexe soluble, stable en solution aqueuse, et présente une coloration rouge-orangé foncé. Elle est largement utilisée comme indicateur d'oxydoréduction en chimie (Belcher, 1973 ; Adhikamsetty *et al.*, 2008).

➤ Mode opératoire

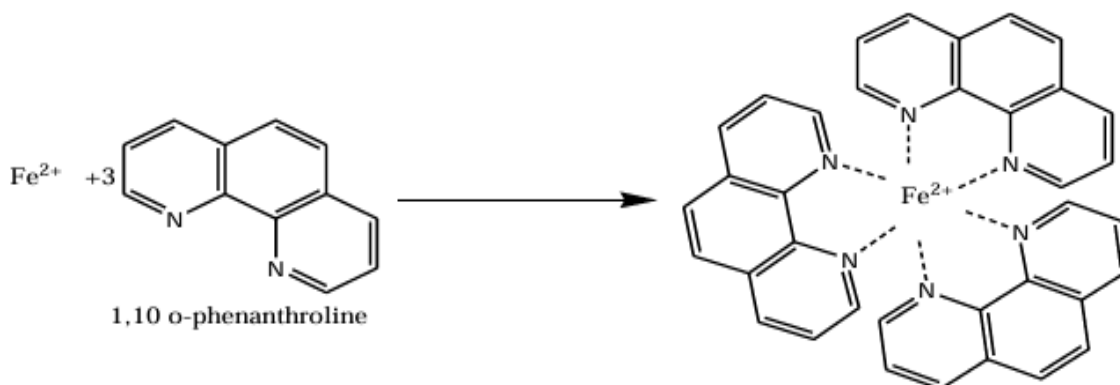


Figure 24 : Formation du complexe Fe^{2+} -phénanthroline (Apak *et al.*, 2007)

Selon la méthode décrite par (Szydłowska-Czerniak, 2008), l'activité réductrice des extraits, basée sur la formation du complexe Fe^{2+} -1,10-phénanthroline, est évaluée.

Un volume de 10 μL de l'extrait à différentes concentrations sont additionnés à 50 μL de la solution de FeCl_3 à 0,2 % (0,02 g de FeCl_3 dans 10 ml d'eau distillée), suivis de 30 μL de la solution de phénanthroline à 0,5 % (0,05 g de 1,10-phénanthroline dans 10 ml de méthanol) et de 110 μL de méthanol. Un témoin (blanc) a été préparé selon le même protocole, en remplaçant l'extrait par du méthanol. Les microplaques ont été incubées à 30 °C pendant 20 minutes, puis l'absorbance est mesurée à 510 nm. Les résultats ont été exprimés en termes de $A_{0.5}$ ($\mu\text{g}/\text{ml}$), correspondant à la concentration nécessaire pour atteindre une absorbance de 0,50.

Le BHT et le BHA sont utilisés comme standards de référence dans les mêmes conditions expérimentales.

2.9.2. L'activité antidiabétique

2.9.2.1. Inhibition de l'alpha amylase in vitro

➤ Principe

L'activité inhibitrice de l' α -amylase est évaluée en se basant sur la méthode de (Zengin *et al.*, 2014), avec certaines modifications. Cette méthode consiste à incuber l'extrait avec l'enzyme α -amylase en présence de son substrat, l'amidon, afin d'analyser la capacité de l'extrait à inhiber l'activité enzymatique.

En condition normale, l' α -amylase hydrolyse l'amidon en produits plus simples qui ne réagissent pas avec l'iode. En revanche, en cas d'inhibition enzymatique, l'amidon non dégradé s'accumule et forme, en présence d'iode, un complexe bleu-noir. L'intensité de ce complexe est proportionnelle à la quantité d'amidon résiduel et est mesurée par spectrophotométrie à 630 nm. Cette mesure permet de déterminer l'efficacité inhibitrice de l'extrait testé.

➤ Mode opératoire

L'activité inhibitrice de l' α -amylase est évaluée à l'aide d'un test enzymatique en microplaque de 96 puits. Pour cela, 25 μ l de chaque extrait à différentes concentrations sont mélangés à 50 μ l d'une solution d' α -amylase (1 U/ml dans un tampon phosphate 100 mM, pH 6,9, contenant 6,36 mM de NaCl). Le mélange est incubé pendant 10 minutes à 37 °C, puis 50 μ l d'une solution d'amidon à 0,1 % sont ajoutés. Une seconde incubation de 10 minutes à 37 °C est effectuée afin de permettre la réaction enzymatique. La réaction est ensuite arrêtée par l'ajout de 25 μ l d'acide chlorhydrique (HCl) 1 M, et l'amidon restant est révélé à l'aide de 100 μ l d'une solution IKI (3g de KI dans 100ml eau+127mg d'iode 5mM).

L'absorbance est mesurée à 630 nm (ou à 620 nm selon les instruments). Un contrôle négatif, contenant tous les réactifs sauf l'extrait, ainsi qu'un contrôle spécifique où seul l'amidon réagit avec l'iodure de potassium, sont inclus afin de corriger les interférences éventuelles.

Des blancs contenant uniquement les extraits (sans enzyme) sont également réalisés afin d'éliminer l'effet d'absorption propre des extraits. L'acarbose est utilisé comme standard positif. Le pourcentage d'inhibition de l' α -amylase est calculé selon la formule appropriée, et les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition ainsi qu'en concentration inhibitrice médiane (IC₅₀) selon l'équation suivante :

$$\text{Inhibition \%} = 1 - \left[\frac{(Ac - Ae) - (As - Ab)}{(Ac - Ae)} \right]$$

Ac : Absorbance [Amidon + IKI+ HCl+ V solvant d'extrait + V tampon d'enzyme].

Ae : Absorbance [Enzyme + Amidon + IKI + HCl + V solvant d'extrait].

As : Absorbance [Enzyme + Extrait + amidon + IKI + HCl].

Ab : Absorbance [Extrait + IKI+ 125 μ l de Tampon].

2.9.2.2. Évaluation de l'activité anti-diabétique in vivo

Cette partie du travail est réalisée au sein du laboratoire d'animalerie de l'Université Frères Mentouri de Constantine 1.

➤ Matériel animal

Les animaux utilisés dans notre étude sont des rats femelles de souche Wistar, pesant entre 200 et 295 g. L'expérience est réalisée sur 15 rats, répartis en trois lots :

Lot 01 : Témoin négatif.

Lot 02 : Témoin positif.

Lot 03 : Expérimental.



Figure 25 : Répartition des rats dans les trois lots expérimentaux selon les traitements administrés

➤ Extrait végétal testé

L'évaluation *in vivo* de l'activité antidiabétique est réalisée à partir de l'extrait n-butanolique des feuilles de *Zizyphus lotus*.

➤ Protocole expérimental

- Les rats sont pesés, puis mis à jeun pendant 12 heures avant l'expérience.
- Les trois lots ont reçu préalablement différents traitements, injectés par voie intrapéritonéale.

Lot 1 (témoin négatif) : traité avec de l'eau physiologique 0.9 % à dose de 250 mg/kg.

Lot 02 (témoin positif) : traité avec de la « Metformine » à dose de 0.5 mg/kg, un médicament antidiabétique qui aide le pancréas à produire plus d'insuline et donc à réduire le taux de glycémie (Foretz *et al.*, 2014).

Lot 03 (expérimentale) : traité avec l'extrait n-butanolique des feuilles de *Zizyphus lotus* à raison de (200 mg/kg).

Le taux de glycémie est mesuré après 30 min de l'administration des différents traitements, puis la glycémie des rats est augmentée en leur administrant une solution de glucose par voie orale à l'aide d'une seringue de gavage à raison de 4 g/kg de masse corporelle.



Figure 26 : Injection des différents traitements par voie intrapéritonéale



Figure 27 : Administration de la solution du glucose à l'aide d'une seringue de gavage.

La glycémie des rats est mesurée après 30, 60, 120, 180 min après l'administration de la solution de glucose.

L'évaluation du taux de glucose sanguin est faite à l'aide d'un glucomètre et des bandelettes adaptées (Cheek 3) après prélèvement du sang au niveau de la veine principale de la queue (obtenu par une coupe de 2mm).

2.9.2.3. Analyse statistique

Les résultats de la glycémie sont soumis à une analyse de la variance (ANOVA) à deux facteurs, afin d'évaluer l'effet du temps, du traitement, ainsi que leur interaction. Cette analyse est effectuée à l'aide du logiciel IBM® SPSS Statistics. Une valeur de $p < 0,05$ est considérée comme statistiquement significative.

Chapitre II : Résultats et discussions

Dans cette partie, nous présentons l'ensemble des résultats obtenus à partir de deux approches méthodologiques appliquées dans le cadre de l'étude menée sur *Zizyphus lotus*.

- **Étude phytochimique** : elle vise à caractériser les constituants bioactifs présents dans les feuilles de la plante, à travers l'analyse qualitative et quantitative des extraits.
- **Évaluation des activités biologiques** :
 - **Activité antioxydante** : réalisée à l'aide de tests standards (DPPH, ABTS, FRAP, phénanthroline) pour déterminer le potentiel antioxydant des différents extraits.
 - **Activité antidiabétique** : évaluée par des essais in vitro (inhibition de l' α -amylase) et in vivo, afin d'examiner l'efficacité de l'extrait n-butanolique dans la régulation de la glycémie.

1. Résultat de l'extraction

- L'extrait éther de pétrole : correspond à la fraction la plus apolaire.
- L'extrait éther diéthylique : représente une fraction moyennement apolaire.
- L'extrait acétate d'éthyle : constitue une fraction de polarité intermédiaire.
- L'extrait n-butanolique : représente la fraction la plus polaire.

En parallèle, une infusion aqueuse a été préparée à l'aide d'eau distillée bouillante, dans le but d'extraire spécifiquement les composés hydrosolubles présents dans les feuilles de *Zizyphus lotus*.

En parallèle, une infusion aqueuse a été préparée à l' aide d ' eau distillée bouillante, dans le but

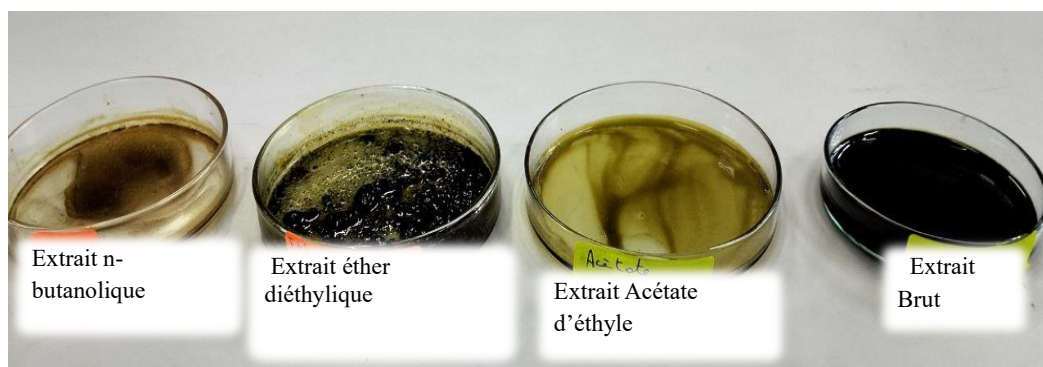


Figure 29 : Les différents extraits obtenus à partir des feuilles *Zizyphus lotus*



Figure 28 : L'extrait aqueux de *Zizyphus lotus*

En parallèle, une infusion aqueuse est préparée à l'aide d'eau distillée bouillante, dans le but d'extraire spécifiquement les composés hydrosolubles présents dans les feuilles de *Zizyphus lotus*.

Les rendements des extraits

La détermination des rendements est réalisée après évaporation à sec. Les rendements sont présentés dans la figure 30.

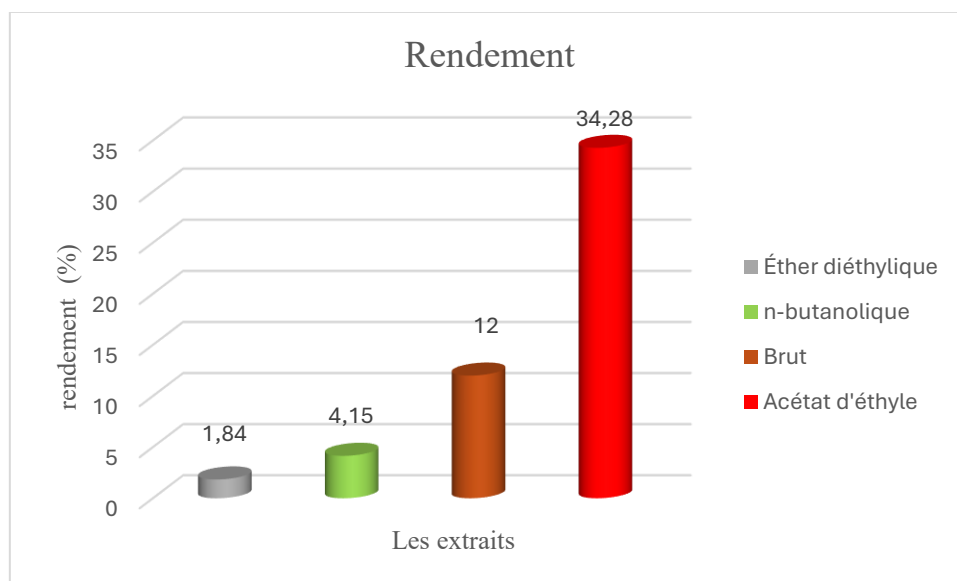


Figure 30 : Rendements des différents extraits de *Zizyphus lotus*

L'extraction des composés bioactifs des feuilles de *Zizyphus lotus* a permis d'obtenir des rendements variables selon le solvant utilisé. L'extrait acétate d'éthyle a présenté le rendement le plus élevé avec **34,28 %**, suivi par l'extrait brut (**12,78 %**), puis l'extrait n-butanolique (**4,15 %**). En revanche, l'extrait éther diéthylique a présenté le rendement le plus faible, atteignant seulement **1,84%**.

Cette variabilité de rendement s'explique principalement par la polarité des solvants employés. En effet, l'utilisation de solvants de polarités croissantes permet de fractionner les métabolites selon leur solubilité spécifique. L'acétate d'éthyle, de polarité intermédiaire, semble être particulièrement efficace pour extraire une large gamme de composés bioactifs, ce qui justifie son rendement élevé. Ce constat est cohérent avec les travaux de **Hagerman *et al.* (2000)**, qui soulignent l'influence déterminante de la solubilité des composés sur leur taux d'extraction.

Le choix du solvant est donc un paramètre critique dans l'efficacité de l'extraction. L'acétate d'éthyle peut, dans ce contexte, être considéré comme le solvant optimal pour l'extraction des feuilles de *Z. lotus*, en raison de sa capacité à extraire un spectre diversifié de molécules bioactives.

Par ailleurs, le rendement d'extraction ne dépend pas uniquement du solvant, mais aussi de plusieurs facteurs techniques et biologiques. D'une part, les conditions expérimentales telles que la durée de macération, la température, le pH encore le rapport solvant/matière végétale influencent significativement le taux d'extraction (**Telli *et al.*, 2010 ; Dent *et al.*, 2013 ; Lehout et Laïbe, 2015**). D'autre part, des facteurs liés à la qualité de la plante interviennent également : la partie utilisée, la teneur intrinsèque en composés chimiques, les conditions environnementales (climat et nature du sol), la période de récolte, ainsi que les conditions et la durée de stockage (**Fellah *et al.*, 2006**).

2. Chromatographie sur couche mince (CCM)

Après le développement des chromatogrammes, et une fois que le front du solvant a atteint le sommet des plaques, celles-ci sont retirées et séchées à température ambiante. Une double méthode de révélation est ensuite appliquée. D'abord, une observation est réalisée sous UV à 254 nm et 365 nm, afin de visualiser les composés fluorescents ou absorbants. Ensuite, une révélation chimique est effectuée afin de mettre en évidence les différentes classes de métabolites recherchées dans chacun des extraits. Ces résultats sont mentionnés dans **la figure 31 et le tableau 12**.

Cette approche permet de mettre en évidence la diversité des composés phytochimiques présents et d'obtenir un aperçu qualitatif global de la composition chimique des extraits analysés.

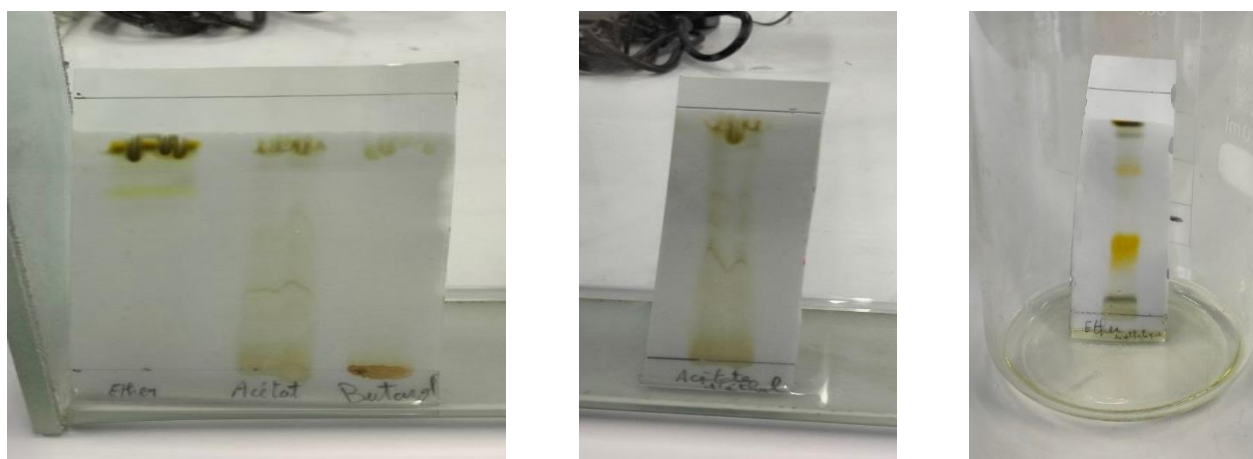





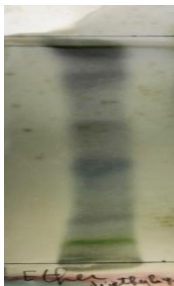
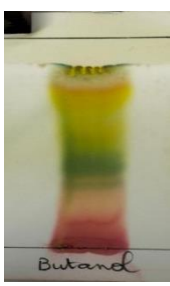



Figure 31 : Les différents phases dans les systèmes solvants

Tableau 11 : Les résultats de révélation chimique et physique de la chromatographie sur couche mince

L'extrait	Acétate d'éthyle	Éther diéthylique	n-butanolique	Les 3 phases dans un seul système solvant
Révélation Sous UV à 365 nm				
Révélation Chimique				

Les chromatogrammes obtenus après révélation ont présenté différentes bandes colorées, dont certaines caractéristiques sont compatibles avec la présence de composés phénoliques et des stérols. En particulier, les taches brunâtres, jaunâtres ou violettes, apparaissant après révélation sous lumière UV ou après traitement au réactif vanilline- H_2SO_4 , sont typiques des flavonoïdes, tanins et autres

phénols (Harborne, 1998 ; Wagner et Blatt, 1996). La correspondance entre les teintes observées et les références bibliographiques permet donc de suggérer la présence de ces classes de métabolites dans les extraits analysés.

3. Criblage phytochimique

L'évaluation phytochimique qualitative a permis de mettre en évidence la présence de divers métabolites primaires et secondaires dans les feuilles de *Zizyphus lotus*. Cette analyse repose sur la réalisation de tests classiques de solubilité, de précipitation et de coloration, visant à détecter des familles de composés spécifiques.

Ainsi, une série de tests physico-chimiques qualitatifs a été appliquée aux quatre extraits obtenus par des solvants de polarité croissante (éther diéthylique, acétate d'éthyle, n-butanol et aqueux), dans le but d'identifier la présence de groupes de métabolites tels que les alcaloïdes, flavonoïdes, tanins, saponines, anthocyanes, et autres composés bioactifs.

Les résultats présentés dans le **tableau 12** sont issus des analyses phytochimiques qualitatives réalisées conformément aux protocoles décrits précédemment. L'intensité de la réaction observée pour chaque test est interprétée comme suit :

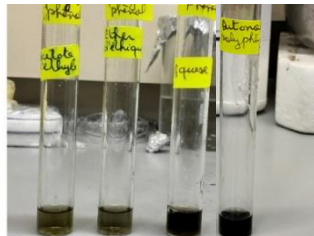
+++ : réaction fortement positive ;

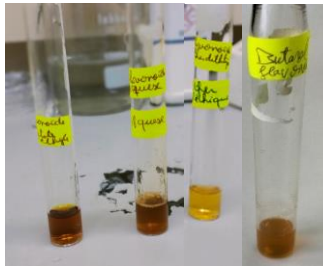

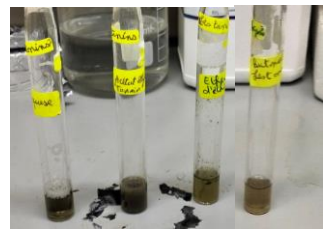
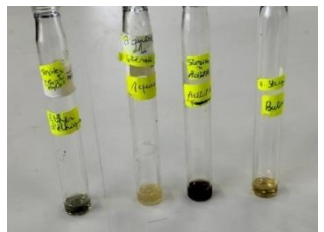
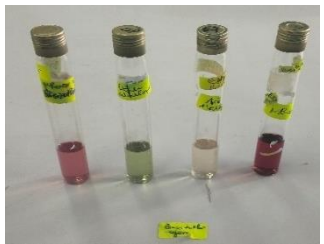
++ : réaction modérément positive ;


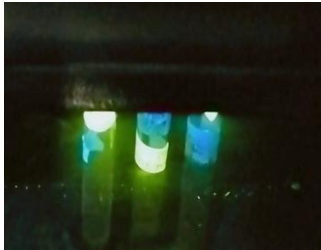
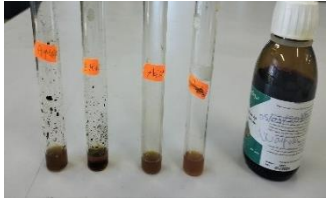


+ : réaction faiblement positive ;

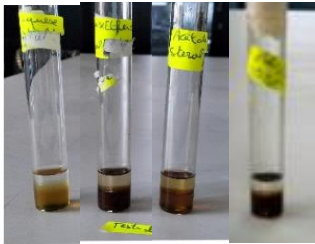
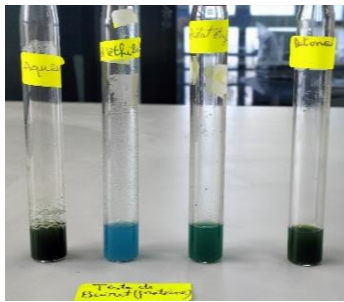
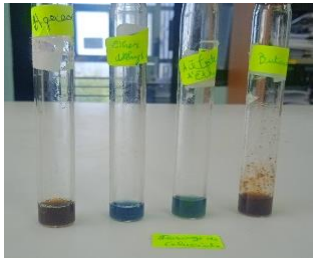
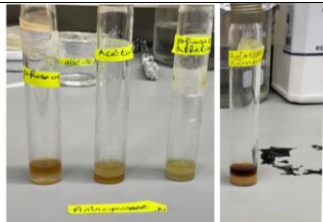
– : absence de réaction (négatif).

Tableau 12 : Les résultats du screening phytochimique des extraits de *Z. lotus*

Les métabolites	Extrait aqueux	Extrait éther diéthylique	Extrait acétate d'éthyle	Extrait n-butanol	Image explicatif
Polyphénols	+++	+	++	+++	

Flavonoïdes	++	+	+++	+++	
Les saponines	+++	-	++	-	
Les tannins	++	+	+++	+	
Les stéroïdes	-	-	+++	-	
Les leucoanthocyan- -es	+	-	-	+++	

Les anthocyanes	-	-	-	-	
Les coumarines	-	-	-	-	
Les alcaloïdes					
Réactif de Wagner	++	+++	++	+	
Réactif de Mayer	-	-	-	-	
Les terpènes	-	-	-	-	

Les stérols	-	+++	++	++	
Les protéines (Test de biuret)	-	-	-	-	
Les Glucides	+++	-	-	+++	
Les anthraquinones	+	-	+	++	

L'étude qualitative des métabolites primaires et secondaires présents dans les extraits de *Z. lotus* a révélé une variation notable selon la nature du solvant utilisé. L'extrait acétate d'éthyle s'est distingué par une richesse élevée en composés bioactifs, incluant les flavonoïdes, les tannins, les stéroïdes, les polyphénols et les alcaloïdes. Cette abondance s'explique par la polarité intermédiaire de l'acétate d'éthyle, qui favorise l'extraction de nombreux métabolites faiblement à moyennement polaires.

L'extrait aqueux a également présenté une composition variée, marquée par la présence de polyphénols, flavonoïdes, saponines et glucides. Par ailleurs, l'extrait n-butanolique a montré un

profil comparable à celui de l'extrait aqueux, révélant notamment des flavonoïdes, des polyphénols, des leucoanthocyanes et des glucides.

En revanche, l'extrait éther diéthylique a donné un profil phytochimique moins riche, ce qui reflète sa faible capacité à extraire les composés phénoliques ou glycosylés. Ces observations confirment que la polarité du solvant joue un rôle déterminant dans le rendement qualitatif de l'extraction.

Des résultats similaires ont été rapportés par **Borgi *et al.* (2007)**, qui ont observé une composition phytochimique diversifiée dans les extraits alcooliques et aqueux de feuilles de *Z. lotus*.

Nos résultats ont mis en évidence la présence systématique de polyphénols, flavonoïdes, tannins et alcaloïdes dans tous les extraits. Cette richesse est en accord avec les études de **Bouaziz *et al.* (2014)** et **Djellouli *et al.* (2013)**, qui ont montré une forte teneur en flavonoïdes dans les extraits méthanoliques et en tannins (condensés et hydrolysables) dans les extraits des feuilles de *Z. lotus*.

Concernant les saponines, leur présence est confirmée dans l'extrait aqueux et l'extrait acétate d'éthyle. Ces données corroborent les résultats de **Borgi *et al.* (2008)**, qui ont rapporté des teneurs importantes en saponines dans les feuilles (jusqu'à 340 mg/100 g). Plusieurs saponines de type dammarane y ont été identifiées, telles que le jujuboside B, la saponine IV du jujuba et divers glycosides de jujubogénine (**Renault *et al.*, 1997 ; Maciuk *et al.*, 2004**).

En revanche, aucune trace de coumarines, d'anthocyanes ni de terpènes n'est détectée dans nos extraits de feuilles, ce qui diffère de plusieurs publications antérieures. En effet, **Bencheikh *et al.* (2023)** et **Alla *et al.* (2025)** ont mis en évidence la présence de ces composés dans différentes parties de la plante, notamment les huiles essentielles et les feuilles issues de divers terroirs du Maghreb (Tunisie, Maroc, Algérie). Cette divergence peut s'expliquer par des facteurs environnementaux, l'origine botanique, la période de récolte ou les méthodes d'extraction utilisées.

Par ailleurs, nos tests phytochimiques ont indiqué l'absence de protéines dans tous les extraits. Ce constat est partiellement en accord avec **Ghalem *et al.* (2014)**, qui ont relevé une faible présence de protéines dans les extraits aqueux de feuilles. L'absence observée pourrait être due au faible pouvoir extractif des solvants utilisés vis-à-vis des macromolécules protéiques, ou encore à une faible teneur intrinsèque dans les feuilles à l'état mature. En revanche, la présence de glucides est confirmée, ce qui concorde avec les résultats de **Bencheikh *et al.* (2021)**, soulignant leur abondance dans les feuilles et leur rôle possible dans les effets antioxydants ou énergétiques de la plante.

4. Caractérisation quantitative des extraits de *Z. lotus*

4.1. Teneur en composés phénoliques

Dans notre travail, la teneur en polyphénols totaux des différents extraits a été déterminée par la méthode de réactif de Folin-Ciocalteu.

La courbe d'étalonnage obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard est représentée dans la figure 32.

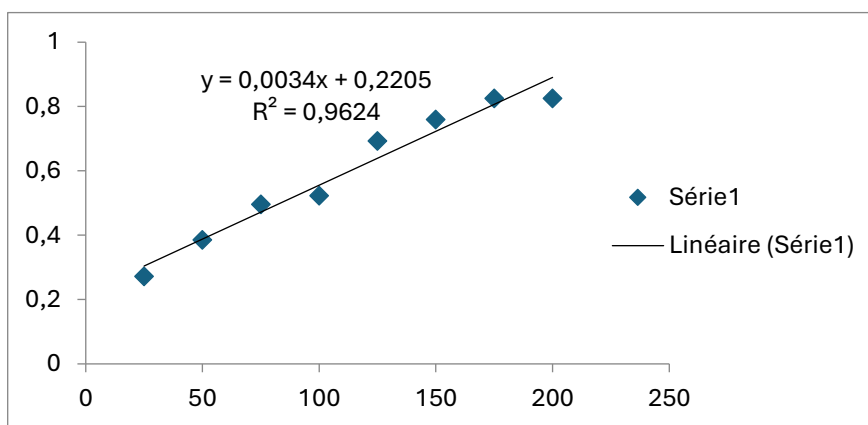


Figure 32 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

À partir de la courbe d'étalonnage, la concentration des composés phénoliques totaux des extraits est estimée par l'équation suivante :

$$y = 0.0034x + 0.2205 \text{ avec un coefficient de corrélation } R^2 = 0,9624.$$

Les résultats obtenus exprimés en μg équivalent d'acide gallique par mg d'extrait ($\mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait), sont présentés dans le **tableau 13** et la **figure 33**.

Tableau 13 : Teneurs en polyphénols totaux des extraits de *Z. lotus*

Extrait	Teneur en composés phénoliques totaux ($\mu\text{g EAG/ mg d'extrait}$)
Éther diéthylique	$127,72 \pm 1,69$
n-butanolique	$288,11 \pm 7,38$
Brut	$287,82 \pm 7,64$
Acétate d'éthyle	$156,05 \pm 5,60$

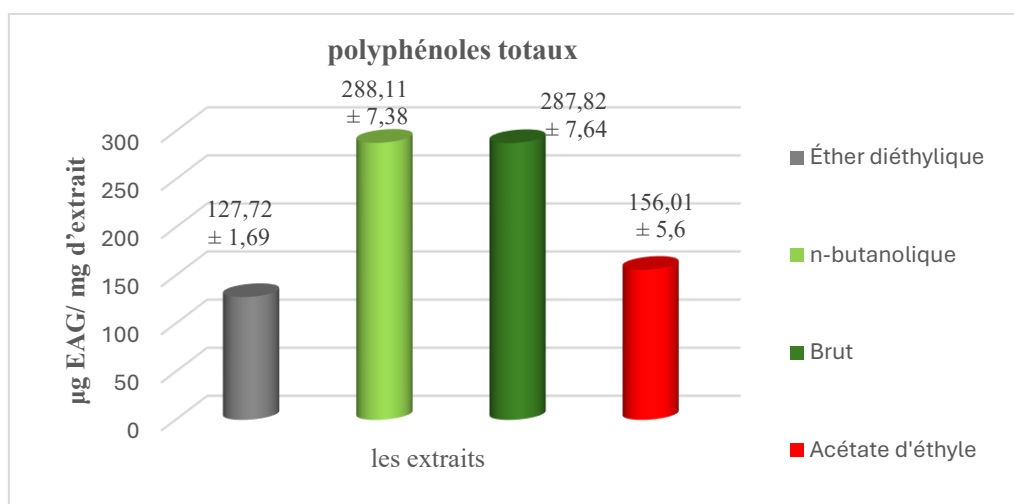


Figure 33 : Teneurs en polyphénols totaux des extraits de *Z. lotus*

D'après les résultats obtenus, l'extrait n-butanolique ainsi que l'extrait brut se distinguent par les teneurs les plus élevées en polyphénols, atteignant respectivement 288,11 µg EAG/mg d'extrait et 287,82 µg EAG/mg d'extrait. En revanche, des concentrations plus faibles sont observées dans les extraits acétate d'éthyle et éther diéthylique, avec des teneurs de 156 µg EAG/mg d'extrait et 127 µg EAG/mg d'extrait, respectivement. Ces résultats indiquent une affinité marquée des composés phénoliques pour les solvants polaires ou semi-polaires.

Ces données sont en accord avec les travaux antérieurs, notamment ceux de **Benchikh *et al.*, (2021)** qui ont rapporté une teneur similaire de 278 µg EAG/mg d'extrait dans un extrait méthanolique des feuilles de *Z. lotus*, utilisant une méthode d'extraction comparable. De même, **Khouchlaa *et al.* (2017)** ont obtenu une concentration de 285 µg EAG/mg dans un extrait aqueux, confirmant l'efficacité des solvants hydrophiles dans l'extraction des polyphénols.

Ces résultats confirment l'efficacité des solvants polaires, comme le n-butanol et les mélanges hydrométhanoliques, pour l'extraction des polyphénols. Cette observation est soutenue par les travaux de **(Do *et al.*, 2014 ; Nawaz *et al.*, 2020)**, qui ont mis en évidence l'influence de la polarité du solvant sur le rendement en composés phénoliques.

Par ailleurs, ces données concordent également avec l'étude de **(Letaief *et al.*, 2021)**, qui ont montré que l'extrait méthanolique des racines, obtenu à l'aide de solvants variés, présentait la plus forte teneur en polyphénols totaux, atteignant (186 µg EAG/mg d'extrait).

Ces résultats confirment également l'hypothèse selon laquelle la polarité du solvant joue un rôle déterminant dans l'efficacité de l'extraction des composés phénoliques. Des études menées par **Do *et al.* (2014)** et **Nawaz *et al.* (2020)** ont démontré que les solvants polaires, tels que le méthanol, l'éthanol ou le n-butanol, permettent une meilleure solubilisation et extraction de ces métabolites. Le

même constat a été fait par **Letaief *et al.* (2021)**, qui ont mis en évidence une teneur en polyphénols totaux de 186 µg EAG/mg d'extrait dans les extraits méthanoliques des racines de *Z. lotus*, obtenus à l'aide de différents solvants.

Enfin, La teneur en composés phénoliques est influencée par de nombreux facteurs. Plusieurs études ont souligné l'effet significatif de paramètres extrinsèques tels que les conditions géographiques, climatiques et génétiques. De plus, le stade de maturité lors de la récolte ainsi que la durée et les conditions de stockage peuvent fortement moduler la concentration en polyphénols (**Aganga *et al.*, 2001 ; Bouzid *et al.*, 2011**).

4.2. Teneur en flavonoïdes totaux

Dans cette étude, la teneur en flavonoïdes des différents extraits est déterminée par la méthode de trichlorure d'aluminium (**Topçu *et al.*, 2007**).

La courbe d'étalonnage obtenue en utilisant la quercétine comme standard est représentée dans la figure 34.

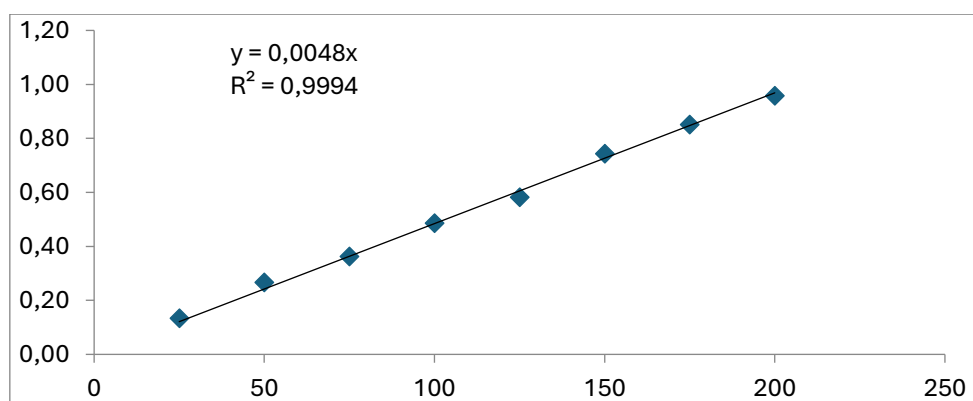


Figure 34 : La courbe d'étalonnage de la quercétine

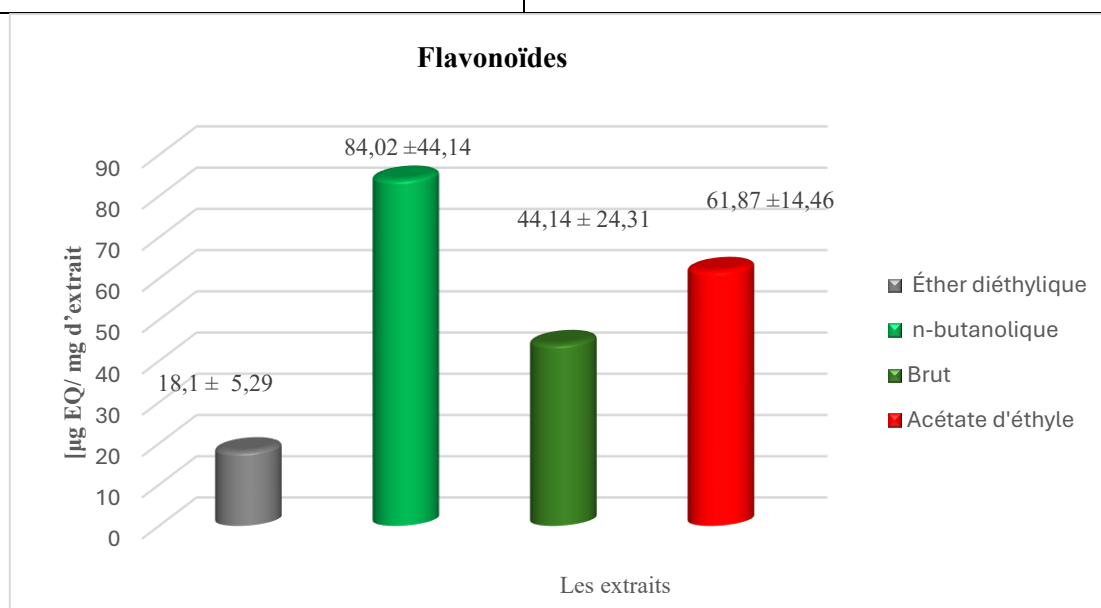
À partir de la courbe d'étalonnage, la concentration des flavonoïdes des extraits est estimée par l'équation suivante :

$y = 0.0048x$ avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,9994$.

Les résultats obtenus exprimés en µg équivalent de quercétine par mg d'extrait (µg EQ/mg d'extrait), sont présentés dans le **tableau 14** et la **figure 35**.

Tableau 14 : Teneur en flavonoïdes des extraits de feuilles de *Z. lotus*

Extrait	Teneur en flavonoïdes totaux ($\mu\text{g EQ/ mg d'extrait}$)
Éther diéthylique	$18,10 \pm 5,29$
n-butanolique	$84,02 \pm 3,93$
Brut	$44,14 \pm 24,31$
Acétate d'éthyle	$61,87 \pm 14,46$

**Figure 35** : Teneur en flavonoïdes des extraits de feuilles de *Z. lotus*

D'après les résultats obtenus, l'extrait n-butanolique présente la teneur en flavonoïdes la plus élevée, atteignant $84,02 \pm 3,93 \mu\text{g EQ/ mg d'extrait}$, suggérant une forte concentration en composés flavonoïdiques. Il est suivi par l'extrait acétate d'éthyle avec une teneur de $61,87 \pm 14,46 \mu\text{g EQ/ mg d'extrait}$, tandis que l'extrait brut présente une valeur intermédiaire de $44,14 \pm 24,31 \mu\text{g EQ/ mg d'extrait}$. En revanche, l'extrait éther diéthylique enregistre la plus faible teneur, soit $18,1 \pm 5,29 \mu\text{g EQ/ mg d'extrait}$, reflétant une moindre affinité de ce solvant peu polaire pour les flavonoïdes.

Cette hétérogénéité de résultats peut s'expliquer par plusieurs facteurs : la polarité du solvant d'extraction, la partie de la plante extraite (les feuilles), ainsi que les conditions environnementales (climat, sol, altitude) influençant la biosynthèse des flavonoïdes, comme le suggèrent **Bozin et al. (2008)** et **Ding et al. (2009)**.

Par comparaison à d'autres travaux similaires, notre extrait brut (hydrométhanolique) présente une teneur notablement plus élevée en flavonoïdes que celle rapportée par **Bakchiche et Gherib (2014)**, qui ont mesuré 14,32 mg/g dans un extrait hydroalcoolique des feuilles de *Z. lotus*. De même, **Li et al. (2015)** ont rapporté une teneur en flavonoïdes variant entre 65,1 et 158,6 mg/100 g dans différents extraits aqueux de jujube (*Zizyphus jujuba*), confirmant ainsi la richesse du genre *Zizyphus* en composés flavonoïdiques.

De façon générale, la teneur en flavonoïdes observée dans nos extraits est comparable, voire supérieure, à celle rapportée dans plusieurs études antérieures. Cela témoigne non seulement de la richesse biochimique potentielle de *Z. lotus*, mais aussi de l'efficacité de la méthode d'extraction employée dans cette étude, en particulier pour les solvants à polarité moyenne à élever comme le n-butanol.

5. Évaluation des activités biologiques

5.1.Évaluation de l'activité antioxydante

5.1.1. Test du piégeage du radical DPPH

L'évaluation de l'activité antiradicalaire des extraits vis-à-vis du radical DPPH est réalisée par spectrophotométrie à 517 nm, en suivant la réduction du radical, laquelle se manifeste par un changement de couleur du violet au jaune. Le profil de la microplaque obtenue est représenté dans la figure 36.

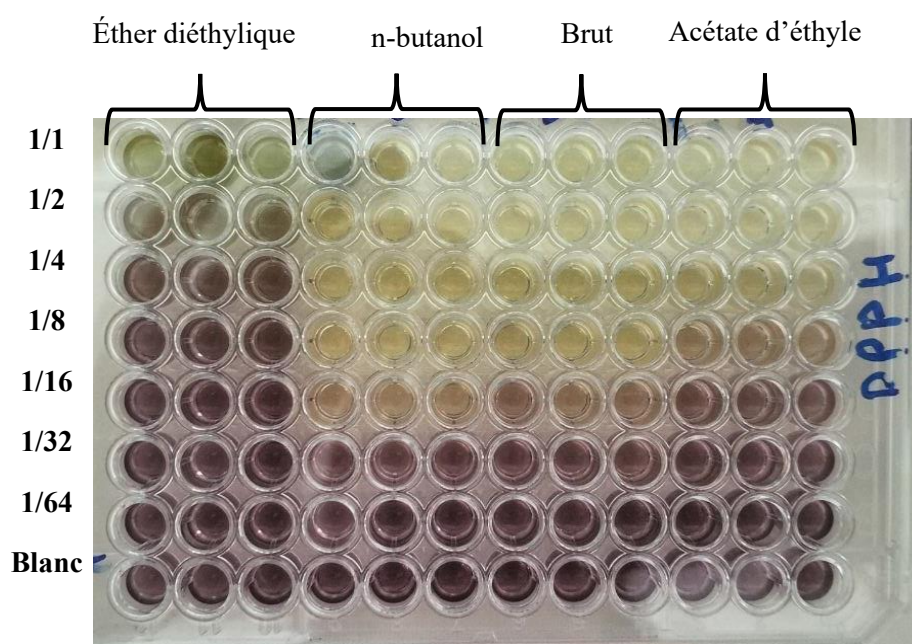


Figure 36 : Profil de la microplaque de dosage de l'activité anti-radicalaire (DPPH) des extraits de *Z. lotus*

Selon les résultats obtenus, l'ensemble des extraits présentent une activité antiradicalaire dose dépendante. Les pourcentages d'inhibition obtenus lors des trois essais ainsi que les IC_{50} sont présentés dans le **tableau 15** et illustrés sur la **figure 37**.

Tableau 15 : Pourcentages d'inhibition et IC_{50} du radical DPPH des extraits et des standards

	Extraits et standards Concentrations	Éther diéthylique	n-butanolique	Brut	Acétate d'éthyle	BHA	BHT	α -Tocopherol
% Inhibition du radical DPPH	12.5 μ g	2,68 \pm 4,87	25,41 \pm 13,96	24,75 \pm 4,58	15,05 \pm 5,31	76,55 \pm 0,48	49,09 \pm 0,76	37,21 \pm 1,82
	25 μ g	10,88 \pm 12,77	38,12 \pm 3,37	42,32 \pm 2,50	27,34 \pm 1,04	79,89 \pm 0,26	72,63 \pm 2,06	81,53 \pm 1,51
	50 μ g	8,53 \pm 3,04	79,00 \pm 1,07	68,33 \pm 5,30	46,14 \pm 2,20	81,73 \pm 0,10	88,73 \pm 0,89	89,23 \pm 0,12
	100 μ g	23,21 \pm 2,48	89,67 \pm 0,24	89,02 \pm 1,59	73,57 \pm 2,02	84,18 \pm 0,10	94,00 \pm 0,31	89,38 \pm 0,19
	200 μ g	33,58 \pm 3,35	89,40 \pm 0,18	90,14 \pm 0,18	89,67 \pm 1,00	87,13 \pm 0,17	94,97 \pm 0,08	89,45 \pm 0,22
	400 μ g	60,16 \pm 3,41	88,56 \pm 0,90	89,75 \pm 0,44	89,91 \pm 0,13	89,36 \pm 0,19	95,38 \pm 0,41	89,99 \pm 0,23
	800 μ g	67,56 \pm 1,75	86,40 \pm 2,04	88,44 \pm 0,46	89,37 \pm 4,75	90,14 \pm 0,00	95,02 \pm 0,23	89,52 \pm 0,33
	IC_{50} μ g/mL	322,12 \pm 25,63	28,33 \pm 0,81	33,60 \pm 3,16	59,95 \pm 1,15	6,14 \pm 0,41	12,99 \pm 0,41	13,02 \pm 5,17

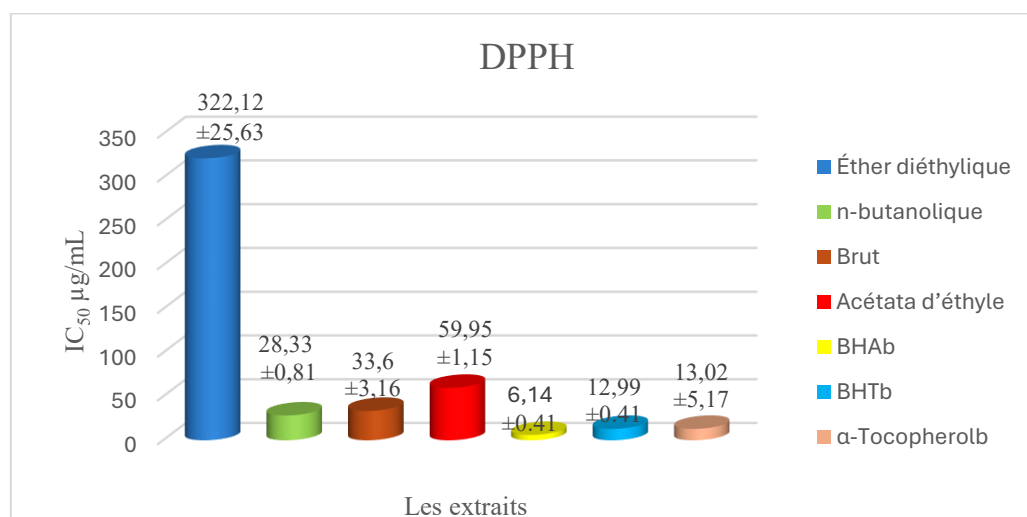


Figure 37 : Valeurs des IC_{50} du test DPPH des extraits de *Z. lotus* et des standards

Les résultats révèlent que l'extrait n-butanolique présente l'activité la plus élevée avec une IC_{50} d'environ 28,33 \pm 0,81 μ g/ml, suivie par l'extrait brut et l'extrait acétate d'éthyle avec des valeurs d' IC_{50} de l'ordre de 33,60 \pm 3,16 μ g/ml et 59,95 \pm 1,15 μ g/ml, respectivement. L'extrait éther diéthylique présente l'activité la plus faible avec une IC_{50} égale à 322,12 \pm 25,63 μ g/ml. Ces valeurs

sont faibles par rapport au pouvoir antiradicalaire des standards BHA, BHT et α -tocophérol avec des IC_{50} de l'ordre de $6,14 \pm 0,41 \mu\text{g/ml}$, $12,99 \pm 0,41 \mu\text{g/ml}$ et $13,02 \pm 5,17 \mu\text{g/ml}$ respectivement.

Ces résultats s'approchent de ceux rapportés par **Bencheikh et al. (2023)**, qui ont mis en évidence des valeurs d' IC_{50} pour les extraits méthanolique (MtOH) et aqueux (AqE) de l'ordre de $15,15 \mu\text{g/ml}$ et entre 11 et $30 \mu\text{g/ml}$ respectivement. Les mêmes résultats sont rapportés par **Benslama et al. (2017)**, qui ont également mis en évidence une activité antioxydante notable de l'extrait méthanolique de *Z. lotus* avec une valeur d' IC_{50} de l'ordre de $28,19 \pm 0,51 \mu\text{g/ml}$.

Cependant, nos résultats restent inférieurs à ceux obtenus par **Marmouzi et al. (2019)**, qui ont déterminé une valeur d' IC_{50} de l'ordre de $241,7 \mu\text{g/ml}$.

En revanche, une forte activité antioxydante contre le radical DPPH pour l'extrait n-butanolique est démontrée dans l'étude de **Hammi et al. (2022)**. De même, **Elaloui (2017)**, a rapporté une activité antioxydante marquée des extraits de feuilles de *Z. lotus*, en particulier ceux riches en composés phénoliques et en flavonoïdes.

Selon **El yakoubi et al. (2024)**, Le pouvoir inhibiteur le plus élevé contre le radical DPPH est enregistré par l'extrait aqueux ($31,20 \pm 0,69 \mu\text{g/ml}$), tandis que la plus faible activité est observée avec l'extrait hexanique ($65,18 \pm 0,22 \mu\text{g/ml}$).

Les variations de l' IC_{50} selon **Abou Elella et al. (2014)**, peuvent résulter de diverses causes, telles que la composition chimique de la plante (notamment les polyphénols et les flavonoïdes), qui dépend des facteurs génétiques et environnementaux.

5.1.2. Test de l'ABTS

La méthode du radical ABTS est l'un des tests les plus couramment utilisé pour déterminer la concentration des radicaux libres. Elle repose sur la neutralisation d'un radical cationique résultant de l'oxydation monélectronique du chromophore synthétique 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) ($ABTS^{\cdot+}$). Le profil de la microplaque obtenue est représenté dans **la figure 38**.

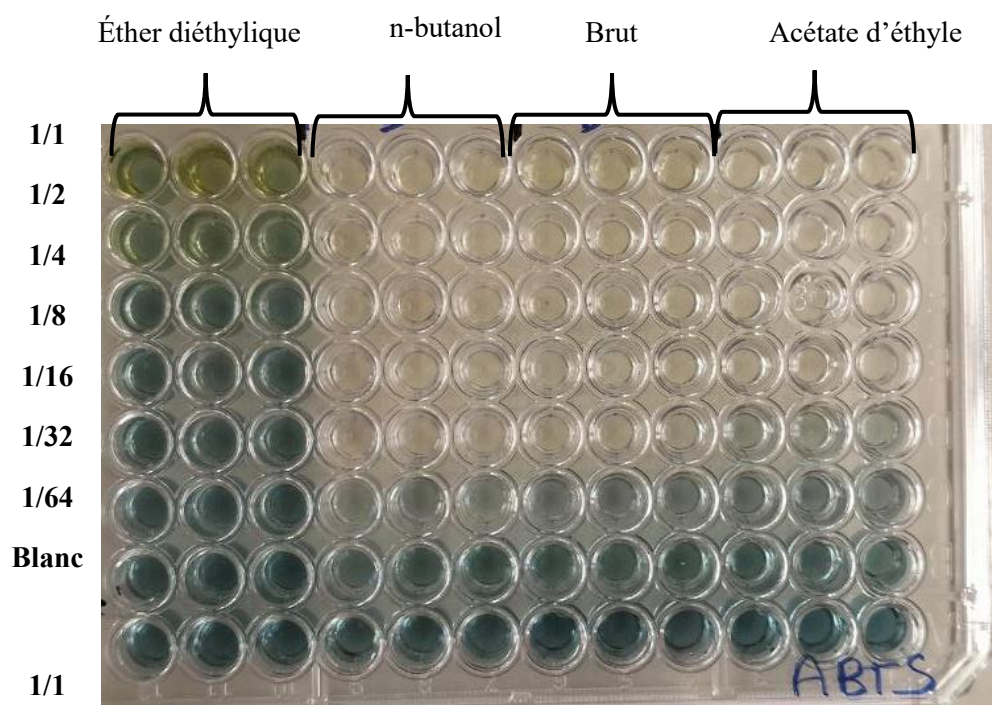


Figure 38 : Profil de la microplaque de dosage de l'activité anti-radicalaire (ABTS) des extraits de *Z. lotus*

Les pourcentages d'inhibition obtenus lors des trois essais ainsi que les IC_{50} sont présentés dans le **tableau 16** et illustrés sur la **figure 39**.

Tableau 16 : Pourcentages d'inhibition et IC_{50} du cation ABTS des extraits et des standards

	Extraits et standards	Éther diéthylique	n-butanolique	Brut	Acétate d'éthyle	BHT	BHA
	Concentrations						
% Inhibition dans le test ABTS	12.5 µg	2,34± 0,76	48,00± 0,94	43,08±1,36	30,14±3,18	69.21±0,40	92.83±1,42
	25 µg	9,77± 1,11	75,10± 0,43	68,27±0,51	52,32±0,39	78.23±1,34	94.68±0,42
	50 µg	17,49±1,41	93,60±0,17	91,69±0,56	75,94±0,77	88.12±1,28	94.68±0,42
	100 µg	28,31±1,70	93,70±0,17	93,51±0,26	90,21±0,34	88,76±3,07	95.32±0,25
	200 µg	34,71±3,66	93,21±0,00	92,67±0,09	93,06±0,26	90.85±1,74	95.59±0,47
	400µg	50,41±2,30	93,80±0,26	92,92±0,39	92,77±0,26	90.95±0,51	95.83±0,15
	800 µg	61,77±12,35	93,36±0,51	92,82±0,09	90,16±0,17	96.68±0.39	95,86±0,10
	IC_{50} µg/mL	458,87±9,79	9,79±0,75	14,95±0,69	26,75±0,99	1.29±0.30	1.81±0.10

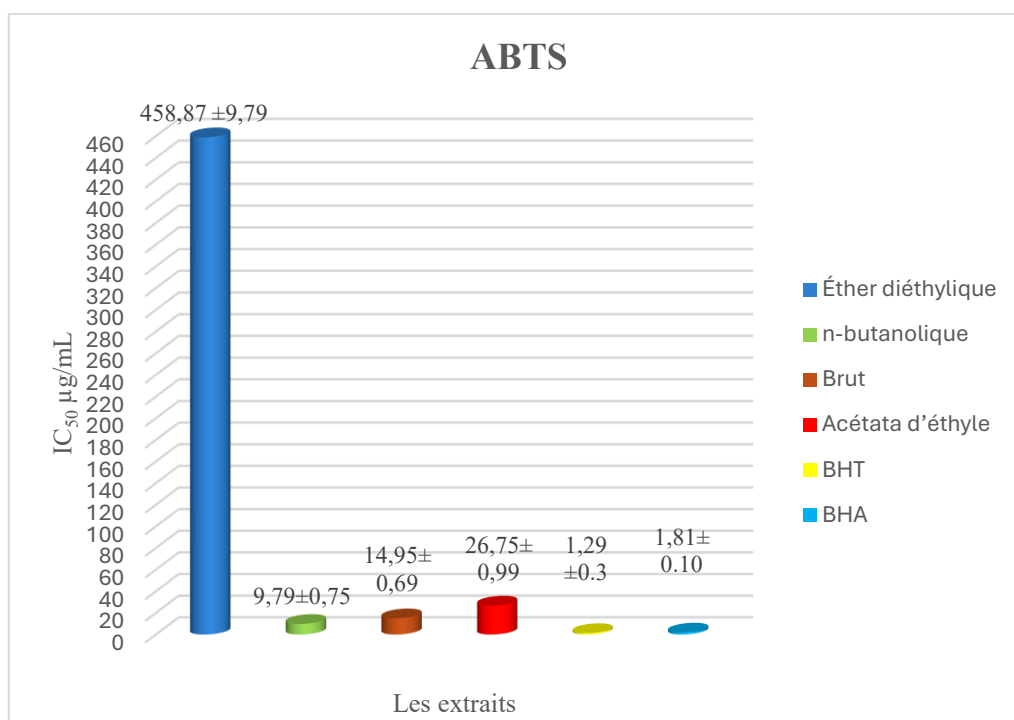


Figure 39 : Valeurs des IC₅₀ du test ABTS pour les extraits de *Z. lotus* et les standards

La capacité de piégeage du radical libre ABTS varie selon les extraits de *Z. lotus*. L'extrait n-butanolique présente la meilleure activité antioxydante parmi nos extraits, avec une IC₅₀ de 9,79 ± 0,75 µg/ml. Il est suivi par l'extrait brut, avec une IC₅₀ de l'ordre de 14,95 ± 0,69 µg/ml, puis par l'extrait acétate d'éthyle, avec une valeur d'IC₅₀ égale à 26,75 ± 0,99 µg/ml. L'extrait éther diéthylique présente la plus faible activité avec une IC₅₀ de l'ordre de 458,87 ± 9,79 µg/ml. Ces valeurs restent modérées comparées à celles des standards synthétiques BHA et BHT, qui présentent des IC₅₀ d'environ 1,81 ± 0,10 µg/ml et 1,29 ± 0,30 µg/ml respectivement.

Ces résultats s'approchent de ceux rapportés par **Letaief et al. (2021)**, qui ont réalisés une étude dans la région de Gabès, au sud de la Tunisie, sur les feuilles de *Z. lotus*. Les valeurs d'IC₅₀ mesurées par le test ABTS étaient respectivement de 28,98 ± 0,06 µg/ml pour l'extrait pétrolier, 29,51 ± 1,23 µg/ml pour l'extrait dichlorométhane, 23,48 ± 0,63 µg/ml pour l'extrait méthanolique, 249,37 ± 1,26 µg/ml pour l'extrait éthanolique et 29,01 ± 0,44 µg/ml pour l'extrait aqueux.

En revanche, une autre étude effectuée par **Benslama et al. (2017)**, a rapporté des valeurs d'IC₅₀ égale à 3,82 ± 0,03 µg/ml pour l'extrait méthanolique et 6,57 ± 0,08 µg/ml pour l'extrait aqueux de *Z. lotus*. Ces valeurs, nettement inférieures à celles obtenues dans notre étude, reflètent une forte activité antioxydante des extraits méthanoliques et aqueux comparativement à nos extraits.

Dans une autre étude d'**El yakoubi et al. (2024)**, les valeurs d'IC₅₀ mesurées par le test ABTS pour différents extraits de *Z. lotus* ont été rapportées comme suit : 61,35 ± 0,30 µg/ml pour l'extrait aqueux, 66,91 ± 0,95 µg/ml pour l'extrait méthanolique à 50 %, 74,56 ± 0,45 µg/ml pour l'extrait

méthanolique à 80 %, $77,23 \pm 0,08$ $\mu\text{g/ml}$ pour l'extrait méthanolique pur, $84,41 \pm 0,53$ $\mu\text{g/ml}$ pour l'extrait éthanolique et $92,88 \pm 0,20$ $\mu\text{g/ml}$ pour l'extrait hexanique. En comparaison, les IC_{50} de nos extraits sont nettement plus faibles, indiquant une activité antioxydante supérieure à celle rapportée dans cette étude.

5.1.3. Activité du pouvoir réducteur (FRAP)

Le test FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) repose sur la capacité des antioxydants à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) de couleur jaune, en fer ferreux (Fe^{2+}), entraînant la formation d'un complexe bleu-vert. Ce changement de couleur est quantifié par mesure de l'absorbance à 700 nm.

Les résultats obtenus sont comparés à ceux de l' α -tocophérol et de l'acide ascorbique, utilisés comme substances de référence (témoins positifs) pour l'évaluation de l'activité antioxydante. Celle-ci est exprimée sous forme de valeurs $\text{A}_{0.5}$ (moyenne \pm écart type), indiquant la concentration d'extrait nécessaire pour atteindre 50 % de l'activité antioxydante, ou une absorbance de 0,5 dans le test du pouvoir réducteur. Ainsi, plus la valeur de $\text{A}_{0.5}$ est faible, plus le pouvoir antioxydant de l'échantillon est élevé (Liu *et al.*, 2009).

Le profil de la microplaque obtenu contenant la phénanthroline est présenté dans la **figure 40**

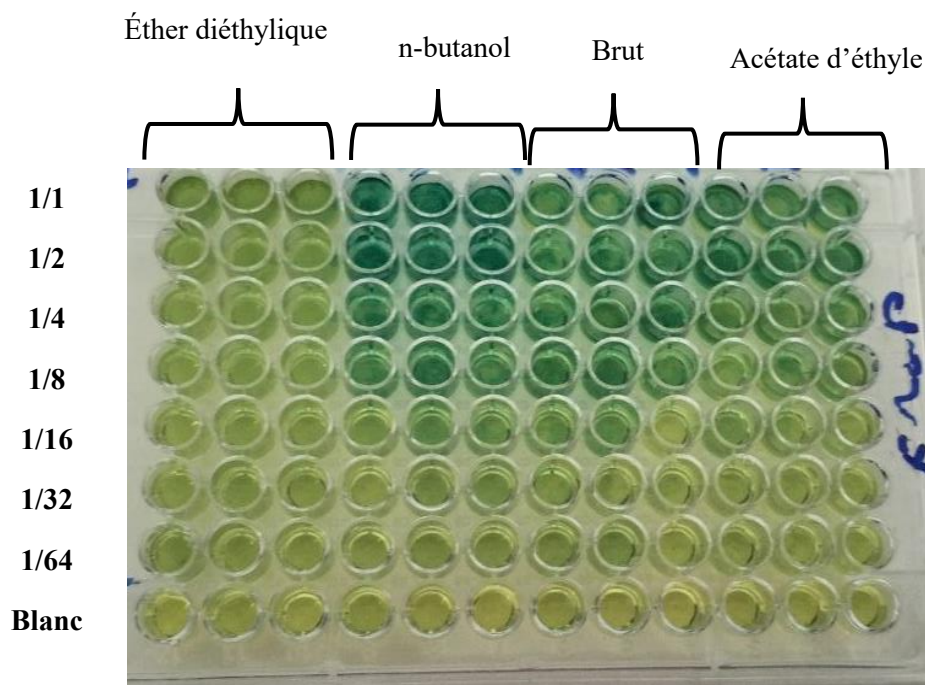
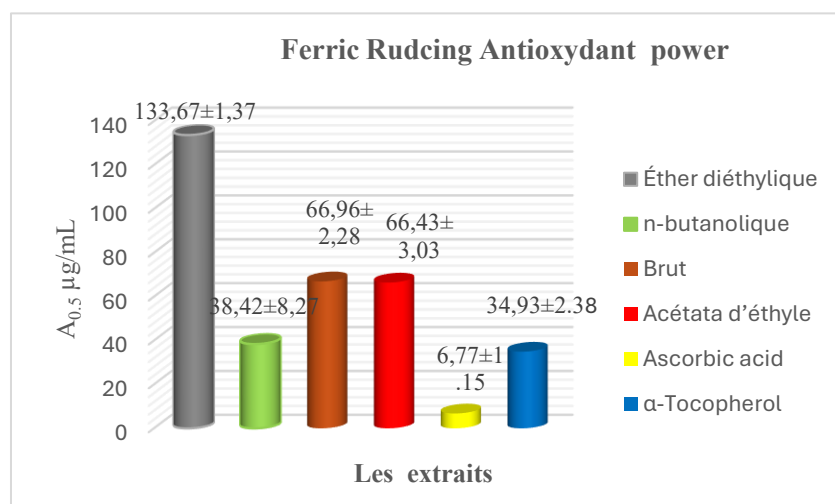


Figure 40 : Profil de la microplaque de l'activité du pouvoir réducteur (FRAP) des extraits de *Z. lotus*

Les valeurs d'absorbance obtenus lors des trois essais ainsi que les $\text{A}_{0.5}$ sont présentés dans le **tableau 17** et illustrés sur la **figure 41**.

Tableau 17 : Valeurs d'absorbance et $A_{0.5}$ des extraits et standards du test FRAP

	Extraits Concentration	Éther diéthylique	n- butanolique	Brut	Acétate d'éthyle	Acide ascorbic	α -Tocopherol
Absorbance	3.125 μ g	0,17 \pm 0,02	0,18 \pm 0,01	0,18 \pm 0,010	0,16 \pm 0,01	0,35 \pm 0,05	0.11 \pm 0,00
	6.25 μ g	0,19 \pm 0,00	0,22 \pm 0,00	0,18 \pm 0,010	0,18 \pm 0,01	0,46 \pm 0,03	0.16 \pm 0.00
	12.5 μ g	0,20 \pm 0,00	0,30 \pm 0,03	29 \pm 0,030	0,24 \pm 0,01	0,84 \pm 0,12	0,21 \pm 0,03
	25 μ g	0,28 \pm 0,01	0,46 \pm 0,09	48 \pm 0,03	0,30 \pm 0,05	0,93 \pm 0,30	0,35 \pm 0,03
	50 μ g	0,30 \pm 0,00	0,58 \pm 0,06	0,59 \pm 0,04	0,43 \pm 0,02	1,18 \pm 0,34	0,73 \pm 0,03
	100 μ g	0,42 \pm 0,01	0,84 \pm 0,04	0,51 \pm 0,05	0,65 \pm 0,07	1,37 \pm 0,20	1,37 \pm 0,08
	200 μ g	0,67 \pm 0,01	0,79 \pm 0,16	0,60 \pm 0,14	0,74 \pm 0,08	1,44 \pm 0,21	1,81 \pm 0,09
	$A_{0.5}$ μ g/mL	133,67 \pm 1,37	38,42 \pm 8,27	66,96 \pm 2,28	66,43 \pm 3,03	6,77 \pm 1,15	34,93 \pm 2,38

**Figure 41** : Valeurs des $A_{0.5}$ du test FRAP pour les extraits et les standards

Les résultats du test FRAP indiquent que l'extrait n-butanolique présente la meilleure activité antioxydante parmi nos extraits, avec une $A_{0.5}$ de 38,42 \pm 8,27 μ g/ml. Bien que cela soit légèrement moins performant que l'acide ascorbique ($A_{0.5}$ = 6,77 \pm 1,15 μ g/ml), il est comparable à l' α -tocophérol (34,93 \pm 2,3815 μ g/ml). Il est suivi par l'extrait acétate d'éthyle avec une $A_{0.5}$ d'environ

66,43±3,03µg/ml et l'extrait brut, avec une valeur de 66,96±2,28µg/ml. L'extrait éther diéthylique est le moins actif, avec une $A_{0,5}$ de l'ordre de 133,67±1,37µg/ml.

Une étude menée par **Cacciola *et al.* (2022)** sur l'extrait méthanolique de l'écorce de tige de *Z. lotus* a rapporté une activité antioxydante évaluée par le test FRAP avec une valeur de (81,68 ± 1,81 µg /ml). De même, l'étude réalisée par **Bencheikh *et al.* (2023)** a évalué l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique des feuilles de *Z. lotus* récoltés dans la région de Sidi Aich au sud de la Tunisie, en utilisant le test FRAP. Les auteurs ont rapporté une valeur d'activité réductrice de 2180 ± 50 µg /ml, indiquant une faible activité antioxydante. Globalement, les valeurs obtenues dans notre étude indiquent une capacité antioxydante réductrice plus élevée que celle rapportée dans ces deux études, en particulier pour l'extrait n-butanolique.

Une autre étude réalisée par **El yakoubi *et al.* (2024)**, portant sur des extraits de feuilles de *Z. lotus*, les activités antioxydantes mesurées par le test FRAP ($A_{0,5}$ en µg/mL) étaient les suivantes : extrait aqueux (23,89 ± 0,80), méthanol 50% (32,92 ± 0,69), méthanol 80% (54,01 ± 0,49), méthanol pur (70,89 ± 0,17), éthanol (80,73 ± 0,24) et hexane (97,63 ± 0,11). En comparaison, nos extraits ont rapporté une activité antioxydante globalement supérieure à celle de cette étude, ce qui démontre un fort pouvoir réducteur de nos extraits dans notre travail.

Le pouvoir réducteur des extraits de *Z. lotus* serait probablement attribuable à la présence de groupements hydroxyles dans les composés phénoliques, lesquels peuvent agir comme donneurs d'électrons. Ainsi, les antioxydants sont considérés comme des agents réducteurs capables d'inactiver les espèces oxydantes (**Siddhuraju et Becker, 2007**).

6.1.4. Le test phénanthroline

La méthode phénanthroline est basée sur la réduction de Fe^{+3} par un agent antioxydant pour donner l'ion Fe^{+2} qui ensuite réagit avec la phénanthroline pour donner un complexe de couleur rouge orangé, et qui absorbe à 510 nm (**Szydłowska-Czerniaka *et al.*, 2008**).

Le profil de la microplaque obtenu par le test phénanthroline est présenté dans **la figure 42**.

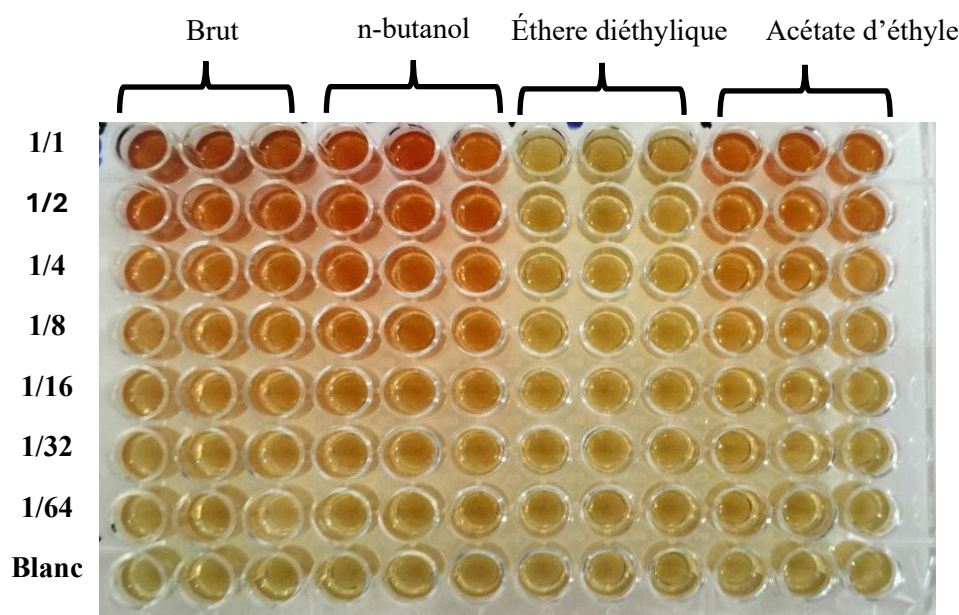


Figure 42 : Profil de la microplaque du test phénanthroline des extraits de *Z. lotus*

Les valeurs d'absorbance obtenus lors des trois essais ainsi que les $A_{0.5}$ sont présentés dans le **tableau 18** et illustrés sur la **figure 43**

Tableau 18 : Valeurs d'absorbance et $A_{0.5}$ du test phénanthroline des extraits et des standards

Concentration($\mu\text{g/ml}$)	0.78 μg	1.56 μg	3.125 μg	6.25 μg	12.5 μg	25 μg	50 μg	$A_{0.5}$ ($\mu\text{g/ml}$)
Extraits et standards								
Éther diéthylique	0,36 \pm 0,01	0,36 \pm 0,00	0,41 \pm 0,00	0,43 \pm 0,01	0,46 \pm 0,02	0,64 \pm 0,03	0,82 \pm 0,08	157,89\pm2,73
n-butanolique	0,43 \pm 0,02	0,52 \pm 0,03	0,68 \pm 0,01	1,09 \pm 0,01	1,59 \pm 0,15	2,62 \pm 0,09	2,88 \pm 0,61	5,59 \pm 0,38
Brut	0,38 \pm 0,00	0,44 \pm 0,01	0,58 \pm 0,01	0,75 \pm 0,02	1,22 \pm 0,02	2,10 \pm 0,09	3,38 \pm 0,05	8,87 \pm 0,40
Acétate d'éthyle	0,38 \pm 0,01	0,39 \pm 0,03	0,47 \pm 0,01	0,61 \pm 0,01	0,83 \pm 0,05	1,53 \pm 0,09	2,41 \pm 0,14	15,81\pm1,50
	0.78125	1.5625	3.125 μg	6.25 μg	12.5 μg	25 μg	50 μg	$A_{0.5}$ ($\mu\text{g/ml}$)
BHA	0,49 \pm 0,01	0,59 \pm 0,01	0,73 \pm 0,02	0,93 \pm 0,01	1,25 \pm 0,04	2,10 \pm 0,05	4,89 \pm 0,06	0,93\pm0,07
BHT	0,47 \pm 0,01	0,47 \pm 0,01	0,53 \pm 0,03	1,23 \pm 0,02	1,84 \pm 0,01	3,48 \pm 0,03	4,84 \pm 0,01	2,24 \pm 0,17

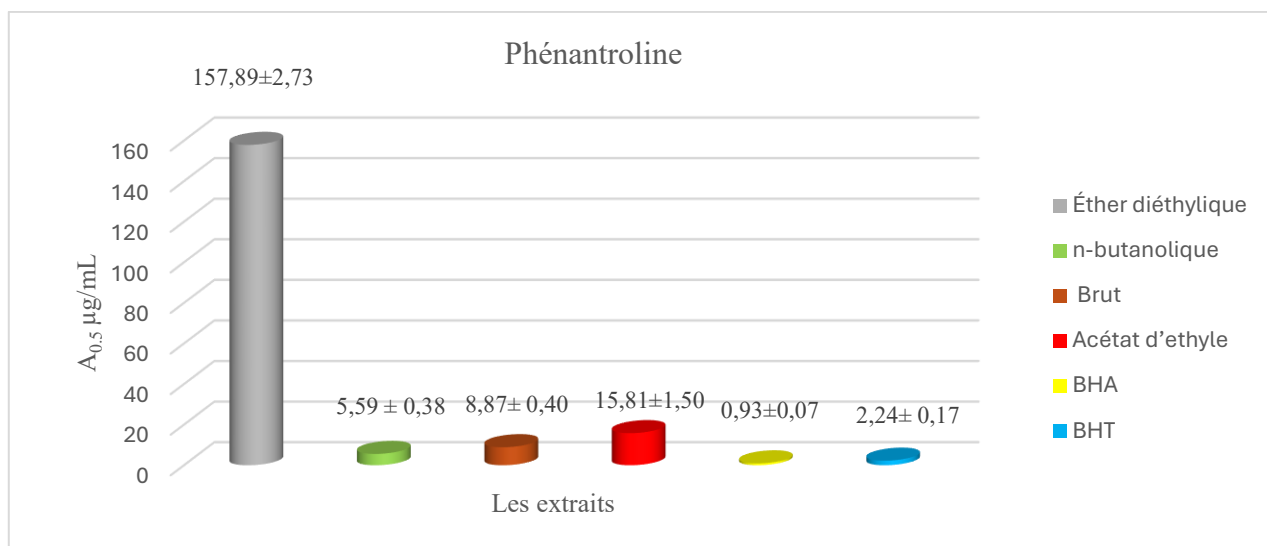


Figure 43 : Valeurs des $A_{0.5}$ du test phénanthroline des extraits et des standards

Les résultats du test au complexe phénanthroline montrent que l'extrait n-butanolique, avec une valeur de $A_{0,5}$ de $5,59 \pm 0,38$ µg/ml, possède la meilleure activité antioxydante parmi les extraits testés. Toutefois, cette activité reste environ 6 fois plus faible que celle du BHA ($0,93 \pm 0,07$ µg/ml) et près de 2,5 fois plus faible que celle du BHT ($2,24 \pm 0,17$ µg/ml). Il est suivi par l'extrait brut et l'extrait acétate d'éthyle dont la valeur de $A_{0,5}$ est de $8,87 \pm 0,40$ µg/ml et $15,81 \pm 1,50$ µg/ml respectivement. L'extrait éther diéthylique est le moins actif, avec une valeur de $A_{0,5}$ de $157,89 \pm 2,73$ µg/ml. Ces résultats mettent en évidence la supériorité des extraits polaires, en particulier le butanolique, en termes de capacité réductrice, comparés aux fractions moins polaires.

La variation du pouvoir réducteur observée peut être attribuée à la capacité antioxydante intrinsèque des polyphénols, laquelle dépend fortement du degré d'hydroxylation et du niveau de conjugaison de leurs structures. En ce qui concerne plus particulièrement les flavonoïdes, plusieurs caractéristiques structurales ont été associées à une meilleure capacité de piégeage des radicaux libres. Il s'agit notamment de la présence d'un groupement dihydroxyle en position 3',4' sur le cycle B, d'une double liaison entre les carbones C2 et C3 conjuguée avec une fonction cétone en position 4 (4-oxo) dans l'anneau central, ainsi que de groupes hydroxyles en positions 3 et 5 sur le cycle A, en conjonction avec une fonction 4-oxo sur les cycles A et C. Ces éléments structuraux renforcent la délocalisation électronique et, par conséquent, le potentiel antioxydant des flavonoïdes (**Pulido *et al.*, 2000**).

Il n'y a aucune étude recensée concernant l'utilisation de la phénanthroline en relation avec *Z. lotus*. Ce travail s'inscrit donc comme une première tentative d'exploration dans ce champ encore peu étudié.

Les résultats obtenus à travers les quatre tests antioxydants (DPPH, ABTS, FRAP et phénanthroline) révèlent une activité antioxydante significative des extraits de *Z. lotus*, avec une hiérarchie décroissante comme suit : extrait n-butanolique > extrait brut > extrait acétate d'éthyle > extrait éther diéthylique. Ce classement met en évidence la richesse en composés antioxydants des fractions polaires, notamment le n-butanol, ce qui est en accord avec la nature hydrophile de plusieurs métabolites phénoliques bioactifs (flavonoïdes, tanins, acides phénoliques...). Ces observations suggèrent que la richesse en composés phénoliques des extraits végétaux contribue de manière notable à leur potentiel antioxydant (**Dudonné *et al.*, 2009**).

Plusieurs études confirment ces résultats, comme celle de **Marmouzi *et al.* (2019)** qui ont mis en évidence une forte activité antioxydante de la fraction butanolique, qu'ils ont attribuée à sa richesse en flavonoïdes. De leur côté, **Boudjelal *et al.* (2012)** ont rapporté une activité antioxydante notable des extraits méthanolique et aqueux de *Zizyphus lotus*, en lien avec leur teneur élevée en composés phénoliques.

Par ailleurs, aux mêmes concentrations testées, les PI obtenus par le test du DPPH sont inférieurs à ceux de la méthode à l'ABTS. Ceci pourrait s'expliquer par la présence de substances qui présentent des bandes d'absorption à la même longueur d'onde que le radical DPPH entraînant ainsi une augmentation de l'absorbance (**Sarr *et al.*, 2015**).

5.2. Evaluation de l'activité antidiabétique

L'activité antidiabétique des différents extraits de *Zizyphus lotus* est évaluée à la fois in vitro, par la mesure de leur capacité à inhiber l'enzyme α -amylase, et in vivo, en suivant l'évolution de la glycémie chez les rats après administration de l'extrait n-butanolique par voie intrapéritonéale.

5.2.1. Inhibition de l'alpha-amylase

Dans le présent travail, nous avons étudié l'action inhibitrice des extraits de feuilles de *Z. lotus* sur l' α -amylase. Les résultats de cette activité inhibitrice sont représentés dans **la figure 44** et **le tableau 20**

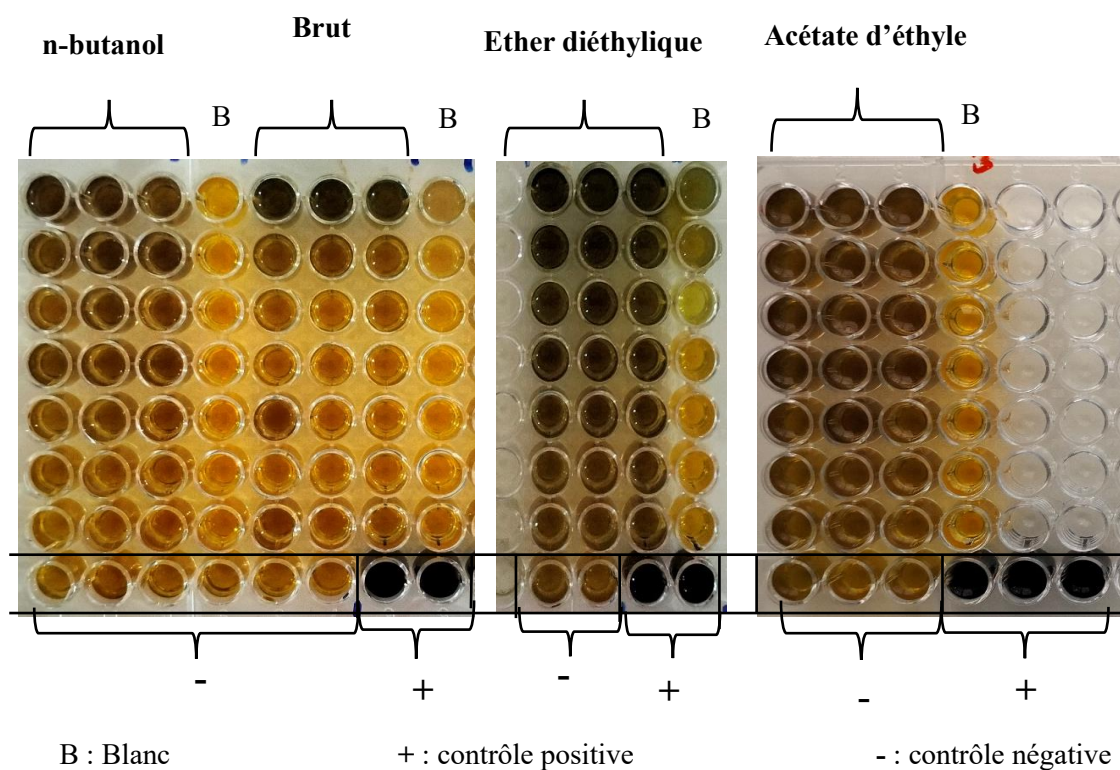


Figure 44 : Profil de la microplaque de l'inhibition de l'alpha-amylase des extraits de *Z. lotus*.

Tableau 20 : Pourcentages d'inhibition de l'α-amylase et les CI₅₀ des extraits et du standard

Concentrations (µg /ml)	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	IC ₅₀ (µg/ml)
Extraits et standard								
Éther diéthylique	44,67±2,20	56,49±2,83	83,32±0,65	103,30±14,98	109,70±1,42	122,54±0,77	138,85±2,42	80,98±1,41
n-butanolique	31,43±0,77	36,84±8,02	40,65±0,45	49,23±1,94	60,33±1,65	61,70±5,62	73,03±0,71	78,23±12,63
Brut	25,06±2,02	32,75±5,07	35,58±0,31	36,50±2,01	48,45±0,77	53,15±20,40	57,81±5,42	108,06±38,72
Acétate d'éthyle	28,12±0,31	37,45±2,59	39,94±6,19	47,16±3,07	73,10±1,12	106,13±8,44	142,56±4,01	74,24±4,35
	62,5 µg	125 µg	250 µg	500 µg	1000 µg	2000 µg	4000 µg	CI ₅₀ (µg/ml)
Acarbose	7,76±0,17	8,08±0,30	9,46±0,11	10,70±0,96	31,81±2,89	37,21±3,54	53,05±1,59	3650,93±10,70

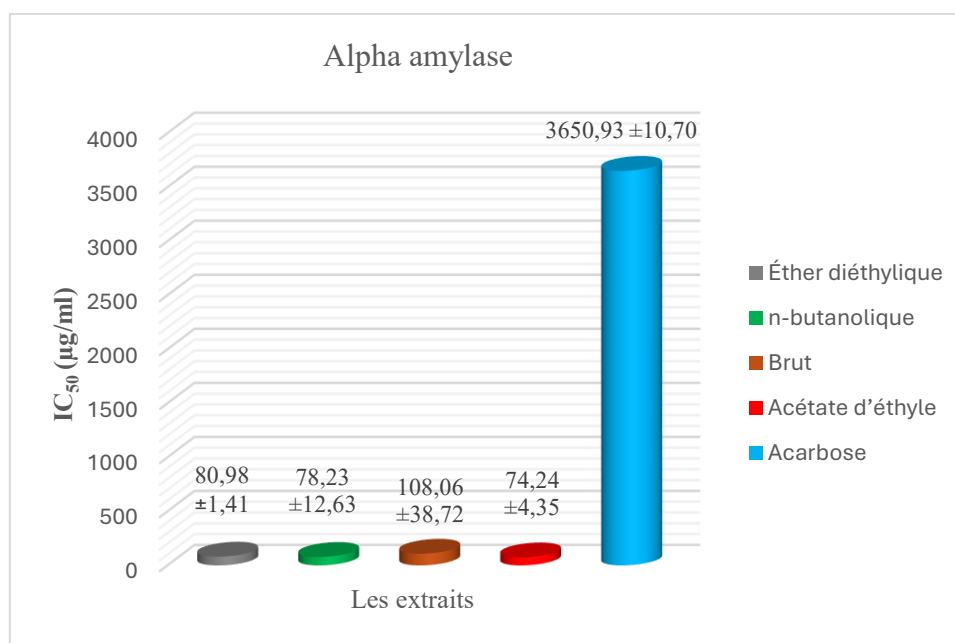


Figure 45 : Pourcentages d'inhibition de l' α -amylase et les IC₅₀ des extraits et du standard

D'après les résultats obtenus, l'extrait acétate d'éthyle présente la meilleure activité inhibitrice de l' α -amylase, avec une IC₅₀ de $74,24 \pm 4,35$ µg/ml, ce qui est nettement plus efficace que les autres extraits testés. L'extrait n-butanolique et l'extrait éther diéthylique suivent avec des IC₅₀ respectives de $78,23 \pm 12,63$ µg/ml et $80,98 \pm 1,41$ µg/ml. En revanche, l'extrait brut présente la plus faible activité inhibitrice, avec une IC₅₀ de $108,06 \pm 38,72$ µg/ml.

Toutefois, cette inhibition est largement supérieure à celle de l'acarbose, un inhibiteur de référence, dont l'IC₅₀ est de $3650,93 \pm 10,70$ µg/ml.

En comparaison avec les travaux antérieurs, notre étude révèle une activité inhibitrice modérée. **Marmouzi et al. (2019)** ont rapporté une activité plus marquée avec des extraits aqueux de feuilles et de fruits de *Zizyphus lotus*, avec des IC₅₀ de l'ordre de $20,40 \pm 1,30$ µg/ml et $31,91 \pm 1,53$ µg/ml respectivement, soit des valeurs plus faibles que celles observées pour nos extraits.

De même, **Dawood et al. (2022)** ont observé une activité inhibitrice notable des fruits de *Z. lotus*, avec une IC₅₀ de 4,98 mg/ml (soit 4980 µg/ml), ce qui reste toutefois beaucoup moins efficace que les extraits testés dans notre étude.

L'excellente capacité inhibitrice de nos extraits pourrait être attribuée à leur richesse en composés phénoliques, en particulier les flavonoïdes et les tanins. Ces composés sont connus pour leur potentiel inhibiteur non spécifique à l'égard de diverses enzymes hydrolytiques telles que l' α -amylase, l' α -glucosidase et la lipase. Cette activité inhibitrice pourrait résulter de leur aptitude à interagir fortement avec les protéines et les glucides, notamment par la formation de multiples liaisons hydrogène entre

les tanins et les protéines. Une telle interaction peut entraîner le blocage des sites catalytiques enzymatiques, conduisant ainsi à une diminution significative de leur activité (Yan *et al.*, 2019).

5.2.2. Évaluation de l'activité antidiabétique in vivo

L'activité antidiabétique de l'extrait n-butanolique des feuilles de *Zizyphus lotus* est évaluée in vivo en suivant l'évolution du taux de glycémie chez les rats, après injection de l'extrait (200 mg/kg) par voie intrapéritonéale, une demi-heure avant l'administration du glucose par gavage à l'aide d'une seringue.

Les résultats obtenus sont comparés à ceux du groupe témoin positif, traité avec de la Metformine (0,5 mg/kg), un antidiabétique de référence, ainsi qu'à ceux du groupe témoin négatif, ayant reçu une injection de solution physiologique (NaCl 0,9 %) à la dose de 250 mg/kg. La glycémie a été mesurée à 0, 30, 60, 120 et 180 minutes après administration orale de glucose. Les résultats sont illustrés dans le **tableau 21** (chaque valeur correspond à la moyenne \pm écart-type) et la **figure 46**.

Tableau 20 : Évolution du taux de glycémie au cours du temps

Temps	0 min	30 min	60 min	120 min	180 min
Témoin (+) (Metformine)	0,498 \pm 0,043	0,816 \pm 0,075	0,762 \pm 0,131	0,658 \pm 0,051	0,496 \pm 0,048
Témoin (-) (NaCl 0.9 %)	0,544 \pm 0,063	1,108 \pm 0,061	0,990 \pm 0,043	0,906 \pm 0,015	0,972 \pm 0,124
Extrait (n- butanolique)	0,564 \pm 0,127	1,070 \pm 0,035	0,986 \pm 0,053	0,890 \pm 0,036	0,746 \pm 0,097

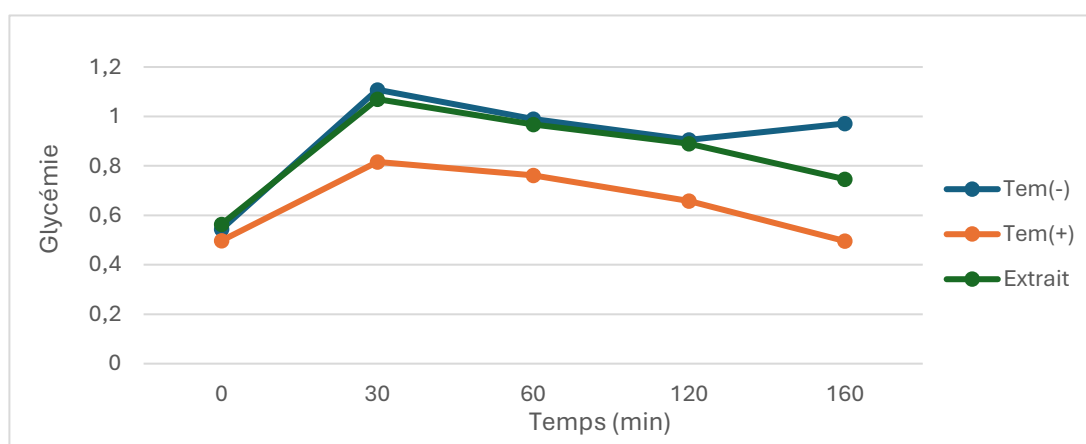


Figure 46 : Graphique représentatif du taux de glycémie des rats traités par l'eau physiologique, la metformine et l'extrait n-butanolique

D'après les résultats obtenus, le groupe témoin négatif (traité à l'eau physiologique) présente les valeurs de glycémie les plus élevées entre 30 et 180 min, avec un pic à 30 min ($1,108 \pm 0,061$ g/l), sans retour efficace au niveau basal à 180 min ($0,972 \pm 0,124$ g/l).

En revanche, le groupe témoin positif (traité à la metformine) montre une bonne réponse au traitement, avec une augmentation modérée de la glycémie à 30 min ($0,816 \pm 0,075$ g/l) suivie d'une diminution progressive jusqu'à $0,496 \pm 0,048$ g/l à 180 min, proche de la glycémie de départ.

Le groupe traité avec l'extrait suit une évolution similaire à celle observée dans le groupe traité à la metformine. Bien que le pic glycémique à 30 min soit légèrement plus élevé ($1,070 \pm 0,035$ g/l), une baisse progressive de la glycémie est observée, atteignant $0,746 \pm 0,097$ g/l à 180 min. Cette tendance traduit une activité antidiabétique potentielle de l'extrait n-butanolique.

L'analyse statistique (ANOVA à deux facteurs) a révélé un effet hautement significatif du temps ($p < 0,0001$), soulignant une évolution temporelle de la glycémie. Le traitement a également montré un effet hautement significatif ($p < 0,0001$), indiquant des différences nettes entre les groupes. L'interaction significative entre le temps et le groupe ($p = 0,000018$) suggère que l'effet du traitement varie en fonction du moment de la mesure.

Ces résultats montrent que le traitement par l'extrait n-butanolique a entraîné une baisse progressive de la glycémie au fil du temps, avec une efficacité intermédiaire entre celle de la metformine et celle du témoin négatif.

Ces données concordent avec les résultats rapportés par **Marmouzi *et al.* (2019)**, qui ont montré une réduction significative de la glycémie post-prandiale avec des extraits de *Z. lotus*, ainsi qu'avec ceux de **Dawood *et al.* (2022)**, qui ont mis en évidence une activité hypoglycémiant marquée chez des rats traités par des extraits de fruits de la même plante.

La diminution progressive de la glycémie observée ici peut être attribuée à la richesse de l'extrait en composés bioactifs, notamment en flavonoïdes et tanins, reconnus pour leurs effets inhibiteurs sur les enzymes digestives (α -amylase, α -glucosidase) et leur rôle dans la régulation du métabolisme glucidique.

Conclusion et perspectives

Les plantes constituent encore aujourd'hui la principale source de médicaments pour une grande partie de la population mondiale, notamment dans les pays en développement. *Zizyphus lotus*, une espèce largement répandue en Algérie, est couramment utilisée en médecine traditionnelle pour traiter diverses maladies. Les extraits de ses feuilles suscitent un intérêt scientifique croissant en raison de leurs potentiels effets antioxydants et antidiabétiques.

Le présent travail avait pour objectif d'étudier la composition phytochimique des feuilles de *Z. lotus* et d'évaluer leurs activités antioxydante et antidiabétique, à travers des approches *in vitro* et *in vivo*.

L'analyse qualitative des extraits de la plante a révélé une richesse en métabolites primaires et secondaires. Le criblage phytochimique a permis de détecter divers groupes de composés, notamment les polyphénols, en particulier les flavonoïdes et les tanins, ainsi que les stéroïdes, les leucoanthocyanes, les alcaloïdes, les saponosides et les glucides. Ces substances sont susceptibles de contribuer aux effets biologiques observés.

L'analyse quantitative des extraits montre que l'extrait n-butanolique présente les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux ($288,11 \mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait) ainsi qu'en flavonoïdes ($84,02 \pm 3,93 \mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait).

Les résultats des tests antioxydants, réalisés à l'aide des méthodes de piégeage des radicaux libres DPPH et ABTS, ainsi que des tests de pouvoir réducteur (FRAP) et de la phénanthroline, ont révélé une activité antiradicalaire notable pour l'ensemble des extraits de feuilles de *Z. lotus*. Parmi ceux-ci, l'extrait n-butanolique s'est distingué par une activité antioxydante particulièrement marquée, avec des valeurs d' IC_{50} de $28,33 \pm 0,81 \mu\text{g/ml}$ pour le test DPPH, $9,79 \pm 0,75 \mu\text{g/ml}$ pour ABTS, et des valeurs d' $\text{A}_{0,5}$ de $38,42 \pm 8,27 \mu\text{g/ml}$ et $5,59 \pm 0,38 \mu\text{g/ml}$ respectivement pour les tests FRAP et phénanthroline.

En ce qui concerne l'activité antidiabétique, l'ensemble des extraits a montré une inhibition de l' α -amylase, avec une efficacité notable pour les extraits acétate d'éthyle et n-butanolique. Par ailleurs, l'évaluation *in vivo* a révélé que l'extrait n-butanolique induit une baisse significative de la glycémie chez les rats, renforçant ainsi l'intérêt pharmacologique de cette plante.

Ces résultats confirment les usages traditionnels de *Z. lotus* dans le traitement du diabète et du stress oxydatif, et soutiennent son potentiel comme source de molécules bioactives d'intérêt thérapeutique.

Perspectives

Afin de valoriser pleinement les propriétés de *Zizyphus lotus*, plusieurs pistes de recherche peuvent être envisagées :

- L'isolement et la caractérisation des composés actifs responsables des effets antioxydants et antidiabétiques, à l'aide de techniques chromatographiques et spectroscopiques avancées.
- L'étude mécanistique approfondie des interactions entre ces composés et les enzymes digestives ou les récepteurs cellulaires impliqués dans la régulation de la glycémie.
- Des essais in vivo à long terme, intégrant différents modèles animaux, pour évaluer la toxicité, la biodisponibilité et l'efficacité thérapeutique des extraits ou composés isolés.
- L'exploration d'autres propriétés pharmacologiques, telles que les activités anticancéreuses, anti-inflammatoires et analgésiques.
- Le développement de formulations pharmaceutiques ou nutraceutiques à base d'extraits standardisés de *Zizyphus lotus*, en vue d'une application clinique ou d'un usage complémentaire en phytothérapie.

Ces perspectives ouvrent la voie à une meilleure exploitation de cette plante médicinale et pourraient contribuer au développement de nouvelles alternatives naturelles dans la lutte contre les maladies métaboliques.

Références bibliographiques

- **Abdeddaim M. (2018)** Étude de la composition biochimique des fruits de cinq espèces végétales présentes dans la région des Aurès en vue de leur utilisation alimentaire ou pharmacologique (*Celtis australis* L., *Crataegus azarolus* L., *Crataegus monogyna* J., *Elaeagnus angustifolia* L., et *Zizyphus lotus* L.) [Thèse de doctorat, Université de Batna].
- **Abderrahim L. A. Taïbi K. et Abderrahim C. A. (2019)** Assessment of the antimicrobial and antioxidant activities of *Zizyphus lotus* and *Peganum harmala*. *Iranian Journal of Science & Technology, Trans. A Science*, 43(2) pp409–414.
- **Abdoul-Azize S. (2016)** Potential benefits of jujube (*Zizyphus lotus* L.) bioactive compounds for nutrition and health. *Journal of Nutritional Metabolism*, 2016, pp 1–12.
- **Abou-Elella F. et Ali R. (2014)** Antioxidant and Anticancer Activities of Different Constituents Extracted from Egyptian Prickly Pear Cactus (*OpuntiaFicus-Indica*) Peel. *Biochem. Anal. Biochem.*, 3: pp158.
- **Abudunia A.-M. (2018)** The valorization of the flowers of *C. arvensis* [Thèse de doctorat, Université de Rabat, Maroc].
- **Adhikamsetty R. K., Gollapalli N. R. et Jonnalagadda S. B. (2008)** Complexation kinetics of Fe^{2+} with 1,10-phenanthroline forming ferroin in acidic solutions *International Journal of Chemical Kinetics* 40(8), pp515–523
- **Aganga A. A. et Mosase K. W. (2001)** Tannins content, nutritive value and dry matter digestibility of *Lonchocarpus capussa*, *Zizyphus mucropata*, *Sclerocarya birrea*, *Kirkia acuminata* and *Rhus lancea* seeds. *Animal Feed Science and Technology*, 91(1–2), pp107–113. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(01\)00221-6](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(01)00221-6)
- **Ahmadi E. Rahnema Z. et Tehrani A. (2009)** Atopic dermatitis and type 1 diabetes mellitus in Iranian children. *American Journal of Immunology*, 5(3) pp98–100.
- **Albayrak S. Aksoy A. Sagdic O. et Hamzaoglu E. (2010)** Compositions, antioxidant and antimicrobial activities of *Helichrysum* (Asteraceae) species collected from Turkey. *Food Chemistry*, 119 pp114–122.
- **Alignan M. (2006)** Phoma du tournesol : déterminisme de la tolérance de l'hôte à la maladie [Thèse de doctorat, Université de Toulouse].
- **Alla C., Ali A., Mehious A., Salhi Y., Bouanani N., Legssyer A., Ziyat A. (2025)** Phytochemical Composition of *Zizyphus lotus* (L.) Lam and Its Impact on the Metabolic Syndrome: A Review. *Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences*, volume 2025, issue 1. DOI 10.1155/ADPP/8276090

- **American Diabetes Association (2021)** Standards of Medical Care in Diabetes. *Diabetes Care*, 44(Supplement 1), S1–S232.
- **American Diabetes Association (ADA) (2014)** Diagnostic and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 37(Supplement 1) S81–S90. <https://doi.org/10.2337/dc14-S081>
- **Ameyaw Y. et Duker-Eshun G. (2009)** The alkaloid contents of the ethnoplant organs of three anti-malarial medicinal plant species in the Eastern Region of Ghana. *Journal of Science and Technology*, 7(1) pp48–58.
- **Ammari M. et Laouar S. (2019)** Contribution à l'étude phytochimique et à l'activité biologique des extraits méthanoliques de *Calligonum comosum* L'her issue de quatre régions différentes (Oued-Souf) [Thèse de doctorat, Université d'El Oued].
- **Apak R., Güçlü K., Demirata B., Özyürek M., Çelik S. E., Bektaşoğlu B. et Özyurt D. (2007)** Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay *Molecules* 12(7) pp1496–1547 <https://doi.org/10.3390/12071496>
- **Arndt S. K., Clifford S. C. et Popp M. (2001)** *Zizyphus* a multipurpose fruit tree for arid regions. In S. W. Breckle, M. Veste, et W. Wucherer (Eds.), *Sustainable land-use in deserts* (pp 388–399). Springer.
- **Arts M. J., Haenen G. R., Voss H. P. et Bast A. (2004)** Antioxidant capacity of reaction products limit the applicability of the Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) essay. *Food and Chemical Toxicology*, 42(1) pp45–49.
- **Asatryan A. et Tel-Zur N. (2014)** Intraspecific and interspecific crossability in three *Zizyphus* species (Rhamnaceae). *Genetic Resources and Crop Evolution*, 61, pp 215–233. <https://doi.org/10.1007/s10722-013-0031-7>
- **Badiaga M. (2011)** Étude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali (Doctoral dissertation, Université Blaise Pascal–Clermont-Ferrand II)
- **Bahorun T. (1997)** Substances naturelles actives: La flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. *Food and Agricultural Research*, 1997, pp83–94
- **Bährle-Rapp M. (2007)** Saponins. In *Springer Lexikon Kosmetik und Körperpflege* (p. 490). Springer Berlin Heidelberg
- **Bakchiche B. et Gherib A. (2014).** Activités antioxydantes des polyphénols extraits de plantes médicinales de la pharmacopée traditionnelle d'Algérie [Antioxidant activities of

- polyphenol extracts from medicinal plants in Algerian traditional pharmacopoeia]. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 9(1), pp167.
- **Bamouh A. (2002)** Contribution à l'étude des plantes fourragères en zones arides. *Options Méditerranéennes*.
 - **Bamouh A. (2002)** La lutte chimique contre le jujubier. Programme National de Transfert de Technologie en Agriculture (PNTTA), DERD Rabat, n° 94, pp1–4.
 - **Beaudeux J. L. et Geneviève D. (2011)** Biochimie médicale : Marqueurs actuels et perspectives (2e éd.). Éditions Lavoisier Chantal Arpino, pp130–131
 - **Békro Y. A., Békro JAM., Boua B. B., Tra BFH. et Ehilé E. E. (2007)** Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthiana* (Baill.) Herend et Zarucchi (Caesalpiniaceae) *Revue des Sciences Naturelles* 4(2), pp217–225
 - **Belcher R. (1973)** The application of chelate compounds in analytical chemistry In *Analytical Chemistry* – 4(pp. 13–27) Butterworth-Heinemann
 - **Belkheiri N. (2010)** Dérivés phénoliques à activités antiathérogènes (Thèse de doctorat, Université Toulouse III – Paul Sabatier)
 - **Bellakhdar J. (1997)** La pharmacopée marocaine traditionnelle. *Ibis Press*.
 - **Belouahad S. et Bensammar C (2022)** Étude phytochimique et biologique d'une plante médicinale algérienne : *Asteriscus graveolens* (Asteraceae) *Mémoire de master, Université Frères Mentouri Constantine I*
 - **Benammar C., Baghdad C., Belarbi M., Subramaniam S., Hichami A. et Khan N. A. (2014)** Antidiabetic and antioxidant activities of *Zizyphus lotus* L aqueous extracts in Wistar rats. *Journal of Nutrition & Food Sciences*, 2014, pp2–6
 - **Bencheikh N. et al., (2023)** Phytochemical and pharmacological properties of *Zizyphus lotus* : A review. *Journal of Ethnopharmacology*.
 - **Bencheikh N., Bouhrim M., Kharchoufa L., Al Kamaly O. M., Mechchate H., Es-Safi I., Dahmani A., Ouahhoud S., El Assri S., Eto B., Bnouham M., Choukri M. et Elachouri M. (2021)** The nephroprotective effect of *Zizyphus lotus* L. (Desf.) fruits in a gentamicin-induced acute kidney injury model in rats: A biochemical and histopathological investigation. *Molecules*, 26(16), pp4806. <https://doi.org/10.3390/molecules26164806>
 - **Bencheikh N., Bouhrim M., Kharchoufa L., Choukri M., Bnouham M. et Elachouri M. (2019)** Effet protecteur du fruit de *Zizyphus lotus* L. (Desf.) contre les lésions hépatiques

- aiguës induites par le CCl₄ chez le rat. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2019, Article 6161593. <https://doi.org/10.1155/2019/6161593>
- **Bencheikh N., Radi F. Z., Fakchich J., Elbouzidi A., Ouahhoud S., Ouasti M. et Elachouri M. (2023)** Ethnobotanical, phytochemical, toxicological, and pharmacological properties of *Zizyphus lotus* (L.) Lam.: A comprehensive review. *Pharmaceuticals*, 16(4), pp575. <https://doi.org/10.3390/ph16040575>
 - **Bensakhria A. (2018)** Les plantes toxiques. *Toxicologie générale* (Vol. 8). Éditions Jean-Paul Gisserot.
 - **Benslama A., Harrar A., Gül F. et Demirtaş İ. (2017)** Phenolic compounds, antioxidants and antibacterial activities of *Zizyphus lotus* L. leaves extracts. *The Natural Products Journal*, 7(4), pp316–322. <https://doi.org/10.2174/2210315507666170530090957>
 - **Bergounhou C. (1996)** Protonation de la 1,10-phénanthroline. *Bulletin de la Société Chimique de France*, 90(7)
 - **Bernard B. (2001)** *Plantes médicinales du monde : Réalités & croyances*. Éditions ESTEM.
 - **Betina-Bencharif S. B. (2014)** *Isolement et caractérisation de saponosides extraits de deux plantes médicinales : Cyclamen africanum, Zygophyllum cornutum et évaluation de leur activité anti-inflammatoire* (Thèse de doctorat, Université de Bourgogne ; Université Mentouri-Constantine)
 - **Bhat S. V., Nagasampagi B. A. et Sivakumar M. (2005)** *Chemistry of natural products* (Ch. 4, p. 237). Narosa Publishing House
 - **Bisbal C., Lambert K. et Avignon A. (2010)** Antioxidants and glucose metabolism disorders. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 13(4), pp439–446
 - **Bischoff H. (1994)** Pharmacology of glucosidase inhibitor. *European Journal of Clinical Investigation*, 24, pp3–10
 - **Blumental Y., Belghiti J. et Driessen M. (2008)** *Gynécologie-obstétrique* (pp. 65, 77). De Boeck
 - **Bogs J., Downey M. O., Harvey J. S., Ashton A. R., Tanner G. J. et Robinson S. P. (2005)** Proanthocyanidin synthesis and expression of genes encoding leucoanthocyanidin reductase and anthocyanidin reductase in developing grape berries and grapevine leaves. *Plant Physiology*, 139(2), pp652–663
 - **Bohn-Courseau I., Jullien M., Paray F., Perrot-Rechenmann C., Reisdorf-Cren M., Richard L. et Savouré A. (2009)** *Biologie végétale : Croissance et développement* (134 p.). Paris : Dunod

- **Bonnefont-Rousselot D., Beaudoux J., Therond P., Perynet J., Legrand A. et Delattre J. (2004)** Diabète sucré, stress oxydant et produits de glycation avancée. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 62, pp147–157
- **Bonnet J. (2001)** Larousse des arbres : Dictionnaire des arbres et des arbustes (pp. 512). Larousse.
- **Borgi W. et Chouchane N. (2006)** Activité anti-inflammatoire des saponosides des écorces de racines de *Zizyphus lotus* (L.). *Revue des Régions Arides*, pp283–286
- **Borgi W., Ghedira K. et Chouchane N. (2007)** Anti-inflammatory and analgesic activities of *Zizyphus lotus* root barks. *Fitoterapia*, 78, pp16–19
- **Borgi W., Ghedira K. et Chouchane N. (2007).** Antiulcerogenic activity of *Zizyphus lotus* (L.) extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 112, pp228–233.
- **Borgi W., Recio M.-C., Ríos J. et Chouchane N. (2008)** Anti-inflammatory and analgesic activities of flavonoid and saponin fractions from *Zizyphus lotus* (L.) Lam. *South African Journal of Botany*, 74(2), pp320–324. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2008.01.009>
- **Bouallegue K., Boulila A., Trigui M. et al. (2021)** Phytochemical composition and biological activities of *Zizyphus lotus* leaves extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 270, 113822.
- **Bouaziz M. et al. (2014)** Phenolic content and biological activities of *Zizyphus lotus* extracts. *Industrial Crops and Products*, 59, pp163–169.
- **Boudjelal A., Henchiri C., Sari M., Sarri D., Bendahmane D., Izzo A. A. et Ruberto G. (2012)** Ethnobotanical study of medicinal plants used by traditional healers in M'Sila (North Algeria). *Journal of Ethnopharmacology*, 148(2), pp395–402. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.04.012>
- **Bouyahya A., Bakri Y., Et-Touys A., Fatiha E.-S., Dakka N. et Idaomar M. (2016)** Potential benefits of jujube (*Zizyphus lotus* L.) bioactive compounds for nutrition and health. *Journal of Nutrition and Metabolism*, 2016, Article ID 2867470. <https://doi.org/10.1155/2016/2867470>
- **Bouزيد W., Yahia, M., Abdeddaïm M., Aberkane M. C. et Ayachi A. (2011)** Évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de l'aubépine monogyne. *Lebanese Science Journal*, 12(1), pp59–69.
- **Bozin B., Mimica-Dukic N., Samojlik, I., Goran A. et Igic, R. (2008)** Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae). *Food Chemistry*, 111(4), pp925–929. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.04.071>

- **Brand-Williams W ., Cuvelier M. E. et Berset C. (1995)** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity *LWT - Food Science and Technology* 28(1) pp25–30
[https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- **Bruneton J. (1993)** Pharmacognosie : Phytochimie-plantes médicinales (2e éd., p. 915). Tec & Doc Lavoisier. ISBN : 978-2-7430-0235-6
- **Bruneton J. (1999)** Les tanins. In Éditions médicales internationales (pp. 369–404). Paris : Éditions médicales internationales
- **Bruneton J. (1999)** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (3e éd., pp. 784–873). Technique et Documentation Lavoisier. ISBN : 978-2-85206-487-7
- **Bruneton J. (2009)** Pharmacognosie : Phytochimie, plantes médicinales (4e éd., revue et augmentée, 1288 pp.). Tec & Doc - Éditions médicales internationales. ISBN : 978-2-7430-1188-8
- **Burlakova E. B., Alesenko A. V., Molochkina E. M., Palmina N. P. et Khrapova N. G. (1975)** Bioantioxidants in radiation damage and malignant growth. Moscow: Science.
- **Cacciola A., D'Angelo V., Raimondo, F. M., Germanò M. P., Braca A., et De Leo, M. (2022)** *Zizyphus lotus* (L.) Lam. as a source of health promoting products: Metabolomic profile, antioxidant and tyrosinase inhibitory activities. *Chemistry & Biodiversity*, 19(5), e202200237. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202200237>
- **Calop J., Limat S. et Fernandez C. (2008)** Pharmacie clinique et thérapeutique (3e éd., pp. 417–427). Elsevier Masson Catoire C., Zwang H. et Bouet C. (1994) Le jujubier ou le *Zizyphus lotus*. *Fruits oubliés*, Article n°1
- **Chaieb I. (2010)** Saponins as insecticides: A review. *Tunisian Journal of Plant Protection*, 5(1), pp39–50
- **Chen J. et Tsim K. W. K. (2020)** A review of edible jujube, the *Zizyphus jujuba* fruit: A health food supplement for anemia prevalence. *Frontiers in Pharmacology*, 11, 593655. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.593655>
- **Chen J., Liu X., Li Zh., Qi A., Yao P., Zhou Zh., Dong T. T. X. et Tsim K. W. K. (2017)** A review of dietary *Zizyphus jujuba* fruit (jujube): developing health food supplements for brain protection. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2017. Article ID 3019568.
- **Cheurfa M., Baghiani A., Boussoulalim N. et Arrar L. (2017)** Antioxidant and antibacterial activity of *Zizyphus lotus* (L.) extracts. *Phytothérapie*, 15(2), pp135–141.

- **Chiba S. (1988).** Amyloglycosidase. In The Amylase Research Society of Japan (Éd.), *Handbook of amylases and related enzymes* (pp. 104–116). Pergamon Press.
- **Chopra I. C., Abral B. K., et Handa K. L. (1960)** Les plantes médicinales des régions arides considérées surtout du point de vue botanique. UNESCO.
- **Chouaibi M., Mahfoudhi N., Rezig L., Donsi F., Ferrari G. et Hamdi S. (2012)** Nutritional composition of *Zizyphus lotus* L. seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(6), pp1171–1177. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4701>
- **Chung Y. C., Chang C. T., Chao W. W., Lin C. F. et Chou S. T. (2002)** Antioxidative activity and safety of the 50% ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1 *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(8), pp2454–2458
- **Clifford S. C., Arndt S. K., Corett J. E., Joshi S., Sankhala N. et Popp M. (1998)** The role of solute accumulation, osmotic adjustment and changes in cell wall elasticity in drought tolerance in *Zizyphus mauritiana* Lamk. *Journal of Experimental Botany*, 49(323), pp 967–977.
- **Cowan M. M. (1999)** Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), pp564–582. <https://doi.org/10.1128/CMR.12.4.564>
- **Crozier A., Clifford M. N., et Ashihara H. (2006)** Plant secondary metabolites: Occurrence, structure and role in the human diet. Blackwell Publishing Ltd.
- **Cushnie T. P. T., Cushnie B. et Lamb A. J. (2014)** Alkaloids: An overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 44(5), pp377–386. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2014.06.001>
- **Cuvelier C., Dotreppe O., et Istasse L. (2003).** Chimie, sources alimentaires et dosage de la vitamine E. *Annales de Médecine Vétérinaire*, 147, pp315–324.
- **Dacosta Y. (2003)** Les phytonutriments bioactifs (317 p.). Yves Dacosta. ISBN : 978-2-9518220-0-9
- **Dahlia F. (2019)** Analyse de variabilité des fruits de quelques populations de jujubier sauvage (*Zizyphus lotus* (L.) Desf.) en Algérie [Thèse de doctorat, Université Ibn Khaldoun].
- **Dahlia F., Benito C. et Boussaid M. (2019)** Genetic diversity of fruits in wild jujube (*Zizyphus lotus* L. Desf.) natural populations from Algeria. *Poljoprivreda i Sumarstvo*, 65(1), pp165–183.
- **Dahmani A. et Guettou M. (2020)** Caractérisation morphologique et écologique de *Zizyphus mauritiana* dans la région de Biskra. *Revue des Sciences Agronomiques*, 17(4), pp 213–229.

- **Dawood, H. M., Shawky, E., Elsayed Zayed, M. A., Elsayed Tayea, M., Ghareeb, D. A. et Darwish, R. S. (2022).** Metabolomics and chemometrics approaches to unravel the metabolic diversity and in-vitro antidiabetic potential of two *Zizyphus* species [Poster presentation]. Faculty of Pharmacy, Alexandria University, Egypt
- **De Sales P. M., De Souza P. M., Simeoni L. A., Magalhães P. D., et Silveira D. (2012).** Department of Pharmaceutical Sciences, School of Health Sciences, Campus Darcy Ribeiro, University of Brasília, Brasília, Brazil. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*, 15(1), pp141–183. <http://www.cspscanada.org>
- **De Souza P. M., et Magalhães P. O. (2010)** Application of microbial α -amylase in industry – A review. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41(4), pp850–861. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822010000400004>
- **Dejckhamron P., Menon R. K. et Sperling M. A. (2007)** Childhood diabetes mellitus: Recent advances and future prospects. *Indian Journal of Medical Research*, 125(3), pp231–250.
- **Delattre J., Beaudoux J. L. et Bonnefont-Rousselot D. (2005)** Radicaux libres et stress oxydant : Aspects biologiques et pathologiques. Éditions Lavoisier TEC & DOC, Médicales Internationales.
- **Dent M., Dragović-Uzelac V., Penić M., Bosiljkov T. et Levaj, B. (2013)** The effect of extraction solvents, temperature and time on the composition and mass fraction of polyphenols in Dalmatian wild sage (*Salvia officinalis* L.) extracts. *Food technology and biotechnology*, 51:1, 84-91.
- **Dewick P. M. (2002)** Medicinal natural products: A biosynthetic approach (2e éd.). John Wiley & Sons.
- **Ding X. P., Qi, J., Chang Y. X., Mu, L. L., Zhu, D. N. et Yu, B. Y. (2009)** Quality control of flavonoids in Ginkgo biloba leaves by high-performance liquid chromatography with diode array detection and on-line radical scavenging activity detection. *Journal of Chromatography A*, 1216, pp2204–2210.
- **Djellouli M., Moussaoui A., Benmehdi H., Ziane L., Belabbes A., Badraoui M., Slimani N. et Hamidi N. (2013)** Ethnopharmacological study and phytochemical screening of three plants (Asteraceae family) from the region of southwest Algeria. *Asian Journal of Natural & Applied Sciences*, 2(2), pp59–64.

- **Djidel S. et Bouzid S. (2018)** Phytochemical screening and biological activities of *Zizyphus lotus* L. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 70(8), 1118–1128. <https://doi.org/10.1111/jphp.12956>
- **Do Q. D., Angkawijaya A. E., Tran-Nguyen P. L., Huynh L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji S. et Ju, Y. H. (2014)** Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22(3), pp296–302. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2013.11.001>
- **Drouin P., Blicke J. F., Charbonnel B., Eschwege E., Guillausseau P. J. et Plouin P. F. (2000)** Diagnostic et classification du diabète sucré : Les nouveaux critères. *Annales médicales de Nancy et de Lorraine*, 39(1), pp29–39.
- **Dudonné S., Vitrac X., Coutière P., Woillez M. et Mérillon J.-M. (2009).** Comparative Study of Antioxidant Properties and Total Phenolic Content of 30 Plant Extracts of Industrial Interest Using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(5), pp1768-1774.
- **Dupont F. et Guignard J. L. (2012)** Botanique : Les familles de plantes. *Elsevier*.
- **Eddouks M., Maghrani M., Lemhadri A., Ouahidi M. L. et Jouad H. (2012)** Ethnopharmacological survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes mellitus, hypertension and cardiac diseases in the south-east region of Morocco (Tafilalet). *Journal of Ethnopharmacology*, 82(2-3), pp97–103.
- **Ehleringer J. R., et Dawson T. E. (1992)** Water uptake by plants: Perspectives from stable isotope composition. *Plant, Cell & Environment*, 15(9), pp1073–1082.
- **El Ghazouani F., Bourhim N., Guaouguaou F.-E. et al. (2020)** Phytochemical screening and antioxidant activity of *Zizyphus lotus* extracts. *South African Journal of Botany*, 132, pp71–77.
- **El Yakoubi N., El Ansari Z. N., Ennami M., BBenkaddour R. El Kbiach M. L., Bounab L., et Bouzdoudi, B. (2024).** Assessment of phytochemical, antioxidant and antibacterial properties of *Zizyphus lotus* leaves extracts. *Multidisciplinary Science Journal*, 7(2). <https://doi.org/10.31893/multiscience.2025050>
- **Elaloui M., Ennajah A., Ghazghazi H., Youssef I. B. et al. (2017).** Quantification of total phenols, flavonoids and tannins from *Zizyphus jujuba* (Mill.) and *Zizyphus lotus* (L.) (Desf) leaf extracts and their effects on antioxidants and antibacterial activities. *International Journal of Secondary Metabolite*, 4(1), pp18–26. <https://doi.org/10.21448/ijsm.275886>

- **Elkolli M. (2017)** Structure et activités des substances naturelles : principes et applications [Support de cours, Master 2 Écologie microbienne]. Université Ferhat Abbas, Sétif .
- **Emberger L. et Chadeaud M. (1960)** Traité de botanique systématique (Tome 2). Masson.
- **Espiard E. (2002)** Introduction à la transformation industrielle des fruits. Tec & Doc.
- **Evans P. et Halliwell B. (1999)** Free radicals and hearing: Cause, consequence, and criteria. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 884(1), pp19–40.
- **Fellah S., Romdhane M. et Abderraba M. (2006)** Extraction et étude des huiles essentielles de la *Salvia officinalis* L. cueillie dans deux régions différentes de la Tunisie. *Journal de la Société Algérienne de Chimie*. 16 :2, pp193-202.
- **Fertout-Mouri N., Latreche A., Mehdadi M., Bengherrazl Z. (2016)** Activité antibactérienne de quatre extraits de *Teucrium polium* L. du mont de Tessala (Algérie occidentale). *Bulletin de la Société royale des Sciences de Liège* : 85, p. 253 – 262.
- **Fogarty W. M., et Kelly C. T. (1980)** Amylase, amyloglucosidase and related glucanases. In Rose A. H. (Éd.), *Economic microbiology: Microbial enzymes and bioconversion* (Vol. 5, pp115–170, 268). Academic Press.
- **Fogel M. R. et Gray G. M. (1973)** Starch hydrolysis in man: An intra-luminal process not requiring membrane digestion. *Journal of Applied Physiology*, 35, pp263–267.
- **Foretz M. et Viollet B. (2014)** Les nouvelles promesses de la metformine *Médecine/Sciences* 30(1), pp82–92
- **Fouillaud M., Venkatachalam M., Girard-Valenciennes E., Caro Y. et Dufossé L. (2016)** Anthraquinones and derivatives from marine-derived fungi: Structural diversity and selected biological activities. *Marine Drugs*, 14(4), pp64. <https://doi.org/10.3390/md14040064>
- **Franzyk H., Jensen S. R. et Rasmussen J. H. (1998)** Synthesis of antirrhinolide, a new lactone from *Antirrhinum majus* *European Journal of Organic Chemistry* 1998(3), pp365–370
- **Fritsch H. et Griesbach H. (1975)** Biosynthesis of cyanidin in cell cultures of *Haplopappus gracilis*. *Phytochemistry*, 14(10), pp2437–2442. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(75\)85056-6](https://doi.org/10.1016/0031-9422(75)85056-6)
- **Fuorruci S. (2006)** *Activités biologiques de composés de la famille des flavonoïdes : Approches par des méthodes de chimie quantique* (Thèse de doctorat, Université Nice Sophia Antipolis).

- **Garrett R. H. et Grisham C. M. (2000) *Biochimie* (2e éd.).** Bruxelles: De Boeck Université, 1292 .
- **Ghalem M. (2014) *Effets antioxydants et anti-inflammatoires des extraits de Zizyphus lotus et Anthyllis vulneraria*** [Thèse de doctorat, Université Abou Bekr Belkaïd – Tlemcen]. Laboratoire des Produits Naturels (LAPRONA).
- **Gharnit N., El Mtili N., Ennabili A. et Sayah F. (2010)** Aspects de la phénologie fructifère du caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) dans la région de Chefchaouen (NW Maroc). *Journal of Materials and Environmental Science*, 1(2), pp 107–113.
- **Ghazghazi H., Aouadhi C., Riahi L., Maaroufi A. et Hasnaoui B. (2014)** Fatty acids composition of Tunisian *Zizyphus lotus* L. (Desf.) fruits and variation in biological activities between leaf and fruit extracts. *Natural Product Research*, 28(14), pp1106–1110. <https://doi.org/10.1080/14786419.2014.913244>.
- **Ghedira K. (2013) *Zizyphus lotus* (L.) Desf. (Rhamnaceae): Jujubier sauvage.** *Ethnobotanique–Monographie*, 11, pp149–153.
- **Ghedira K., Chemli R., Caron C., Nuzillard J. M., Zèches M. et Le Men-Olivier L. (1995)** Four cyclopeptide alkaloids from *Zizyphus lotus*. *Phytochemistry*, 38(3), pp767–772.
- **Glatz Z. (2006)** Determination of enzymatic activity by capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography B*, 841(1–2), pp23–37. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2006.08.013>
- **Gornall A. G., Bardawill C. J. et David M. M. (1949)** Determination of serum proteins by means of the biuret reaction *Journal of Biological Chemistry* 177(2), pp751–766
- **Grayer R. J., Kimmins F. M., Padgham D. E., Harborne J. B. et Rao D. R. (1992)** Condensed tannin levels and resistance of groundnuts (*Arachis hypogaea*) against *Aphis craccivora*. *Phytochemistry*, 31(11), pp3795–3800. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(92\)83732-N](https://doi.org/10.1016/0031-9422(92)83732-N)
- **Grimaldi A. (2009) *Traité de diabétologie* (2e éd.).** pp34–35. Médecine-Sciences.
- **Haddouchi F., Chaouche T. M. et Halla N. (2016)** Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d’Algérie *Phytothérapie* 16(Suppl. 1) pp254–262
- **Hagerman A. E., Riedl K. M., Jones G. A., Sovik K. N., Ritchard N. T., Hartzfeld P. W. et Riechel T. L. (1998)** High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, pp1887–1892.

- **Haleng J., Pincemail J., Defraigne J. O., Charlier C. et Chapelle J. P. (2007)** Le stress oxydant. *Revue Médicale de Liège*, 62, pp628–638.
- **Hammi K. M., Essid R., Khadraoui N., Ksouri R., Majdoub H. et Tabbene O. (2022)** Antimicrobial, antioxidant and antileishmanial activities of *Zizyphus lotus* leaves. *Archives of Microbiology*, 204(1), pp119.
- **Hammi K. M., Jdey A., Abdelly C., Majdoub H. et Ksouri R. (2015)** Optimization of ultrasound-assisted extraction of antioxidant compounds from Tunisian *Zizyphus lotus* fruits using response surface methodology. *Food Chemistry*, 184, pp80–89.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.047>
- **Hamza K. et Meziani A. (2015)** Étude de l'activité biologique de l'extrait aqueux des feuilles du *Zizyphus lotus* L. [Mémoire de Master, Université de Constantine].
- **Harborne J. B. (1998)** Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis (3e éd.). Chapman and Hall Ltd.
- **Harkati D. et Akkal S. (2011)** Les coumarines : structures, sources et activités biologiques. *Phytothérapie*, 9(5), pp300–309.
- **Hassanpour S., Maheri-Sis N., Eshratkhah B. et Mehmandar, F. (2011)** Plants and secondary metabolites (tannins): A review. *International Journal of Forest, Soil and Erosion*, 1(1), pp47–53.
- **Heller W., Britsch L., Forkmann G. et Grisebach H. (1985)** Leucoanthocyanidins as intermediates in anthocyanidin biosynthesis in flowers of *Matthiola incana* R. Br. *Planta*, 163(2), pp191–196.
- **Hennebelle T., Sahpaz S. et Bailleul F. (2004)** Polyphénols végétaux : sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 1, pp3-6.
- **Herman A. et Herman A. P. (2013)** Caffeine's mechanisms of action and its cosmetic use. *Skin Pharmacology and Physiology*, 26(1), pp8-14.
- **Hess M. (2002)** Alkaloids: Nature's Curse or Blessing (1st ed.). Wiley-VCH, New York, USA, 297.
- **Hoshyar R., Mohaghegh Z., Torabi N. et Abolghasemi A. (2015)** Antitumor activity of aqueous extract of *Zizyphus jujube* fruit in breast cancer: An in vitro and in vivo study. *Asian Pacific Journal of Reproduction*, 4(2), pp116–122.
- **Hostettmann K. et Marston A. (1995)** Chemistry and pharmacology of natural products Vol. 548, pp326–327. Cambridge University Press.

- **Houmènou V., Adjatin A., Assogba F. et Gbénou J. (2018)** Etude phytochimique et de cytotoxicité de quelques plantes utilisées dans le traitement de la stérilité féminine au Sud Bénin. *European Scientific Journal*, February Edition, 14(6), pp1857–7881.
- **Huang X., Kojima-Yuasa A., Norikura T., Kennedy D. O., Hasuma T. et Matsui-Yuasa, I. (2007)** Mechanism of the anti-cancer activity of *Zizyphus jujuba* in HepG2 cells. *The American Journal of Chinese Medicine*, 35(3), pp517–532.
- **Ishikawa K., Matsui S., Kobayashi H., Nakatani K. et Honda (1993)** Substrate recognition at the binding site in mammalian pancreatic alpha-amylases. *Biochemistry* (32): pp259-265.
- **Jaber A. (2017)** Matrices maldibithiophéniques spécifiques aux alcaloïdes : étude des mécanismes fondamentaux et applications (Thèse de doctorat en chimie analytique, Université d'Angers).
- **Jarald E. (2008)** Diabetes and herbal medicine. *Iranian Journal of Pharmacology and Therapeutics*, 7, pp97–106.
- **Jiménez-Moleón J. J., Bueno-Cavanillas A., Luna-del-Castillo J. D., García-Martín M., Lardelli-Claret P. et Gálvez-Vargas R. (2002)** Prevalence of gestational diabetes mellitus: Variations related to screening strategy used. *European Journal of Endocrinology*, 146(6), pp831–837. <https://doi.org/10.1530/eje.0.1460831>
- **Jürgen R., Paul S., Ulrike S. et Reinhard S. (2009)** Essential oils of aromatic plants with antibacterial, antifungal, antiviral, and cytotoxic properties: An overview. *Forschende Komplementärmedizin*, 16(2), pp79–90. <https://doi.org/10.1159/000210004>
- **Kaeidi A., Taati M., Hajializadeh Z., Jahandari F. et Rashidipour M. (2015)** Aqueous extract of *Zizyphus jujuba* fruit attenuates glucose-induced neurotoxicity in an in vitro model of diabetic neuropathy. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 18(3), pp301–306.
- **Kameda Y., Asano N., Yoshikawa M., Takeuchi M., Yamaguchi T. K., Matsui S. et Horii H. J. (1984)** A Highly Efficient and Shortcut Synthesis of Cyclitol Derivatives via Spiro Sugar Ortho Esters. *Journal of the American Chemical Society*, 81, pp188–193.
- **Kar A. (2007)** Terpenoids. In *Pharmacognosy and Pharmacobiotechnology*, pp 215-328. New Age International (P) Limited.
- **Karaali A., Boyacıoğlu D., Güneş G. et Özçelik B. (2004)** Flavonoids in fruit and vegetables: Their impact on food quality, nutrition, and health—STREP or CA. *European Commission's 6th Framework Programme for Research*, Istanbul Technical University, Turkey.

- **Karabín M., Hudcová T., Jelínek L. et Dostálek, P. (2015)** Biotransformations and biological activities of hop flavonoids. *Biotechnology Advances*, 33(6), pp1063–1090. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.02.009>
- **Karou D., Dicko M. H., Simporé, J., Yameogo S., Sanon S. et Traoré A. S. (2006).** Activités antioxydantes et antibactériennes des polyphénols extraits de plantes médicinales. Inhibitory and spasmolytic potential of steroidal alkaloids. *Journal of Steroid Biochemistry*, 11(6), pp 2924-2935.
- **Karumi Y, Oneyjili P. A. et Ogugbuaja V. O. (2004)** Identification of active principles of *Momordica balsamina* (balsam apple) leaf extract *Journal of Medical Sciences* 4, pp179–182
- **Kato C., Gonçalves G., Peralta R., Seixas F., Sa-Nakanishi A., Bracht, L., Comar J. et Bracht A. (2017)** Inhibition of α -amylases by condensed and hydrolysable tannins: Focus on kinetics and hypoglycemic actions. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 12.
- **Kavitha V. U. et Kandasubramanian B. (2020)** Tannins for wastewater treatment. *SN Applied Sciences*, 2, pp1–21. <https://doi.org/10.1007/s42452-020-2085-4>
- **Khalid A., Choudhary M. I., Haq Z., Ghayu M. N., Feroz F., Rahman A. et Gilani A. H. (2004)** Cholinesterase inhibitory and spasmolytic potential of steroidal alkaloids. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 92, pp477–484.
- **Khanbabae K., et Van Ree T. (2001)** Tannins: classification and definition. *Natural product reports*, 18(6), pp641-649.
- **Khoo H. E., Azlan A., Tan S. T. et Lim S. M. (2017)** Anthocyanidins and anthocyanins: Colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food & Nutrition Research*, 61(1), 1361779. <https://doi.org/10.1080/16546628.2017.1361779>
- **Khouchlaa A., Talbaoui A., El Yahyaoui El Idrissi A., Bouyahya S., Ait Lahsen S., Kahouadji A. et Tijan M. (2017)** Détermination des composés phénoliques et évaluation de l'activité litholytique in vitro sur la lithiase urinaire d'extrait de *Zizyphus lotus* d'origine marocaine. *Phytothérapie*, 16(1), pp14–19.
- **Koné D. (2009)** Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes – Extraction, identification d'alcaloïdes – Caractérisation, quantification de polyphénols : étude de leur activité antioxydante (Thèse de doctorat, Université de Bamako et Université Paul Verlaine - Metz, France).
- **Kromhout D. (2001)** Epidemiology of cardiovascular diseases in Europe. *Public Health Nutrition*, 4(2B), pp441–457.

- **Laamouri A., Ammari, Y., Albouchi A., Sghaier T., Mguis K. et Akrimi N. (2008)** Étude comparative de la croissance et du développement du système racinaire de trois espèces de jujubier en Tunisie. *Geo-Eco-Trop*, 32, pp37–46.
- **Labani Pr. (2021–2022)** Cours : Métabolisme secondaire. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Mentouri de Constantine.
- **Lacolley P., Babuty D., Boulanger C., Ghaleh B., Loirand G., Pinet F. et Samue J. L. (2007)** *Biologie et pathologie du cœur et des vaisseaux*. John Libbey Eurotext, Paris, pp 312-316- 317.
- **Lamarti A., Badoc A., Deffieux G. et Carde J. P. (1994)** Biogénèse des monoterpènes – II – La chaîne isoprénique. *Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux*, 133, pp79–99.
- **LARPENT-GOURGAUD M. et SANGLIER J. J., (1992)** Inhibitors of α -Amylase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*: pp1575-6000.
- **Lásztity R., Hidvégi M. et Bata Á. (1998)** Saponins in food. *Food Reviews International*, 14(4), pp371–390.
- **Lecleire S. (2008)** Digestion et absorption des nutriments. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 43(1), pp45–50.
- **Lehout R. et Laibe M. (2015)** Comparaison de trois méthodes d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir de la plante médicinale : *Artemisia herba alba* Asso. [Thèse de licence, Université des Frères Mentouri Constantine].
- **Leinmüller E., Steingass H. et Menke K. H. (1991)** Tannins in ruminant feedstuffs. In *Biannual Collection of Recent German Contributions Concerning Development through Animal Research* (Vol. 33, pp. 9–62). London.
- **Lenoir L. (2011)** Effet protecteur des polyphénols de la verveine odorante dans un modèle d'inflammation colique chez le rat (Thèse de doctorat. Université d'Auvergne, France).
- **Letaief T., Garzoli S., Masci V. L., Tiezzi A. et Ovidi E. (2021).** Chemical composition and biological activities of Tunisian *Zizyphus lotus* extracts: Evaluation of drying effect, solvent extraction, and extracted plant parts. *Plants*, 10, pp2651. <https://doi.org/10.3390/plants10122651>
- **Li H. B., Wong C. C., Cheng K. W. et Chen F. (2008)** Antioxidant properties in vitro and total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants *LWT - Food Science and Technology* 41(3), pp385–390 <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.03.011>

- **Li J., Percival D., Hoyle J., Yue J., White J., Head K. et Pruski K. (2015)** Environmental effects on fruit composition of cloudberry/bakeapple (*Rubus chamaemorus* L.) grown in southern Labrador, Canada. *Canadian Journal of Plant Science*, 95, pp1167–1175.
- **Lindau-Sehpar B. et Shaffer J. (1993)** Expression of human catalase in acatalasemic murine SVB2 cells confers protection from oxidative damage. *Free Radical Biology and Medicine*, 8, pp15–581.
- **Liu J. et al. (2009)** The mechanochemistry of endocytosis. *PLoS Biology*, 7(9), e1000204. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000204>
- **Liu L., Sun Y., Laura T., Liang X., Ye H. et Zeng X. (2009).** Determination of polyphenolic content and antioxidant activity of Kudingcha made from *Ilex kudingcha* C.J. Tseng. *Food Chemistry*, 112, pp35–40.
- **Liu R. H. (2004)** Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: Mechanism of action. *The Journal of Nutrition*, 134(12), pp3479–3485.
- **Lobo V., Patil A., Phatak A. et Chandra N. (2010)** Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy reviews*, 4(8), pp118.
- **Loucif M., et Hamida F. (2019)** *Étude phytochimique de Zizyphus lotus des régions Ain Smara et Tamalous* [Mémoire de master, Université des Frères Mentouri Constantine].
- **Maarel M.J.E.C., Veen B., Uitdehaag JCM., Leemhuis H, et Dijkhuizen L. (2002).** Properties and applications of starch-converting enzymes of the alpha-amylase family. *J Biotechnol*, 94 (2) : pp137-55.
- **Macheix J. J., Fleuriet A., et Jay-Allemand C. (2005)** Les composés phénoliques des végétaux : Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR Presses polytechniques.
- **Maciuk A., Lavaud C., Tepenier P., Jacquier M.-J., Ghedira K. et Z'eches-Hanrot M. (2004)** Four New Dammarane Saponins From *Zizyphus lotus*, *Journal of Natural Products* 67, pp1643, <https://doi.org/10.1021/np0499362>.
- **Mahajan R.T. et Chopda M.Z. (2009)** Phyto-pharmacology of *Zizyphus jujuba* Mill- A plant review. *Pharmacognosy Review*.
- **Maire R. (1933)** Études sur la flore et la végétation du Sahara central (Mission du Hoggar II, n°3). Société d'histoire naturelle de l'Afrique du Nord.
- **Malviy N., Jain, S. et Malviya S. (2010)** Antidiabetic potential of medicinal plants. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 67(2), pp113–118.

- **Manach C., Scalbert A., Morand C. et Jimenez L. (2004)** Polyphenols: Food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79, pp727–747.
- **Manallah A. (2012)** *Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive (Olea europaea L.)* (Mémoire de magister en biologie, spécialité : biochimie appliquée, Université Ferhat Abbas, Sétif), pp. 22–24
- **Manayi A., Nabavi S. M., Setze W. N. et Jafari S. (2020).** Piperine as a potential anti-cancer agent: A review on preclinical studies. *Current Medicinal Chemistry*.
- **Mancheix J. J., Fleuriet A. et Sarni-Manchado P. (2005)** Composés phénoliques dans la structure, biosynthèse, répartition et rôles. Les polyphénols en agroalimentaire. Lavoisier, Paris.
- **Mann J., Davidson R. S., Hobbs J. B., Banthorpe D. V. et Harborne J. B. (1994)** *Natural products* (Ch. 7, pp. 389). Longman.
- **Marfak A. (2003)** Radiolyse gamma des flavonoïdes. Étude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools : formation de dépsides (Thèse de doctorat, Université de Limoges).
- **Marmouzi I., Kharbach M., El Jemli M., Bouyahya A., Cherrah, Y., Bouklouze, A. et Faouzi M. E. A. (2019).** Antidiabetic, dermatoprotective, antioxidant and chemical functionalities in *Zizyphus lotus* leaves and fruits. *Industrial Crops and Products*, 132, pp134–139. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.02.007>
- **Masella R., Di Benedetto R., Vari R., Filesi C. et Giovannini C. (2005)** Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: Involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 16(10), pp577–586.
- **Matés J. M., Perez-Gomez C. et Castro N. I. (1999)** Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical Biochemistry*, 32, pp595–603.
- **McCall M. R. et Frei B. (1999)** Can antioxidant vitamins materially reduce oxidative damage in humans? *Free Radical Biology and Medicine*, 26, pp1034–1053.
- **Meddour R., Mellal H., Meddour-Sahar O. et Derridj A. (2010)** La flore médicinale et ses usages actuels en Kabylie (wilaya de Tizi Ouzou, Algérie) : quelques résultats d'une étude ethnobotanique. *Revue des Régions Arides*.
- **Mercier C. (1985)** Les enzymes amylolytiques, hydrolases et dépolymérase. In *Enzymes et transformations des glucides* (pp. 110–140). Masson.
- **Merouane A., Noui A., Ali K. N. B. et Saadi A. (2014)** Activité antioxydante des composés phénoliques d'huile d'olive extraite par méthode traditionnelle. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 8(4), pp1865–1870.

- **Miguel M. G. (2010)** Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: A short review *Molecules* 15(12) pp9252–9287 <https://doi.org/10.3390/molecules15129252>
- **Milane H. (2004)** La quercétine et ses dérivés : Molécules à caractère peroxydant ou thérapeutiques (Thèse de doctorat, Université Louis Pasteur Strasbourg I, pp155).
- **Miller N. J., Sampson J., Candeias LP., Bramley P. M. et Rice-Evans C. A. (1996)** Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls *FEBS Letters* 384(3), pp240–242
- **Molyneux P. (2004)** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity *Songklanakarin Journal of Science and Technology* 26(2), pp211–219
- **Muanda F. N. (2010)** Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques (Thèse de doctorat, Université Paul Verlaine-Metz, 238 pp.).
- **Munier P. (1973)** Le jujubier et sa culture. *Fruits*, 28(5), pp377–388.
- **Muralikrishna G et Nirmala M. (2005)** Cereal -amylases – an overview. *Carbohydrate Polymers* 60, pp163-173.
- **Nadeem M., Ur-Rehman S., et Anjum FM. (2011)** Textural profile analysis and phenolic content of some date palm varieties. *Journal of agricultural Research*, 49 : pp 525-539
- **Nawaz H., Shad, M. A., Rehman N., Andaleeb H. et Ullah N. (2020).** Effect of solvent polarity on extraction yield and antioxidant properties of phytochemicals from bean (*Phaseolus vulgaris*) seeds. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 56, e17129. <https://doi.org/10.1590/s2175-97902019000417129>
- **Naylor C. D., Sermer M., Chen E. et Farine D. (1997)** Selective screening for gestational diabetes mellitus. *The New England Journal of Medicine*, 337(22), pp1591–1596. <https://doi.org/10.1056/NEJM199711273372204>
- **Nemlin J. et Brunel J. E. (1995)** Fascicule de travaux pratiques de matière médicale (3e année) Université Nationale de Côte-d'Ivoire, Faculté de Pharmacie, Département de Pharmacognosie
- **Niamat R., Khan, M., Khan, K. Y., Ahmad, M. et Zafar, M. (2012)** A review on *Zizyphus* as antidiabetic. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2(3), pp177–179.
- **Niki L., Reynaert S. W., Aesif T. M., Amy B., Emiel F. M., Wouters C. G., Irvin Y. M. W. et Janssen-Heininger (2007)** Catalase overexpression fails to attenuate allergic airways disease in the mouse. *The Journal of Immunology*, 178, pp3814–3821.

- **Ninkuu V., Zhang L., Yan J., Fu Z., Yang T. et Zeng H. (2021)** Biochemistry of terpenes and recent advances in plant protection. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(11), pp5710. <https://doi.org/10.3390/ijms22115710>
- **Nowitz T. et Bottet J. (2000)** Encyclopédie des plantes médicinales : Identification, préparation, soins. Larousse
- **Oboh G., Olabiyi A. A., Akinyemi A. J. et Ademiluyi, A. O. (2014)** Inhibition of key enzymes linked to type 2 diabetes and sodium nitroprusside-induced lipid peroxidation in rat pancreas by water-extractable phytochemicals from unripe pawpaw fruit (*Carica papaya*). *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 25(1), pp21–34.
- **Oleszek W., et Stochmal A. (2002)** Triterpene saponins and flavonoids in the seeds of *Trifolium* species. *Phytochemistry*, 61(2), pp165–170.
- **Oyaizu M. (1986)** Studies on products of browning reaction: Antioxidative activities of products prepared from glucosamine *Japanese Journal of Nutrition and Dietetics* 44(6), pp307–315
- **Ozenda P. (1991)** Flore et végétation du Sahara (3e éd.). CNRS.
- **Ozenda P. (1991)** La végétation du Sahara. CNRS éditions.
- **Paquereau J. (2013)** Au jardin des plantes de la Bible : Botanique, symboles et usages. Forêt privée française.
- **Passi I. L. B. (2002)** *Étude des activités biologiques de Fagara zanthoxyloides Lam. (Rutaceae)* (Thèse de pharmacie, Université de Bamako), pp133.
- **Payan F. (2004)** Structural basis for the inhibition of mammalian and insect alpha-amylases by plant protein inhibitors. *Biochim Biophys Acta* 1696, pp171-180.
- **Pellegrini N., Serafini M., Colombi B., Del Rio D., Salvatore S., Bianchi M. et Brighenti F. (2003)** Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *The Journal of Nutrition*, 133(9), pp2812–2819. <https://doi.org/10.1093/jn/133.9.2812>
- **Piquemal G. (2008)** Les flavonoïdes. Détour Santé. http://www.detoursante.com/index.php?Option=com_content&view=article&id=166&Itemid=215
- **Pulido R., Bravo L. et Saura-Calixto F. (2000)** Antioxidant Activity of Dietary Polyphenols As Determined by a Modified Ferric Reducing/Antioxidant Power Assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48, pp3396-3402.

- **Quezel P. et Médail F. (2003)** Écologie et biogéographie des forêts du bassin méditerranéen. Elsevier.
- **Quézel P. et Santa S. (1963)** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. CNRS.
- **Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M. et Rice-Evans C. (1999)** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay *Free Radical Biology and Medicine* 26(9–10), pp1231–1237 [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- **Regehr D. L. et El Brahli A. (1995)** Wild Jujube (*Zizyphus lotus*) control in Morocco. *Weed Technology*, 9(2), pp326–330. <https://doi.org/10.1017/S0890037X00023423>
- **Reich L. (1991)** Uncommon fruits worthy of attention. Addison-Wesley.
- **Rekha S. et Chandrashekhara S. (2014)** Anti-fertility effect of *Zizyphus jujuba* Mill. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3(3), pp1363–1370.
- **Renault J.-H., Ghedira K., Tepenier P., Lavaud C., Zeches-Hanrot M. et Le Men-Olivier L. (1997)** Dammarane Sa-ponins From *Zizyphus lotus*, *Phytochemistry* 44, no. 7, pp1321–1327, [https://doi.org/10.1016/s0031-9422\(96\)00721-2](https://doi.org/10.1016/s0031-9422(96)00721-2).
- **Richard J. L. et Thurston J. R. (1986)** Diagnosis of mycotoxicoses Springer Netherlands <https://doi.org/10.1007/978-94-009-4235-6>
- **Rizk A. M. (1982)** Constituents of plants growing in Qatar *Fitoterapia* 53, pp35–42
- **Rodney C., Kutchan T. M. et Lewis N. G. (2000)** Natural products (secondary metabolites). In B. Buchanan, W. Gruissem, & R. Jones (Eds.), *Biochemistry & molecular biology of plants* (pp. 1268–1277). American Society of Plant Physiologists.
- **Roumeissa L. et Maya L. (2015)** Comparaison de trois méthodes d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir de la plante médicinale *Artemisia herba-alba* Asso *Mémoire de master, Université Frères Mentouri Constantine*
- **Rsaissi N., El Kamili, M., Bencharki B., Hillali L. et Bouhache M. (2013)** Antimicrobial activity of fruits extracts of the wild jujube *Zizyphus lotus* (L.) Desf. *International Journal of Scientific Engineering Research*, 4, pp 1521–1528.
- **Saadoudi M. (2008)** Étude de la fraction glucidique des fruits (Thèse de doctorat, Université El Hadj Lakhdar de Batna, Faculté des sciences).
- **Sarr S. O., Fall A. D., Gueye R., Diop A., Diatta K., Diop N., NDiaye B. et Diop Y. M. (2015)** Etude de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de *Vitex doniana*

- (Verbenaceae). *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 9(3): pp1263-1269. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v9i3.11>
- **Schamburg D. et Salzmann M. G. B. F. (1991)** Alpha-amylase. In D. Schamburg (Ed.), *Enzyme Handbook* (Vol. 4, pp. 1–3). Springer-Verlag.
 - **Siddhuraju P. et Becker K. (2007)**. The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) seed extracts. *Food Chemistry*, 101(1), pp10–19.
 - **Singleton V. L. et Rossi J. A. (1965)** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents *American Journal of Enology and Viticulture* 16, pp144–158
 - **Sirivibulkovit K., Nouanthavong S. et Sameenoi Y. (2018)** Based DPPH assay for antioxidant activity analysis *Analytical Sciences* 34(7), pp795–800.
 - **Sofowora A., Ogunbodede, E. et Onayade A. (2013)**. The role and place of medicinal plants in the strategies for disease prevention. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 10(5), pp 210–229.
 - **Sollu M., Banji D., Otilia J. F., Vijayalaxmi C., Srilat S. et Kumbala K. (2010)** Appraisal on causes and treatment of diabetes mellitus. *Archives of Applied Science Research*, 2, pp239–260.
 - **Steffen G., Fleischhauer, G. et Sussmuth A. (2021)** Plantes sauvages médicinales : Les 50 plantes essentielles et leurs usages (Éd. 047_2). Les Éditions Ulmer.
 - **Stocker R. et Keaney J. F. (2004)** Role of oxidative modifications in atherosclerosis. *Physiological Reviews*, 84(4), pp1381–1478.
 - **Strack D., Wra V., Metzger J. W. et Grosse W. (1992)** Two anthocyanins acylated with gallic acid. *Phytochemistry*, 31(12), pp4207–4212.
 - **Strange R. W., Antonyuk S., Hough M. A., Doucette P. A., Rodriguez J. A., Hart P. J., Hayward L. J., Valentine J. S. et Hasnain, S. S. (2003)** The structure of holo and metal-deficient wild-type human Cu, Zn superoxide dismutase and its relevance to familial amyotrophic lateral sclerosis. *Journal of Molecular Biology*, 328(4). <https://doi.org/10.2210/pdb1hl4/pdb>
 - **Su P. e LiuScientia X. (2005)** Photosynthetic characteristics of linze jujube in conditions of high temperature and irradiation. *Horticulturae*, 104: pp339–350.
 - **Sudhir R. et Mohan V. (2002)** Postprandial hyperglycemia in patients with type 2 diabetes mellitus. *Treat Endocrinology*, 1(2), pp105–116.
 - **Szent-Gyorgyi A. (1938)** Methoden zur Herstellung von citrin. *Chemische Berichte*, 255, pp126–131.

- **Szydłowska-Czerniak A., Dianoczki C., Recseg K., Karlovits G. et Szlyk E. (2008)** Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods *Talanta* 76(4), pp899–905 <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2008.04.046>
- **Taiz L. et Zeiger E. (2010)** *Plant Physiology* (5th ed.). Sunderland, MA: Sinauer Associates.
- **Tanaya J. H. (1997)** Effect of natural or synthetic phytosterol administration on cholesterol metabolism in normolipidemic humans [Thèse, National Library of Canada].
- **Tanyildizi M.S., Ozer D. et Elibol M. (2005)** Optimization of α -amylase production by *Bacillus* sp. using response surface methodology *Process Biochem* 40, pp2291–2296.
- **Tardío J., Sánchez-Mata M. C., Morales R., Molina M. et al. (2016)** Chapter 13: Ethnobotanical and food composition monographs of selected Mediterranean wild edible plants. In Springer Science + Business Media. pp 273–470.
- **Tavares J. C. (2012)** Activité anti-oxydante et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazonien *Oenocarpus bataua* (patawa) (Thèse de doctorat, Université des Antilles et de la Guyane).
- **Telli A., Mahboub N., Boudjeneh S., Siboukeur O. E. K et Moulti-mati F. (2010)** Optimisation des conditions d'extraction des polyphénols de Dattés lyophilisés (*Phoenixdactylifera*L) variétésghars. *Annales des Sciences et technologie*. 2, pp107-114.
- **Tirzitis G. et Bartosz G. (2010)** Determination of antiradical and antioxidant activity: Basic principles and new insights. *Acta Biochimica Polonica*, 57(2), pp139–142.
- **Tohma H., Gülçin İ., Bursal E., Gören A. C., Alwasel S. H. et Köksal E. (2017)** Antioxidant activity and phenolic compounds of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) determined by HPLC-MS/MS. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11, pp556–566.
- **Tomeguelt O. et Amzal H. (2016)** Optimisation d'extraction assistée aux ultrasons de composés phénoliques et activité antioxydante des différentes parties de *Zizyphus jujuba*.
- **Topçu G., Ay M., Bilici A., Sarikürkcü C., Öztürk M. et Ulubelen A. (2007)** A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus* *Food Chemistry* 103(3), pp816–822
- **Valko M., Izakovic M., Mazur M., Rhodes C. J. et Telser J. (2004)** Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 266(1–2), pp37–56.
- **Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M. T., Mazur M. et Telser J. (2007)** Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 39(1), pp 44–84.

- **Valko M., Rhode C. J. B., Moncol J., Izakovic M. M. et Mazur M. (2006)** Free radicals, metals, and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160(1), pp1–40.
- **Vannette. (2018)** Note de terrain botanique par l'image. Notes de terrain. <https://notesdeterrain.over-blog.com/2018/08/jujubier-sauvage.html>
- **Vanparis O. (2018)** Étude des conséquences de la déplétion en soufre sur le statut redox du glutathion chez la levure pathogène *Candida albicans* (Thèse de doctorat, Université PSL, Institut Jacques Monod UMR 7592).
- **Vansant G. (2004)** Radicaux libres et antioxydants : Principes de base. In *Symposium « Antioxydants et alimentation »*. Institut Danone.
- **Vermerris W. et Nicholson R. (2007)** Phenolic compound biochemistry. *Springer Science & Business Media*.
- **Vertiani C., Maeder D.-I., Yip K-S., Stilman T-J., Britten K-L., Rice D.-H., Klump H. et Robb F.-T. (1998)** Protein thermostability above 100 °C a key role for ionic interaction. *Proc. Nat. Sci.* (95): pp12300-12305.
- **Villaño D., Fernández-Pachón M. S., Moyá M. L., Troncoso A. M. et García-Parrilla M. C. (2007)** Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical *Talanta* 71(1), pp230–235 <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2006.04.025>
- **Wagner H. et Bladt S. (1996)** Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas (2nd ed.). Berlin: Springer-Verlag.
- **Waston L. et Dallwitz M. J. (1992)** The families of flowering plants. Heart Disease Risk Factor Study. *Am. J. Clin. Nutr.*, 77: pp8-133.
- **Whelan W. J. (1964)** Hydrolysis with alpha-amylase (Section V: Starch degradation). In R. L. Whistler (Ed.), *Methods in Carbohydrate Chemistry* (Vol. 4, pp. 196–199). Academic Press.
- **Whitcomb D. C. et Lowe M. E. (2007)** Human pancreatic digestive enzymes. *Dig. Dis. Sci.* 52, pp1-17.
- **Wink M. (2010)** Functions and Biotechnology of Plant Secondary Metabolites (2nd ed.). Wiley-Blackwell.
- **World Health Organization (WHO) (2013)** WHO traditional medicine strategy, pp2014–2023.
- **Wuyts N. (2006)** Interaction entre les nématodes parasites des plantes et les métabolites 4020-5163-8 (HB) **A. (2010)**. Détermination Of Polyphenolic Compounds By Liquid Chromatography– agriculture et dans l'industrie, 39p. Disponible sur

- <http://www.moringanews.org> CentaureaParviflora Desf, mémoire de magister en chimie organique, université MentouriConstantine. pp 16-20 . 4^{ème} Ed, Paris. France. 1288 P.Doc. Paris. France. 1288 p.
- **Wuyts N. (2006)** Interaction entre les nématodes parasites des plantes et les métabolites. *Agriculture et Industrie*, 39pp. Disponible sur <http://www.moringanews.org>
 - **Xiao F., Xu T., Lu B. et Liu R. (2020)** Guidelines for antioxidant assays for food components *Food Frontiers* 1(1), pp60–69 <https://doi.org/10.1002/fft2.10>
 - **Yan J. K., Wu L. X., Qiao Z. R. Cai W. D. et Ma H. (2019)** Effect of different drying methods on the product quality and bioactive polysaccharides of bitter melon (*Momordica charantia* L.) slices, *Food Chem.* 271, 588–596.
 - **Zazouli S., Chigr M., Ramos P., Rose D., Castro M., Jouaiti A., Duarte M., Santos S. et Silvestre A. (2022)** Chemical profile of lipophilic fractions of different parts of *Zizyphus lotus* L. by GC-MS and evaluation of their antiproliferative and antibacterial activities. *Molecules*, 27(2), pp483. <https://doi.org/10.3390/molecules27020483>
 - **Zengin G., Sarikurkcu C., Aktumsek A., Ceylan R. et Ceylan O. (2014)** A comprehensive study on phytochemical characterization of *Haplophyllum myrtifolium* Boiss. endemic to Turkey and its inhibitory potential against key enzymes involved in Alzheimer's, skin diseases and type II diabetes *Industrial Crops and Products* 53, pp244–251
 - **Zhao Z., Liu, M. et Tu P. (2008)** Characterization of water-soluble polysaccharides from organs of Chinese jujube (*Zizyphus jujuba* Mill. cv. Dongzao). *European Food Research and Technology*, 226(5), pp985–989.

Résumé

Le présent travail a porté sur l'étude phytochimique ainsi que l'évaluation des activités antioxydante et antidiabétique des extraits des feuilles de *Zizyphus lotus*, une plante de la famille des Rhamnaceae, largement utilisée dans la médecine traditionnelle algérienne. Différents extraits ont été préparés à partir des feuilles de *Z. lotus*, en utilisant des solvants de polarités croissantes (éther diéthylique, acétate d'éthyle, n-butanolique et brut).

L'analyse phytochimique qualitative a révélé la présence de plusieurs groupes de métabolites, notamment les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins, les saponosides, les alcaloïdes, les stéroïdes et les leucoanthocyanes. L'analyse quantitative a montré que l'extrait n-butanolique possède les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux ($288,11 \mu\text{g EAG/mg}$) et en flavonoïdes ($84,02 \pm 3,93 \mu\text{g EQ/mg}$).

L'activité antioxydante a été évaluée à travers quatre tests : DPPH, ABTS, FRAP et phénanthroline. L'extrait n-butanolique a présenté une activité antiradicalaire remarquable, notamment avec des IC_{50} faibles dans les tests DPPH ($28,33 \pm 0,81 \mu\text{g/ml}$) et ABTS ($9,79 \pm 0,75 \mu\text{g/ml}$) et des $\text{A}_{0,5}$ de $38,42 \pm 8,27 \mu\text{g/ml}$ et $5,59 \pm 0,38 \mu\text{g/ml}$, respectivement pour les tests FRAP et phénanthroline.

L'activité antidiabétique a été évaluée in vitro, par l'inhibition de l' α -amylase. L'extrait acétate d'éthyle a montré la meilleure inhibition enzymatique ($\text{IC}_{50} = 74,24 \pm 4,35 \mu\text{g/ml}$), tandis que l'extrait n-butanolique a entraîné une activité remarquable en diminuant la glycémie des rats testés in vivo.

Ces résultats confirment le potentiel thérapeutique des feuilles de *Zizyphus lotus* et justifient leur usage traditionnel dans le traitement du diabète et du stress oxydatif.

Mots clés : *Zizyphus lotus*, métabolites secondaires, activité antioxydante, inhibition de l' α -amylase, activité antidiabétique in vivo,

Abstract

The present work focused on the phytochemical study and the evaluation of the antioxidant and antidiabetic activities of extracts from the leaves of *Zizyphus lotus*, a plant from the Rhamnaceae family widely used in traditional Algerian medicine. Various extracts were prepared from *Z. lotus* leaves using solvents of increasing polarity (diethyl ether, ethyl acetate, n-butanol, and crude extract).

Qualitative phytochemical analysis revealed the presence of several groups of metabolites, including polyphenols, flavonoids, tannins, saponins, alkaloids, steroids, and leucoanthocyanins. Quantitative analysis showed that the n-butanol extract had the highest contents of total polyphenols ($288.11 \mu\text{g GAE/mg}$) and flavonoids ($84.02 \pm 3.93 \mu\text{g QE/mg}$).

Antioxidant activity was evaluated using four tests: DPPH, ABTS, FRAP, and o-phenanthroline. The n-butanol extract demonstrated remarkable radical scavenging activity, notably with low IC_{50} values in the DPPH ($28.33 \pm 0.81 \mu\text{g/ml}$) and ABTS ($9.79 \pm 0.75 \mu\text{g/ml}$) tests, and $\text{A}_{0.5}$ values of $38.42 \pm 8.27 \mu\text{g/ml}$ and $5.59 \pm 0.38 \mu\text{g/ml}$ for the FRAP and o-phenanthroline tests, respectively.

Antidiabetic activity was assessed in vitro through α -amylase inhibition. The ethyl acetate extract exhibited the best enzymatic inhibition ($\text{IC}_{50} = 74.24 \pm 4.35 \mu\text{g/ml}$), while the n-butanol extract showed remarkable activity by reducing blood glucose levels in tested rats in vivo.

These results confirm the therapeutic potential of *Zizyphus lotus* leaves and justify their traditional use in the treatment of diabetes and oxidative stress.

Keywords: *Zizyphus lotus*, secondary metabolites, antioxidant activity, α -amylase inhibition, in vivo antidiabetic activity

الملخص

تناول هذا العمل دراسة فيتوكيميائية وتقييماً للنشاطين المضادين للأكسدة والمضاد لمرض السكري لمستخلصات أوراق نبات *Zizyphus lotus*، وهو نبات ينتمي إلى فصيلة Rhamnaceae ويستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي الجزائري. تم تحضير مستخلصات مختلفة من أوراق *Z. lotus* باستخدام مذيبات ذات قطبية متزايدة (إيثر بترولي، خلات الإيثيل، بيوتانول عادي والمستخلص الخام).

كشفت التحاليل الفيتوكيميائية النوعية عن وجود عدة مجموعات من المستقلبات، لا سيما البوليفينولات، الفلافونويدات، التانينات، الصابونينات، القلويدات، الستيرويدات والليوكوانثوسيانين. أما التحاليل الكمية فقد أظهرت أن مستخلص البيوتانول العادي يحتوي على أعلى نسب من البوليفينولات الكلية (288.11 ميكروغرام مكافئ حمض الغاليك/ملغ) والفلافونويدات (84.02 ± 3.93 ميكروغرام مكافئ كيرسيتين/ملغ).

تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة من خلال أربع اختبارات: DPPH، ABTS، FRAP، والفينانثرولين. وقد أظهر مستخلص البيوتانول العادي نشاطاً قوياً في مقاومة الجذور الحرة، خاصة بقيم IC_{50} منخفضة في اختباري DPPH (28.33 ± 0.81 ميكروغرام/مل) و ABTS (9.79 ± 0.75 ميكروغرام/مل)، وقيم $A_{0.5}$ بلغت 38.42 ± 8.27 ميكروغرام/مل و 5.59 ± 0.38 ميكروغرام/مل على التوالي في اختباري FRAP والفينانثرولين.

تم تقييم النشاط المضاد لمرض السكري في المختبر من خلال تثبيط إنزيم ألفا-أميلاز، حيث أظهر مستخلص خلات الإيثيل أفضل قدرة تثبيطية ($IC_{50} = 74.24 \pm 4.35$ ميكروغرام/مل)، بينما أظهر مستخلص البيوتانول العادي فعالية ملحوظة في خفض نسبة السكر في دم الفئران المختبرة في الجسم الحي.

تؤكد هذه النتائج على الإمكانيات العلاجية لأوراق *Zizyphus lotus* وتبرر استخدامها التقليدي في علاج داء السكري والإجهاد التأكسدي.

الكلمات المفتاحية: *Zizyphus lotus*، المستقلبات الثانوية، النشاط المضاد للأكسدة، تثبيط ألفا-أميلاز، النشاط المضاد لمرض السكري في الجسم الحي.

Année universitaire :2024-2025	Présenté par : RAHALI Aya MECHERI Ilhem
Étude phytochimique et évaluation des activités biologiques des extraits de feuilles de <i>Zizyphus lotus</i>	
Mémoire pour l'obtention du diplôme de mastère en Biochimie Appliquée	
<p>Le présent travail a porté sur l'étude phytochimique ainsi que l'évaluation des activités antioxydante et antidiabétique des extraits des feuilles de <i>Zizyphus lotus</i>, une plante de la famille des Rhamnaceae, largement utilisée dans la médecine traditionnelle algérienne. Différents extraits ont été préparés à partir des feuilles de <i>Z. lotus</i>, en utilisant des solvants de polarités croissantes (éther diéthylique, acétate d'éthyle, n-butanolique et brut).</p> <p>L'analyse phytochimique qualitative a révélé la présence de plusieurs groupes de métabolites, notamment les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins, les saponosides, les alcaloïdes, les stéroïdes et les leucoanthocyanes. L'analyse quantitative a montré que l'extrait n-butanolique possède les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux (288,11 µg EAG/mg) et en flavonoïdes (84,02 ± 3,93 µg EQ/mg).</p> <p>L'activité antioxydante a été évaluée à travers quatre tests : DPPH, ABTS, FRAP et phénanthroline. L'extrait n-butanolique a présenté une activité antiradicalaire remarquable, notamment avec des IC₅₀ faibles dans les tests DPPH (28,33 ± 0,81 µg/ml) et ABTS (9,79 ± 0,75 µg/ml) et des A_{0,5} de 38,42 ± 8,27 µg/ml et 5,59 ± 0,38 µg/ml, respectivement pour les tests FRAP et phénanthroline.</p> <p>L'activité antidiabétique a été évaluée in vitro, par l'inhibition de l'α-amylase. L'extrait acétate d'éthyle a montré la meilleure inhibition enzymatique (IC₅₀ = 74,24 ± 4,35 µg/ml), tandis que l'extrait n-butanolique a entraîné une activité remarquable en diminuant la glycémie des rats testés in vivo.</p> <p>Ces résultats confirment le potentiel thérapeutique des feuilles de <i>Zizyphus lotus</i> et justifient leur usage traditionnel dans le traitement du diabète et du stress oxydatif.</p>	
Mots clés : <i>Zizyphus lotus</i> , métabolites secondaires, activité antioxydante, inhibition de l'α-amylase, activité antidiabétique in vivo.	
Laboratoire de recherche : Laboratoire de Biochimie Appliquée (U Constantine 1 Frères Mentouri) Centre de Recherche en Biotechnologie « CRBt » Laboratoire d'animalerie (U Constantine 1 Frères Mentouri)	
Présidente du jury : Dr. OUELBANI R. (MCB- UConstantine 1 Frères Mentouri)	
Encadrante : Dr. AYECHÉ A. (MCB- UConstantine 1 Frères Mentouri)	
Examinatrice : Dr. BENSARI S. (MCB- UConstantine 1 Frères Mentouri)	

