

الجمهورية



RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET
POPULAIRE



MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine

طينة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

د

Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Moléculaire et Santé

Intitulé :

**L'étude de l'activité biologique in vitro et in vivo des
extraits polaires des feuilles du *Zizyphus lotus* L**

Présenté et soutenu par :

Le : 01 /06/2016

CHARIFI Hasna.

DARDAR Amira.

Jury d'évaluation :

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

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

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

Année universitaire 2015 – 2016

REMERCIEMENT

C'est avec un réel plaisir que je réserve ces lignes en signe de gratitude et de profonde reconnaissance à tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation et à l'aboutissement de ce travail.

*Avant tout, je remercie **DIEU**, le tout puissant, pour m'avoir donnée la force et la patience.*

*Je tiens particulièrement à remercier mon encadreur Melle **DJEMAI ZOUGHELACHE SOUMLA** maitre assistante A à UFM Constantine. Pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'il m'accordé m'ont permet de réaliser ce travail*

J'exprime mon estime et mes remerciements aux honorables membres de jury :

*Je remercie vivement Melle **BAHI AHLEM**, pour sa grande disponibilité et d'avoir aimablement accepté de présider ce jury, qu'elle nous soit permis de lui témoigner nons sincère et profond respect.*

*Je remercie le Pr **NECIB**, pour l'honneur qu'elle me fait de participer au jury de ce mémoire.*

*Un remerciement particulier à Mme **LAILA**, pour leur aide qu'elles n'hésitèrent jamais à me proposer dans les moments difficiles. Je la remercie pour sa bienveillance et ces conseils. Je remercie toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

Un grand merci à tous.

*Merci à tous le membre du département de biochimie et biologie moléculaire et cellulaire pour leur aide dans la réalisation de cette étude en particulier **MR BRAHIM***

Merci

JE DEDIE CE
MODESTE TRAVAIL



A :

AVANT TOUT CHOSE, JE DEDIE **LE DIEU**, LE TOUT PUISSANT,
POUR M'AVOIRE D'ONNÉ LA FORCE ET LA PATIENCE.

Mon père : **HOUCINE**

LA LUMIERE de ma vie et, merci pour toute que vous avez fait pour moi.

Maman : **AICHA**

Pour m'avoir donnée la vie et la joie de vivre.

Mes frères : **HOUDA et ISHAQ**

Je vous souhaite tout la réussite (BAC 2016).

Mon encadreur : **DJAMAI ZOUGHLACHE SOUMIA**

pour leur conseille, leur presence, Et leur patience.

Mes amis : **HANA, Hasna, Nesrine, Nedjla, Choubaila,**
Housseina.

Toutes mes familles : **DARDAR et LAMDA.**

A TOUT CE QUE J'AIME.

AMIRA

DARDAR



Résumé

Les extraits naturels des plantes contiennent une variété de composés phénoliques ; auxquels sont attribuées diverses activités biologiques. Dans la présente étude on a tenté d'évaluer l'activité antioxydante in vitro de l'extrait méthanolique et l'extrait aqueux préparés à partir des feuilles du *Zizyphus lotus* et d'étudier in vivo l'effet anti stress de l'extrait méthanoliques contre les effets nocifs du plomb.

L'analyse qualitative des ces extraits par les testes préliminaires et la CCM a révélé la présence des composés phénoliques, des tanins, des flavonoïdes ; ce ci est confirmé par une analyse quantitative basée sur le dosage, des composés phénoliques, des flavonoïdes et des tanins dont les valeurs sont : pour l'extrait méthanolique : les composés phénoliques(381.6 ± 13.11 ug EAG / mg d'extrait) , les flavonoïdes (34.91 ± 3.250 ug EQ / mg d'extrait) et les tanins (19.67 ± 1.155 ug ECT / mg d'extrait), et pour l'extrait aqueux : les composés phénoliques(63.91 ± 7.123 ug EAG / mg d'extrait) , les flavonoïdes (28.48 ± 1.29 ug EQ / mg d'extrait) et les tanins (0.34 ± 0.173 ug ECT / mg d'extrait).

L'étude de l'activité antioxydante par la méthode du Phosphomolybdène a révélé une grande activité antioxydante de l'extrait méthanolique par comparaison avec l'extrait aqueux

Cette activité est confirmée par une étude in vivo qui montre l'effet protecteur de l'extrait méthanolique de *Zizyphus lotus* et sa capacité de moduler les effets toxiques causés par le plomb qui est exprimés par les taux de glutathion et malondialdéhyde.

Mots clés : *Zizyphus lotus*, activité antioxydante, phosphomolybdene, glutathion, malondialdéhyde, composés Phénoliques, flavonoïdes, tannins.

Abstract

Natural extracts of plant contain a variety of phenolics compounds which are attributed various biological activities. In this study we attempted to evaluate *in vitro* antioxidant activity of the methanolic extract and water extract prepared from the leaves of the *Zizyphus lotus* and to study *in vivo* the anti stress effect of the methanolic extract against the harmful effects of lead.

Qualitative analysis of these extracts by preliminary tested and TLC revealed the presence of phenolics compounds, tannins, flavonoids; this is confirmed by a quantitative analysis based on the dosage, phenolic compounds, flavonoids and tannins whose values are: for the methanolic extract : phenolics compounds (381.6 ± 13.11 μg EAG / mg extract), flavonoids (34.91 ± 3.250 μg EQ / mg extract) and tannins (19.67 ± 1.155 μg ECT / mg extract), and for aqueous extract: phenolic compounds (63.91 ± 7.123 μg EAG / mg extract), flavonoids (28.48 ± 1.29 μg EQ / mg extract) and tannins (0.34 ± 0.173 μg ECT / mg extract).

The study of antioxidant activity by the method of phosphomolybdenum revealed high antioxidant activity of the methanolic extract compared with the aqueous extract.

This is confirmed by an *in vivo* study whose shows that the protective effect of the methanolic extract of *Zizyphus lotus* and its ability to modulate the toxic effects caused by lead, which is expressed by the glutathione and malondialdehyde.

Keywords: *Zizyphus lotus*, antioxidant activity, phosphomolybdenum, glutathione, malondialdehyde, Phenolic compound, flavonoids, tannins.

لمستخلصات النباتية الطبيعية تحتوي على مجموعة متنوعة من المركبات الفينولية التي ترجع لها الانشطة البيولوجية . في هذه الدراسة حاولنا تقييم النشاط المضاد للأكسدة بواسطة الفحص المخبري للمستخلصين الميثانولي والمائي , من جهة اخرى اختبرنا *in vivo* نشاط المستخلص الميثانولي ضد الاجهاد التأكسدي المحرض

كشف التحليل النوعي لهذه المستخلصات التمهيد ي وجود مركبات الفينول والعفص والفلافونيدات. هذا ما يؤكد التحليل الكمي المعتمد أساسا على حساب تراكيز المركبات الفينولية، الفلافونويدات والعفص التي كانت بقيم : الميثانولي : مركبات الفينولية (381.6 ± 13.11) (الغاليك/)، الفلافونويدات (3.250 ± 34.91) ميكروغرام مكافئ الكارسييتين/ (1.155 ± 19.67) ميكروغرام مكافئ الكاثنين / (: مركبات الفينولية (7.123 ± 63.91) (الغاليك/)، الفلافونويدات (1.29 ± 28.48) ميكروغرام مكافئ الكارسييتين/ (0.173 ± 0.34) ميكروغرام مكافئ الكاثنين /).

كشفت الدراسة النشاطية المضادة للأكسدة بطريقة phosphomolybdene فعالية كبيرة للمستخلص الميثانولي

هـ *in vivo* التي أظهرت التأثير الوقائي للمستخلص الميثانولي وقدرته على تعديل التأثيرات السامة الناجمة عن الرصاص، وهو ما يعبر عنه بنسب الجلوتاثيون و malondialdehyde

malondialdehyde، الجلوتاثيون، phosphomolybdene

مفتاحية:

المركبات الفينولية، الفلافونويدات والعفص.

Sommaire

Liste des abréviations.

Liste des tableaux.

Liste des figures.

Introduction générale.

Partie I : Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralités sur le *Zizyphus lotus*

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

Chapitre II. Les composés phénoliques

II. Les métabolites secondaires.....	06
II.1. Les polyphénols.....	06
II. 1.1. Classification des polyphénols.....	07
II. 1.2. principale classe des composés phénoliques.....	08
II. 1.2.1 Les flavonoïdes.....	08
II.1.2.1.1. Structure chimique.....	08
II.1.2.1.2. Classification des flavonoïdes.....	08
II.1.2.1.3 biosynthèse des flavonoïdes.....	09

II.1.2.1.4. Localisation et distribution des flavonoïdes.....	10
II.1.2.1.5. Activités biologiques des flavonoïdes.....	11
II.1.2.1.5.1. Activité antioxydant.....	11
II.1.2.1.5.2. Activité anti-inflammatoire.....	12
II.1.2.1.5.3. Activités antimicrobiennes.....	13
II.1.2.1.5.4 autre activités des flavonoïdes.....	13
II.1.2.2. Les tanins.....	13
II.1.2.2.1. Classification biochimique.....	13
II.1.2.2.1.1. les tanins hydrolysables.....	14
II.1.2.2.1.2. Tanins condensés.....	14
II.1.2.2.2. Activités biologiques et thérapeutiques des tanins.....	15
II.1.2.2.2.1. Activité antioxydante des tanins.....	15
II.1.2.2.2.2. Activités antimicrobiennes des tanins.....	15
II.1.2.2.2.3. Autres activités des tanins.....	15

Chapitre III : le stress oxydatif.

III.1. Le stress oxydatif.....	16
III.2. Les espèces réactives de l'oxygène.....	16
III.2.1. Les espèces réactives oxygénées radicalaires.....	16
III.2.1.1. L'anion superoxyde.....	16
III.2.1.2. Le radical hydroxyle.....	17
III.2.1.3. L'oxyde nitrique (NO [•]).....	17
III.2.2. ERO non radicalaires.....	17
III.2.2.1. L'oxygène singulet (¹ O ₂).....	17
III.2.2.2. Le peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂).....	17
III.2.2.3. Le peroxyde d'azote (NO ₂ [•]).....	18
III.2.2.4. L'acide hypochlorique (HOCl).....	18
III.3. Les conséquences moléculaires du stress oxydatif.....	18
III.3.1. Sur l'ADN.....	19
III.3.2. Sur les lipides.....	19
III.3.3. Sur les protéines.....	20
III.4. Les antioxydants.....	20
III.4.1. Les systèmes antioxydants enzymatique.....	21
III.4.2. Les antioxydants non enzymatiques.....	21

III.4.3. Le mécanisme d'action des antioxydants.....	21
--	----

Chapitre IV : L'acétate de plomb

IV. Propriétés physico-chimiques du plomb.....	23
IV.1 Caractéristiques physiques.....	23
IV.2 Caractéristiques chimiques.....	23
IV.3 Les composé toxique du plomb.....	23
IV.3.1. Composés inorganiques.....	23
IV.3.2. Composés organiques.....	24
IV.4. les principales sources d'exposition au plomb.....	24
IV.4.1. Les sources d'exposition professionnelle.....	24
IV.4.2. Les sources d'exposition non professionnelle.....	24
IV.5. Toxicocinétique de l'acétate de plomb.....	24
IV.5.1. Absorption	25
IV.5.2. Distribution	25
IV.5.3. Elimination	25
IV.6. L'intoxication par le plomb.....	26
IV.6.1. Intoxication aiguë.....	26
IV.6.2. Intoxication chronique.....	26
IV.6.2.1. Effets cardiaques et vasculaire.....	26
IV.6.2.2. Effets hématologiques.....	26
IV.6.2.3. Effets neurologiques.....	26
IV.6.2.4. Effets rénaux.....	27
IV.6.2.5. Effet hépatique.....	27

Partie II : Matériels et méthodes

I.1. Matériel.....	28
I.1.1. Matériel végétale.....	28
I.2. Méthodes.....	28
I.2.1. Préparation de l'extrait aqueux à partir des feuilles du Zizyphus lotus.....	28
I.2.2. Préparation d'extrait méthanolique.....	29
I.2.3. Analyse de l'extrait aqueux et méthanolique des feuilles du Zizyphus lotus.....	29
I.2.3.1. Analyse qualitative des extraits du Zizyphus lotus.....	29
I.2.3.1.1. Tests préliminaires.....	29

I.2.3.1.1.1. Test des composés phénoliques.....	29
I.2.3.1.1.2. Caractérisation des Flavonoïdes.....	30
I.2.3.1.1.3. Caractérisation des tanins condensés.....	30
I.2.3.1.1.4. Différentiation des tanins.....	30
I.2.3.1.2. Chromatographie sur couche mince.....	30
I.2.3.2. Analyse quantitative des extraits (aqueux et méthanolique) des feuilles des Zizyphus Lotus.....	31
I.2.3.2.1. Dosage des polyphénols totaux.....	31
I.2.3.2.2. Dosage des Flavonoïdes.....	31
I.2.3.2.3. Dosage des tanins condensés.....	32
I.2.3.3. Activités biologiques.....	32
I.2.2.3.1. Activités antioxydantes.....	32
II. Etude de l'effet protecteur de l'extrait méthanolique du Zizyphus lotus sur la toxicité de plomb chez les rats.....	33
II.1. Choix du modèle expérimental.....	33
II.2. matériel biologique et conditions d'élevage.....	33
II.3. Traitement des rattes.....	34
II.4. Dissection et Prélèvement des organes.....	35
II.4.1. Prélèvement des organes.....	36
II.4.2. Dosage des paramètres du stress oxydant.....	36
II.4.2.1. Préparation de l'homogénat.....	36
II.4.2.2. Dosages des protéines.....	36
Mode opératoire.....	36
Calcul de la concentration.....	36
II.4.2.3. Dosage du glutathion tissulaire.....	37
Principe.....	37
Mode opératoire.....	37
Calcul de La concentration.....	37
II.4.2.4. Dosage du malondialdéhyde (MDA).....	38
Principe.....	38
Mode opératoire.....	38
Calcul de la concentration du MDA.....	38

Partie III : Résultats et discussion

II.1. Préparation des extraits aqueux et méthanoliques des feuilles du <i>Zizyphus lotu</i>	39
---	----

II.2. Analyse des extraits polaires des feuilles du <i>Zizyphus lotus</i>	39
II.2.1. Analyse qualitative de l'extrait Aqueux et méthanolique des feuilles du <i>Zizyphus lotus</i>	39
II.2.1.1. Tests préliminaires.....	39
II.2.1.2. Chromatographie sur couche mince.....	40
II.2.2. Analyse quantitative des extraits Aq et Met des feuilles du <i>Zizyphus lotus</i>	42
II.2.3. Activités biologiques.....	44
II.2.3.1. Activités antioxydantes.....	44
II.2.3.1.1. Technique de phosphomolybdène.....	44
II.3. Etude de l'effet protecteur d'extrait méthanolique de <i>Zizyphus lotus</i> contre le stress oxydants induit par le plomb.....	47
II.3.1. Influence du traitement sur les variations de poids corporel.....	47
II.3.2. Influence du traitement sur les variations de la teneur hépatique et rénal en GSH.....	48
II.3.3. Influence du traitement sur les variations de la teneur hépatique et rénal en MDA...	50

Conclusion générale.

Références bibliographiques.

Annexe.

Liste des abréviations

ABS : Absorbance.

AC : acide coumarique.

AG : acide gallique.

AlCl₃ : trichlorure d'aluminium.

Aq : aqueux.

BAW: n-Butanol/Acide acétique/eau.

CA : catéchine.

CCM: Chromatographie sur couche mince.

DO : Densité optique.

EAO : espèce réactive de l'oxygène.

FeCl₃ : trichlorure de fer.

GSH : glutathion réduit.

MDA : malondialdéhyde.

Met : méthanolique.

Mo : molybdène.

Nar : Naringinine.

Pb/EMet : plomb /extrait méthanolique.

Q : quercétine.

RF : Rapport frontal.

ROS : espèce réactive oxygénée.

Rut : rutine.

SD : Standard déviation.

SOD : superoxyde dismutase.

UV : ultra violet.

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

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

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

Liste des tableaux

N° de tableau	Titre	page
Tableau 01:	Teneur de la pulpe du jujubier frais en métabolite primaire.....	02
Tableau 02:	Composition en métabolites secondaires des différents organes du <i>Zizyphus lotus</i>	04
Tableau 03:	structure des squelettes des polyphénols.....	07
Tableau 04:	principales classes de flavonoïdes.....	09
Tableau 05:	Especes réactives de l'oxygene.....	16
Tableau 06:	composition d'1 kg l'aliment.....	34
Tableau 07:	Aspect et couleur de l'extrait Aqueux et méthanolique des feuilles du <i>Zizyphus lotus</i>	39
Tableau 08:	Résultats des tests préliminaires de quelque métabolite secondaire d'EAq du <i>Zizyphus lotus</i>	39
Tableau 09:	Résultats des tests préliminaires de quelque métabolite secondaire d'EMet du <i>Zizyphus lotus</i>	40
Tableau 10:	Rapports frontaux et couleurs des spots après révélation.....	41
Tableau 11:	Teneur des composés phénoliques.....	43

Liste des figures

N° de figure	Titre	page
Figure 01:	Plante de <i>Zizyphus lotus</i> L.....	02
Figure 02:	Fleur de <i>Zizyphus lotus</i> L.....	02
Figure 03:	Fruits de <i>Zizyphus lotus</i> L.....	02
Figure 04:	Feuilles de <i>Zizyphus lotus</i> L.....	02
Figure 05:	Aire de répartition du <i>Zizyphus lotus</i> L en Algérie.....	03
Figure 06:	Structure de base des flavonoïdes.....	07
Figure 07:	Biosynthèse des flavonoides.....	10
Figure 08:	Critères structuraux essentiels pour avoir une bonne activité antiradicalaire des flavonoïdes.....	12
Figure 09:	Principaux sites impliqués dans la chélation des ions métalliques (Me ⁺).....	12
Figure 10:	Structure des tanins hydrolysables.....	14
Figure 11:	Structure de base des tanins condensés.....	14
Figure 12:	Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie.....	18
Figure 13:	Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules.....	19
Figure 14:	Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés.....	20
Figure 15:	Nature de quelques modifications des chaînes latérales d'acides aminés des protéines après attaque radicalaire.....	20
Figure 16:	Stratégies de lutte des antioxydants contre les causes et les conséquences du stress oxydant.....	22
Figure 17:	Les feuilles des <i>Zizyphus lotus</i>	28
Figure 18:	Le Lyophilisateur.....	29
Figure 19:	La réaction entre la vanilline est les tanins condensés.....	32
Figure 20:	l'injection intra-péritonéale.....	34
Figure 21:	méthode de gavage.....	34
Figure 22:	Schéma récapitulatif du protocole expérimental.....	35
Figure 23:	Chromatographie sur couche mince d'EAq et EMet des feuilles du <i>Zizyphus lotus</i> (de gauche a droite : EMet, EAq, CA, Q ,AG, Rut, Nar et AC).....	41

Figure24 : gamme d'étalonnage de l'acide gallique.....	43
Figure25 : droite d'étalonnage de quercétine (moyenne \pm SD de deux essais).....	43
Figure26 : droite d'étalonnage de catéchine (moyenne \pm SD de deux essais).....	43
Figure 27 : Teneur des composés phénoliques, tanins, flavonoïdes en $\mu\text{g E standard /mg}$ d'extrait aqueux.....	44
Figure 28 : Teneur des composés phénoliques, tanins et flavonoïdes en $\mu\text{g Eq standard /mg}$ d'extrait méthanolique.....	44
Figure 29 : Histogrammes présent l'abs des différentes concentrations de l'extrait aqueux.....	46
Figure 30 : Histogrammes présent l'abs des différentes concentrations de L'extrait méthanolique.....	47
Figure 31 : Histogrammes présent l'abs des différentes concentrations du Vitamine C....	47
Figure 32 : variation du poids corporel en (g) chez le lot témoin et les lots traités par le plomb, combinaison (Pb/EMet) et l'extrait méthanolique après 8 jours de traitement.....	49
Figure 33 : la teneur hépatique en glutathion GSH chez les rattes témoins et traitées par l'acétate de plomb et EMet et la combinaison (EMet/pb) après 8 jours de traitement.....	49
Figure 34 : la teneur rénal en glutathion GSH chez les rattes témoins et traitées par l'acétate de plomb et extrait méth et la combinaison (EMet/pb).....	50
Figure 35 : la teneur hépatique de MDA chez les rattes témoins et traitées par l'acétate de plomb et extrait méthanolique et la combinaison (EMet/pb).....	51
Figure 36 : la teneur rénal de MDA chez les rattes témoins et traitées par l'acétate de plomb et l'extrait méthanolique et la combinaison (EMet/pb).....	52

INTRODUCTION

Introduction

Les plantes médicinales représentent une source inépuisable des substances et composés naturels bioactifs. En effet, les métabolites secondaires font et restent l'objet de nombreuses recherches *in vivo* comme *in vitro*, notamment la recherche de nouveaux constituants naturels tels que les composés phénoliques qui sont caractérisés par plusieurs activités biologiques notamment l'activité antioxydante.

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

Parmi les causes qui provoquent la production des radicaux libres les métaux lourds et notamment le plomb, peuvent eux générer une grande variété d'effets néfastes au niveau de la cellule, du tissu ou l'organe (Divine et *al.*, 1999).

La toxicité du plomb est connue depuis l'antiquité. Cependant, les travaux cliniques et physiopathologiques se sont longtemps cantonnés à l'étude de l'effet toxique de hautes concentrations de plomb (Barry, 1975).

Dans ce contexte s'inscrit ce présent travail de recherche, dont le but principal est d'étudier les activités antioxydantes de l'extrait méthanolique et aqueux du *Zizyphus lotus* L (Sedra), plante largement utilisée dans la médecine traditionnelle en Algérie comme adoucissant dans le traitement de la gorge et les irritations broncho-pulmonaires, un émollient dans le traitement des furoncles. D'ailleurs, elle possède plusieurs activités thérapeutiques : anti-inflammatoire, analgésique, anti-ulcérogénique, antifongique et antidiabétique.

L'objectif de notre étude est d'étudier les activités antioxydantes *in vitro* des extraits polaires des feuilles de *Zizyphus lotus* L et de confirmer cette activité par une étude *in vivo*.

Etude in vitro :

- ❖ Analyse qualitative de l'extrait méthanolique et aqueux des feuilles du *Zizyphus lotus* L en utilisant la CCM.
- ❖ Analyse quantitative du contenu en polyphénols, et en flavonoïdes et tanins de l'extrait méthanolique et aqueux des feuille du *Zizyphus lotus*.
- ❖ Etude de l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique des feuilles du *Zizyphus lotus* L, en utilisant la méthode de phosphomolybdene.

Etude in vivo

Notre étude tend à mettre en évidence les effets protectifs de l'extrait méthanolique de *Zizyphus lotus* L contre le stress oxydant provoqué par l'acétate de plomb en évaluant les aspects suivants :

Dosage des paramètres du stress oxydant :

- ❖ Glutathion hépatique et rénal.
- ❖ Malondialdéhyde hépatique et rénal.

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralités sur le Zizyphus lotus

I.1. Etude botanique :

Le mot *Zizyphus* vient du grec *Zizyphos* mais le mot n'apparaît qu'au deuxième siècle. Le *Zizyphus lotus* L, également connu sous le nom de jujube. Le genre *Zizyphus* appartient à la famille Rhamnaceae qui comprend 58 genres et près de 900 espèces (Middle, 2014), cette plante médicinale largement trouvée dans la région méditerranéenne dont l'Algérie (Pottier, 1981). Plusieurs parties de *Zizyphus* ont été utilisées par la médecine traditionnelle et ancestrale. Dont les feuilles sont connues pour les effets bénéfiques sur la santé, le *Zizyphus lotus* est utilisé en médecine traditionnelle algérienne pour ses activités anti-diabétiques, sédatives et hypoglycémiantes (Khare, 1995 ; Yoon, 2010).

I.1.1. Appellations :

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

I.1.2. Position systématique

Règne : *Végétal*.

Embranchement : *Spermatophytes*.

Sous embranchement : *Angiospermes*.

Sous classe : *Dicotylédone*.

Ordre : *Celastrales*.

Famille : *Rhamnacées*.

Genre : *Zizyphus*.

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

I.1.3. Caractéristiques

Le *Zizyphus lotus* L. appelé également jujubier des Lotophages ou jujubier de Berbérie pousse sur les rives sud de la Méditerranée. Il est issu de la famille des Rhamnacées (Baba Aissa, 1999). C'est un arbrisseau sous forme de buisson ne dépassant pas 2.5 m, très épineux gris blanc en zigzag (Claudine, 2007). Les feuilles sont petites courtes, et ovales de 1 à 2 cm de longueurs et de 7 mm de largeur (Bayer et Butter, 2000).

Les fleurs de *Zizyphus lotus* L. sont très visibles de couleurs jaunes en étoiles, des petits pétales et un ovaire supère bisexuel et fleurissent, un fruit ovoïde-olong d'abord vert puis jaune, il devient rouge foncé quand il est mûr (Baba Aissa, 1999 ; Claudine, 2007).

Les fleurs de *Zizyphus lotus* L. sont très visibles de couleurs jaunes en étoiles, des petits pétales et un ovaire supère bisexuel et fleurissent, un fruit ovoïde-olong d'abord vert puis jaune, il devient rouge foncé quand il est mûr (Baba Aissa, 1999 ; Claudine, 2007).



Figure 01: Plante de *Zizyphus lotus* L.
(Benammar, 2011).



Figure 02: Fleurs de *Zizyphus lotus* L.
(Mila .Grarem, juin 2015).



Figure 03: Fruits de *Zizyphus lotus* L.
(Benammar, 2011).



Figure 04: Feuilles de *Zizyphus lotus*
(Milla zghaya 2015).

I.2. Répartition géographique

a- Dans le monde

Le genre *zizyphus* renferme environ 50 espèces des régions tropicales et subtropicales des deux hémisphères. L'une entre elles, *Zizyphus lotus* L, est spontanée dans le sud d'Espagne et du Portugal (Bross, 2000). L'aire de répartition du *Zizyphus lotus* L. s'étale sur tout le

Nord du Maghreb (Quezel et Santa, 1962). On le rencontre aussi dans les steppes désertiques d’Afrique du Nord et Asie Mineure (Paris et Dillemann, 1960).

b- En Algérie

L’aire de répartition du *Zizyphus lotus* L. s’étale sur tout le Nord du Maghreb (Quezel, and Santa, 1963). Il est très répandu dans tout l’Algérie sauf le Tell Algéro-constantinois (Quezel et Santa, 1962).

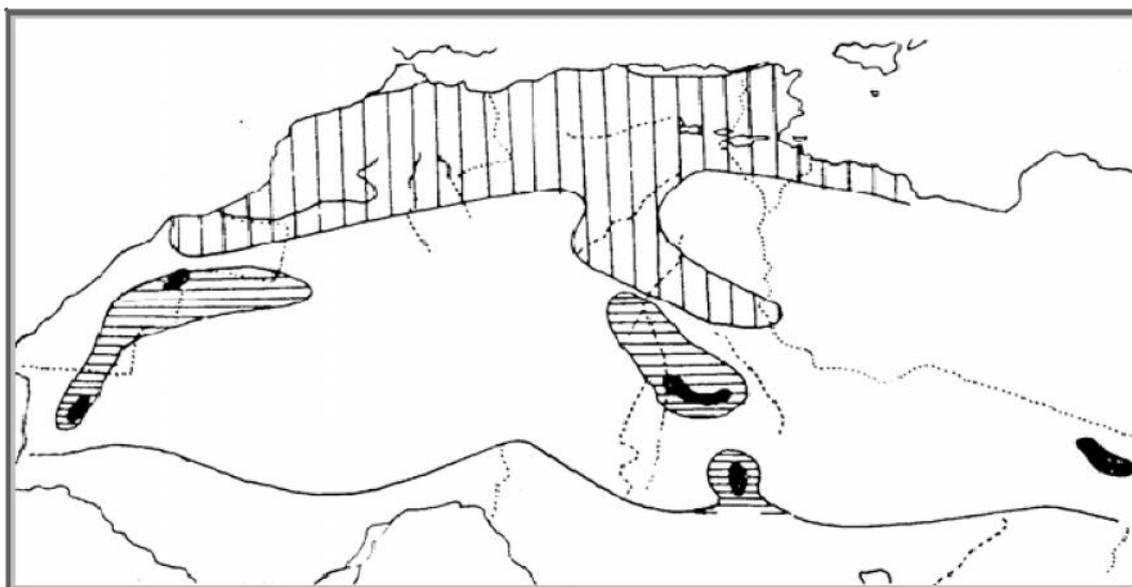


Figure 05: Aire de répartition du *Zizyphus lotus* L en Algérie (Quezel et Santa, 1962).

 Aire de *Zizyphus lotus* L.

I.3. Composition biochimique du *Zizyphus lotus* L

Les études phytochimiques menées sur le *Zizyphus lotus* L montrent la présence de métabolites primaires et secondaires.

I.3.1 métabolite primaire

Tableau 01: Teneur de la pulpe du jujubier frais en métabolite primaire (Catoire et *al.*, 1999).

La fraction de la pulpe du fruit	Le pourcentage
sucres	20% à 32%
lipides	0,1% à 0,3%
protides	0,8% à 2,1%

I.3.2 métabolites secondaires

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

Tableau 02:Composition en métabolites secondaires des différents organes du *Zizyphus lotus*

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

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

Zizyphus lotus L. est une plante médicinale utilisée dans la médecine traditionnelle, elle est utilisée pour le traitement de plusieurs pathologies, y compris les troubles digestifs, la faiblesse, affections du foie, obésité, troubles urinaires, le diabète, l'infections de la peau, la fièvre, la diarrhée et l'insomnie (Lahlou et al., 2002 ; Adzu et al., 2003), traitement des ulcères, activité antidiabétique (Glombitza et al., 1994).

I.4.1. Activités antiulcérogènes

Les feuilles, l'écorce des racines de *Zizyphus lotus* possèdent une importante activité antiulcérogénique attribuée à la présence des tanins et des flavonoïdes connus par leur effet gastroprotecteur (Borgi et al., 2007).

I.4.2. Activités anti-inflammatoires et analgésiques

Cette activité est due aux saponosides et des oligomères flavonoïques totaux (OFT). Les résultats des travaux de l'équipe de (Borgi et Chouchane, 2007), ont montré que les saponosides et les OFT des écorces de racines et des feuilles de *Zizyphus lotus* L montrent une inhibition maximale de l'œdème de la patte, (induit Expérimentalement chez la souris) de l'ordre de 88.23 et 75.19 % respectivement à 3 heures après l'injection de l'agent inflammatoire. (Borgi *et al.*, 2008). Les feuilles du *Zizyphus lotus* possèdent des effets analgésiques attribués à leur contenu en principes actifs ; les flavonoïdes et les saponines, Toutes ces activités confirment l'usage traditionnel de cette plante dans certaines maladies inflammatoires et douloureuses, (Borgi *et al.*,2007 ; Borgi *et al.*, 2008).

I.4. 3. Activités antimicrobiennes

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

I.4.4. Activité antioxydante

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

Chapitre II. Les composés phénoliques

II. Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires se définissent comme des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes, par opposition aux métabolites primaires qui alimentent les grandes voies du métabolisme basal, mais ils sont essentiels dans l'interaction de la plante avec son environnement (Macheix *et al.*, 2005).

Ils sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes (Lutge *et al.*, 2002); Parmi les composés polyphénoliques, on retrouve dans une grande mesure les flavonoïdes et les tanins.

II.1. Les polyphénols

Les polyphénols sont des molécules synthétisées par les végétaux lors du métabolisme secondaire, se sont des groupes de molécules de structures variées. Ils sont caractérisés par la présence de plusieurs groupements phénoliques associés en structures plus ou moins complexes. L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié des groupements hydroxyles (Dacosta, 2003).

Ils sont localisés dans différentes parties des plantes selon l'espèce végétale: racines, tiges, bois, cuticule foliaire, et dans les cellules épidermiques des feuilles (Marfak, 2003 ; Hadi, 2004), leur poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Dalton (Dangles *et al.*, 1992 ; Hagerman *et al.*, 1998 ; Sarni-Manchado *et al.*, 2006). Ils sont impliqués dans des nombreux processus physiologiques des végétaux comme la croissance cellulaire, la germination des graines et la maturation des fruits (Boizot *et al.*, 2006).

Les composants phénoliques sont des molécules biologiquement actives (King *et al.*, 1999), ils sont largement utilisés en thérapeutique comme vasoconstricteurs, anti inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et antiradicalaires, anti-microbiens, (Bahorun, 1997 ; Cetkovic *et al.*, 2008). Comme la majorité des composés secondaires, les polyphénols sont produits par les plantes afin d'accomplir des fonctions précises, les plus notoires étant :

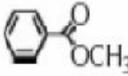
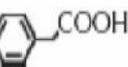
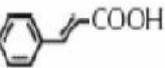
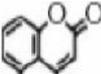
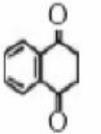
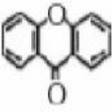
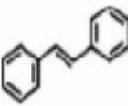
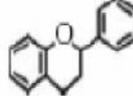
- Molécules qui donnent des arômes et parfums aux plantes, exemple : les polyphénols des pélargoniums (Druyne, 1999 ; Schiestl *et al.*, 2000, Yi-Cai *et al.*, 2000 ; Sasaki *et al.*, 2002).
- Défense contre les pathogènes : les bactéries et moisissures.

- phénomène d'allélopathie certaines plantes émettent des substances pour inhiber la croissance des autres plantes.
- Attraction des pollinisateurs : les couleurs, mais aussi les odeurs attirent les insectes.
- Protections contre les rayonnements UV (Druyne, 1999 ; Schiestl et *al.*, 2000 ; Yi-Cai et *al.*, 2000 ; Sasaki et Takahashi, 2002).

II. 1.1. Classification des polyphénols

Les polyphénols possèdent plusieurs groupements phénoliques avec ou sans autres fonctions (alcooliques, carboxyles...). Dans cette famille de molécules, se trouvent de nombreuses substances, qui peuvent se classer selon leur structure en plusieurs groupes (Macheix et *al.*, 1990 ; Nagendran, 2006), comme le montre dans (tableau 03).

Tableau 03 : structure des squelettes des polyphénols (Crozier et *al.*, 2006).

Nombre de carbones	Squelette	Classification	Exemple	Structure de base
7	C ₆ -C ₁	Acides phénols	Acide gallique	
8	C ₆ -C ₂	acétophénones	Gallacetophénone	
8	C ₆ -C ₂	Acide phénylacétique	Acide p-hydroxyphénylacétique	
9	C ₆ -C ₃	Acides hydroxycinamiques	Acide p-coumarique	
9	C ₆ -C ₃	Coumarines	Esculitine	
10	C ₆ -C ₄	Naphthoquinones	Juglone	
13	C ₆ -C ₁ -C ₅	Xanthones	Mangiférine	
14	C ₆ -C ₂ -C ₅	Stilbènes	Resveratrol	
15	C ₆ -C ₃ -C ₅	Flavonoïdes	Naringénine	

II. 1.2. principales classes des composés phénoliques

II. 1.2.1 Les flavonoïdes

Le nom flavonoïde proviendrait du terme flavedo, désignant la couche externe des écorces d'orange (Piquemal, 2008), il provenant du latin "flavus", signifiant "jaune" qui il sont des substances naturelles issues des plantes, présentes dans tout le règne végétal (Karaali *et al.*, 2004 ; Male ev et Kunti , 2007), il présents dans différentes parties des végétaux selon le type de l'espèce ; feuilles, racines fruits aussi, ils varient quantitativement et qualitativement selon le stade de développement du végétal (Fritch et Griesbach, 1975).

En raison de leur efficacité, les flavonoïdes ont des fonctions principales chez les végétaux semblent être attribuées à leur coloration ; au delà de la chlorophylle et leurs fonctions thérapeutique : anti-inflammatoires et anti virales et aussi antioxydantes (Igor, 2002).

II.1.2.1.1. Structure chimique

Les flavonoïdes sont des dérivés du noyau flavone ou 2-phényl chromone (Milane, 2004) à 15 atomes de carbone (C6-C3-C6), constitué de deux noyaux aromatiques, que désignent les lettres A et B, reliés par un hétérocycle oxygéné, que désigne la lettre C (Dacosta, 2003), portant des fonctions phénols libres, éthers ou glycosides (Milane, 2004) (figure 06).

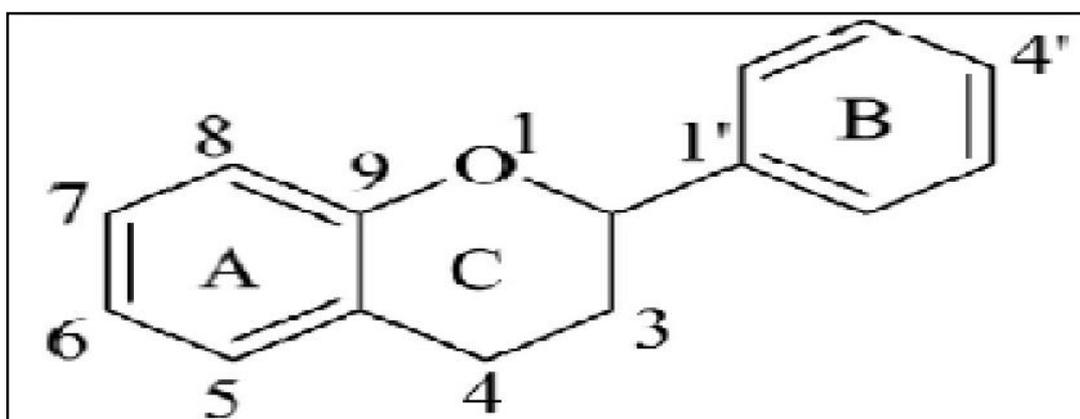
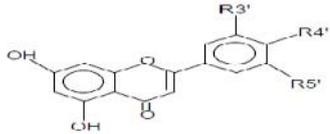
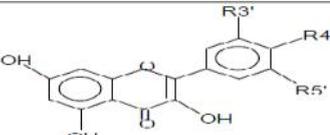
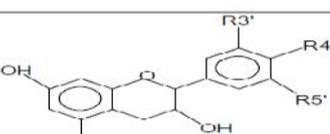
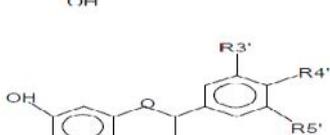
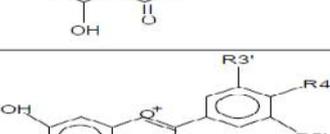
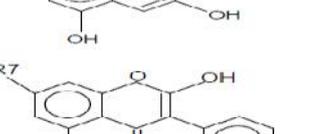


Figure 06 : Structure de base des flavonoïdes (Karabin, 2015).

II.1.2.1.2. Classification des flavonoïdes

Structuralement les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules selon le degré d'oxydation et la nature des substituant portés sur le cycle C (Pietta, 2000) (tableau 04).

Tableau 04: principales classes de flavonoïdes (Narayana *et al.*, 2001 ; W- Erdman *et al.*, 2007).

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	Myricétine
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	Genistéine
		H	O-Glu	OH	Daïdezine

II.1.2.1.3. Biosynthèse des flavonoïdes

Les flavonoïdes possèdent un squelette de base à 15 atomes de carbone, Ce dernier est constitué de deux cycles en C6 (A et B) reliés par une chaînes en C3, on parle alors de chalcones. Ces dernières représentent le précurseur commun de tous les autres flavonoïdes (Heller et Forkmann, 1993 ; Griesbach, 1996 ; Hashimoto et *al.*, 2004).

La Biosynthèse se fait à partir d'un précurseur commun, la 4, 2', 4', 6'- tétrahydroxychalcone (figure 07). Cette chalcone métabolisée sous l'action d'enzyme, la chalcone isomérase, en naringénine. Sur cette dernière agit la flavone synthase pour donner: apigénine ou le dihydroflavonol. Le dihydroflavonol, en présence de la flavonol synthase, se métabolise en kaempférol ou en leucoanthocyanidol. Ce dernier semble être le précurseur des flavan-3,4-ols et anthocyanidols, ce dernier sous l'action de la 3-O-glycosyltransférase, se transforme en anthocyanoside (Marfek, 2003).

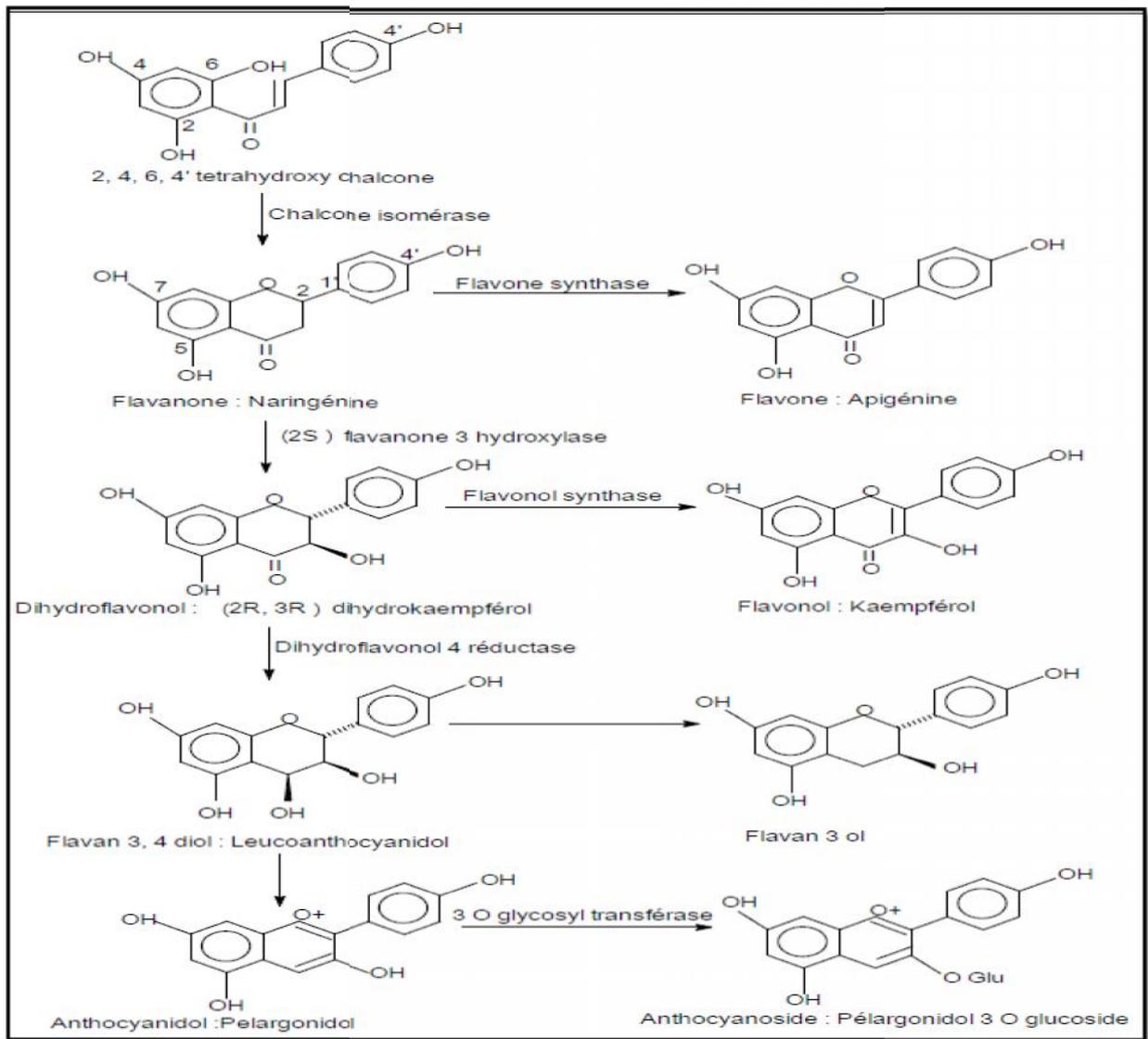


Figure 07: Biosynthèse des flavonoïdes (Winkel –Shirley,2001 ; Subsamanian *et al.*,2007).

II-1.2.1.4. Localisation et distribution des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont accumulés dans différentes parties cellulaires et tissulaires de la plante.

Sur le plan cellulaire, les flavonoïdes sont synthétisés dans les chloroplastes puis migrent et se dissolvent dans les vacuoles. La répartition de ces composés, généralement relie d'une part avec une fonction physiologique et d'autre part avec l'interaction de la plante avec son environnement (Remy *et al.*, 1996).

Les flavonoïdes présents dans la plupart des aliments d'origine végétale, ils sont largement abondants dans les légumes feuillés (salade, choux, épinards, etc.), On en trouve également en quantité importante dans nombreuses plantes médicinales (Bronner et Beecher, 1995).

II.1.2.1.5. Activités biologiques des flavonoïdes

Les recherches récentes sur les flavonoïdes sont très poussées en raison de leurs divers propriétés physiologiques comme les activités antiallergique, anti-inflammatoire, hépatoprotective, antimicrobienne, antivirale, antibactérienne, anticarcinogénique, cardioprotective et vasodilatatoire (Middleton *et al.*, 2000 ; Ksouri *et al.*, 2007) ; Ces actions sont attribuées à leur effet antioxydant qui est due à leurs propriétés redox en jouant un rôle important dans la destruction oxydative par la neutralisation des radicaux libres, piégeage de l'oxygène, ou décomposition des peroxydes (Nijveldt *et al.*, 2001).

II.1.2.1.5.1. Activité antioxydante

Les flavonoïdes ont été découverts dans les années 30 par Albert Szent-Gyorgyi lauréat prix Nobel, ces molécules sont reconnues pour leurs nombreuses activités biologiques, ces activités sont attribuées en partie aux propriétés anti-oxydantes de ces composés naturels (Hodek *et al.*, 2002).

Les flavonoïdes parviennent à capturer les espèces réactives de l'oxygène associées au stress oxydatif, les empêchant ainsi de créer des dommages cellulaires. En effet, ils sont capables d'inactiver et de stabiliser les radicaux libres grâce à leur groupement hydroxyle fortement réactif (Tu *et al.*, 2007).

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulier, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la chélation des métaux de transition (Favier, 2006) (figure 08, 09) La propriété antiradicalaire des flavonoïdes nécessite :

- La double liaison C2-C3 conjuguée avec la fonction 4 oxo qui est responsable de la délocalisation des électrons, en améliorant ainsi la capacité antiradicalaire.
- Structure ortho-dihydroxyphénolique du cycle B (3',4' dihydroxystructure), cette structure est importante pour l'activité antiradicalaire des flavonoïdes possédant un hétérocycle saturé.
- Les groupements hydroxyles libres en C3 et C5 (Ami *et al.*, 2003).

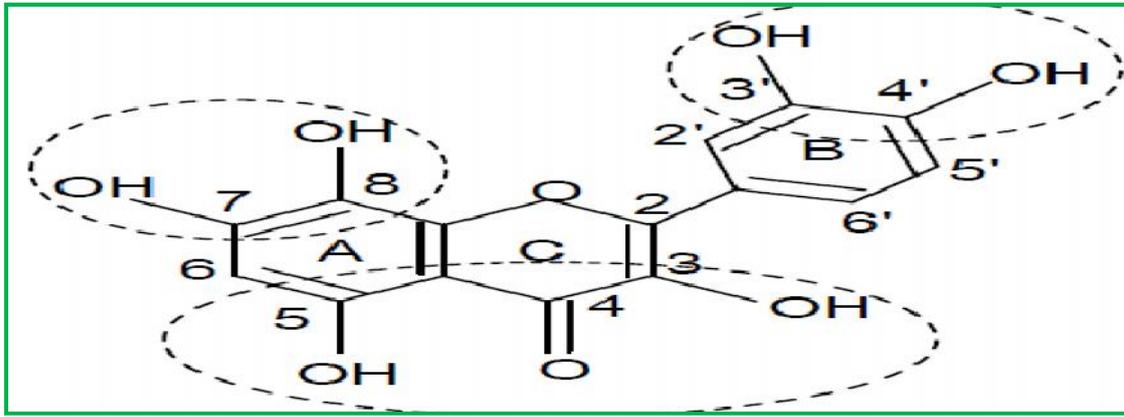


Figure 08 : Critères structuraux essentiels pour avoir une bonne activité antiradicalaire des flavonoïdes (Ami *et al*, 2003).

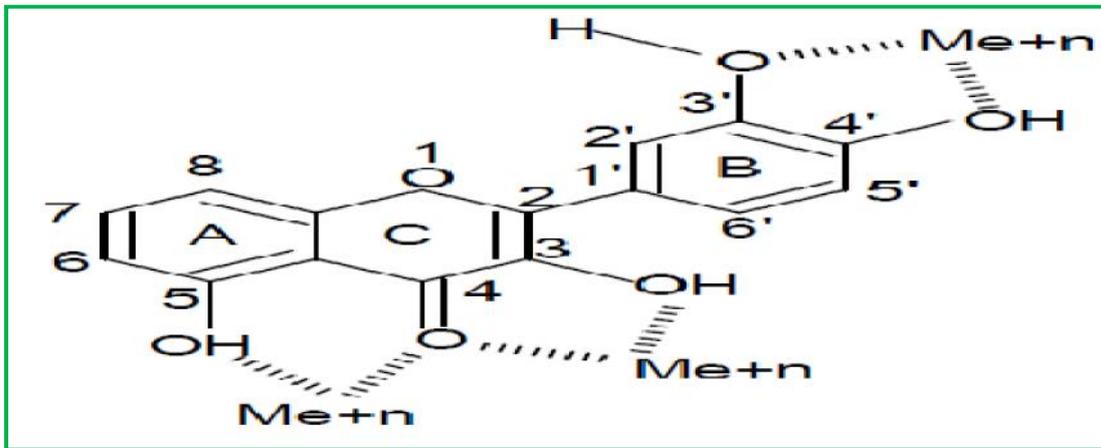


Figure 09: Principaux sites impliqués dans la chélation des ions métalliques (Me⁺) (Tiqwari, 2001).

II.1.2.1.5.2. Activité anti-inflammatoire

Les flavonoïdes possèdent des propriétés anti inflammatoires qu'ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire par inhibition de l'activité des enzymes responsables des inflammations, et aussi moduler l'adhésion des monocytes (González-Gallego *et al*, 2007). D'autres flavonoïdes sont capables d'inhiber l'histamine (Kim *et al*, 2004). Les flavones et les flavonols sous forme glycosylée ou libre comme la quercétine, kaempférol, myrecétine ont une activité inhibitrice de COX (Cyclooxygénase) (Tapas *et al.*, 2008).

II.1.2.1.5.3. Activités antimicrobiennes

L'activité antimicrobienne et donc anti-infectieuse des flavonoïdes ont été démontrée par de nombreuses études. Cette activité est due principalement à la capacité de ces molécules à inhiber l'expression de l'ADN et la synthèse de certaines enzymes et protéines membranaires des microorganismes (Ulanowska *et al.*, 2006). L'activité antimicrobienne a été attribuée à la

fonction phénolique des flavonoïdes, cette activité est sensée augmenter avec le nombre de substituants hydroxyles, méthoxyles ou glucosyle. Les structures les plus efficaces étant les flavones et les flavanones (Picman et *al.*, 1995).

II.1.2.1.5.4 autre activités des flavonoïdes

D'autres études ont permis d'établir une relation étroite entre les propriétés antiulcéreuses de la quercétine, naringénine, rutine et kaempférol et la production du PAF (Platelet Activating factor) qui est un agent ulcérogène potentiel (Marfak, 2003). Dans des expériences réalisées sur des rats, il a été démontré que la quercétine et la naringénine jouent un rôle important dans la réduction de l'ulcère et la protection des cellules gastriques (Marfak, 2003; Pelli et Lyly, 2003). L'utilité thérapeutique de ces composés a été démontrée dans l'hémorragie gastro-intestinale, avortement habituel, ménorragie, tuberculose hémoptysie, la maladie de Meniere, épistaxis, rétinopathie, hémorroïdes et syndrome de Raynaud. (Parmar et Ghosh, 1980).

II.1.2.2.Les tanins

Le terme « tannin » ou « tanin » vient de la source de tannins utilisée pour le tannage des peaux d'animaux en cuir. Dans ce processus, les molécules de tanins se lient aux protéines par des liaisons résistantes aux attaques fongiques et bactériennes (Dangles et *al.*, 1992). Ils sont des composés phénoliques solubles dans l'eau et ayant des poids moléculaires varie entre 500 et 2000 Dalton (3000 pour les structures les plus complexes), Le rôle biologique des tanins dans la plante est lié à sa propre protection contre les infections, les insectes et les animaux herbivores (Khanbabaee et Ree, 2001), en plus de la protection contre les attaques fongiques et bactériennes (Peronny, 2005).

II.1.2.2.1. Classification biochimique

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

II.1.2.2.1.1. les tanins hydrolysables

Constitués par une molécule glucidique sur laquelle est estérifiée de l'acide gallique ou l'un de ces dérivés (acide éllagique, acide m-digallique), d'où le nom de pyrogalliques et d'éllagitanins qu'on leur donne quelque fois. Ils sont facilement hydrolysés par voie chimique ou enzymatique. Les tanins galliques et ellagiques sont caractéristiques des angiospermes dicotylédones (Sarni- Manchado et Cheynier, 2006).

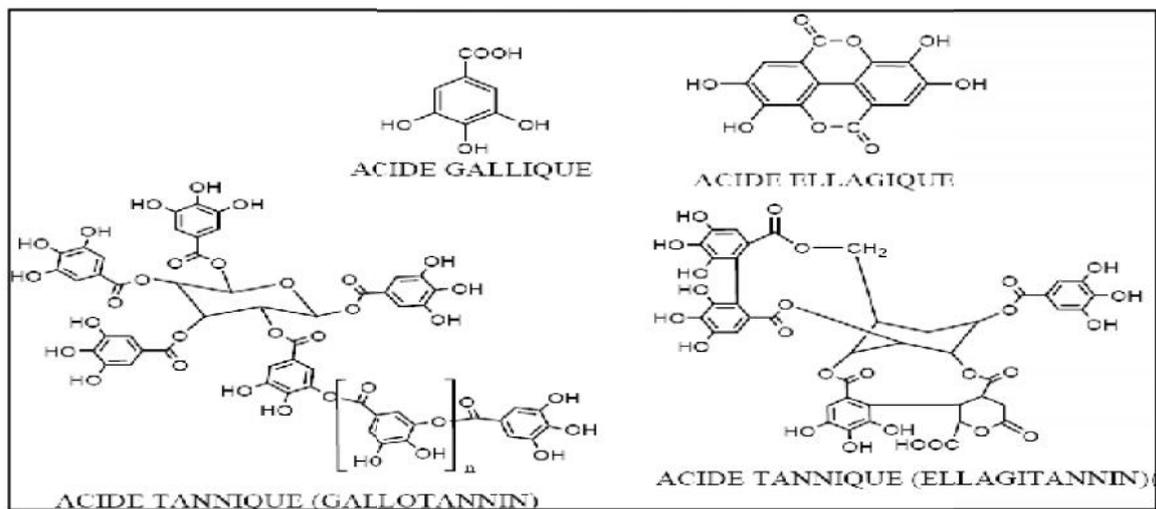


Figure 10: Structure des tanins hydrolysables (Bruneton, 1999).

II.1.2.2.1.2. Tanins condensés

Ce sont des composés phénoliques hétérogènes, ils se trouvent sous forme d'oligomères ou polymères de flavanes, flavan-3-ols, 5 desoxy-3-flavonols et flavan-3,4-diols, ils ne traversent pas la barrière intestinale (Montenegro de Matta *et al.*, 1976 ; Sarni-Manchado *et* Cheynier, 2006).

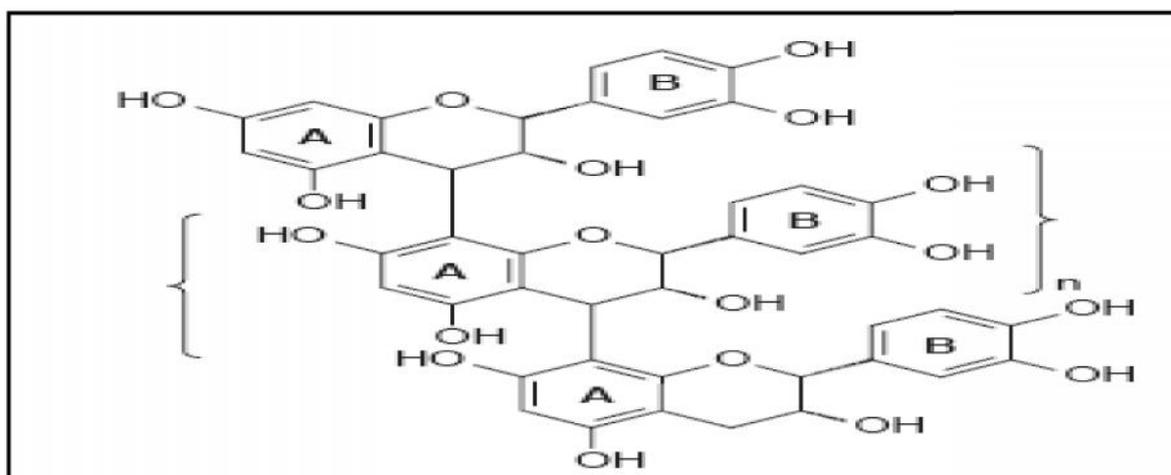


Figure 11 : Structure de base des tanins condensés (Li, 2004).

II.1.2.2.2. Activités biologiques et thérapeutiques des tanins

Les tanins sont des métabolites secondaires des plantes, leur conférant une protection contre les prédateurs (herbivores et insectes). La propriété astringente des tanins est à la base d'autres propriétés (vulnéraire, anti-diarrhéique..), elle permet la cicatrisation, l'imperméabilisation de la peau et des muqueuses, favorise la vasoconstriction des petits vaisseaux (Paolini *et al.*, 2003). Ces composées sont particulièrement intéressants à étudier parce qu'ils présentent des propriétés biologiques variées telles que :

II.1.2.2.2.1. Activité antioxydante des tanins

Les tanins ont la particularité d'inhiber la peroxydation des lipides en agissant comme donneur de proton et accepteur de radicaux libres, stoppant ainsi le mécanisme d'auto oxydation (Perret, 2001). Les tanins hydrolysables et condensés sont 15 à 30 fois plus efficaces que les phénols simples (Peronny, 2005). Dans une autre étude faite sur la propriété du piégeage radicalaire, il a été remarqué que les procyanidines dimériques peuvent emprisonner 8 radicaux pyroxyles alors que l'acide ascorbique emprisonne un seul radical, et l' -tocophérol emprisonne deux radicaux (De Bruyne et *al.*, 1999).

II.1.2.2.2.2. Activités antimicrobiennes des tanins

Les tanins sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes, Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrolases) ou d'autres interactions pour inactiver les adhesines microbiennes, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire (Cowan, 1999). De nombreuses études ont montré l'effet antimicrobien des tanins sur différentes bactéries, virus et champignons (Bruneton, 1999 ; Peronny, 2005), dans les infections pulmonaires ils agissent grâce à une action inhibitrice sur la croissance microbienne (Atefeibu, 2002).

II.1.2.2.2.3. Autre activités des tanins

Les tanins sont des molécules biologiquement actives (Chavan et *al.*, 2001 ; Okuda, 2005). Ils présentent une activité antiulcéreuse et antiparasitaire (Peronny, 2005), anti-inflammatoire, anticancérogénique (Yang et *al.*, 2000 ; Chung et Wei, 2001), ils favorisent l'augmentation de la résistance capillaire, diminution de la perméabilité capillaire, l'augmentation du tonus veineux, stabilisation du collagène...etc. (Bruneton, 1999).

Chapitre III : le stress oxydatif

III.1. Le stress oxydatif

Le stress oxydant, défini comme le résultat d'un déséquilibre entre la production de composés pro-oxydants et leur élimination par les antioxydants ; il correspond à une oxydation des différents constituants de l'organisme. Les molécules responsables de cette oxydation sont les radicaux libres. Ils proviennent de l'oxygène contenu dans l'air que nous respirons (Uno *et al.*, 2010)

III.2. Les espèces réactives de l'oxygène

Parmi les espèces radicalaires les plus intéressantes se trouvent les espèces réactives de l'oxygène (ERO) qui sont des radicaux libres qui dérivent de la molécule d'oxygène, par addition d'un électron. Les principales espèces réactives de l'oxygène radicalaire sont: le radical superoxyde (O_2^{*-}), le radical hydroxyle (OH^*), le monoxyde d'azote (NO^*), et aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante tels que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le peroxy-nitrite ($ONOO^-$) (Gutteridge, 1993 ; Jacques et André, 2004).

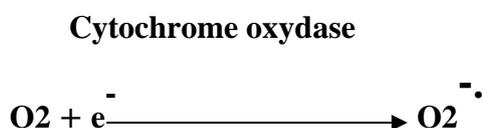
Tableau 05: Espèces réactives de l'oxygène (Kohen et Nyska, 2002).

Espèces radicalaires	Espèces non radicalaires
Anion superoxyde O_2^{*-}	Peroxyde d'hydrogène H_2O_2
Radical hydroxy OH^*	Peroxyde organique $ROOH$
Radical peroxy ROO^*	Acide hypochlorique $HOCl$
Radical alkoxy RO^*	Oxygène singulet 1O_2
Monoxyde d'azote NO^*	Peroxy-nitrite $ONOO^-$

III.2.1. Les espèces réactives oxygénées radicalaires

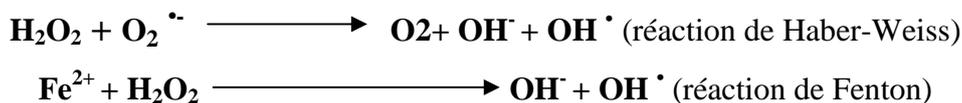
III.2.1.1. L'anion superoxyde

L'anion superoxyde est la forme réduite de l'oxygène moléculaire par la réception d'un électron, c'est le premier radical formé au niveau de la chaîne respiratoire, cette réaction est catalysée par le cytochrome oxydase mitochondrial (Harman, 2000).



III-2-1-2- Le radical hydroxyle

Est formé principalement par la dégradation du H₂O₂ en présence de O₂^{•-} et de métaux de transition sous la forme réduite, comme le présente la réaction de Haber-Weiss, ou par des voies qui ne font pas appel à l'anion superoxyde (réaction de Fenton) (Grisham et Gramger, 1988 ; Sorg, 2004).



III.2.1.3.L'oxyde nitrique (NO[•])

Est synthétisé par l'enzyme oxyde nitrique synthase (NOS) à partir de l'O₂ et l'acide aminé l'arginine (Bonfont-Rousselot et *al.*, 2003 ; Sorg, 2004).



III.2.2. ERO non radicalaires

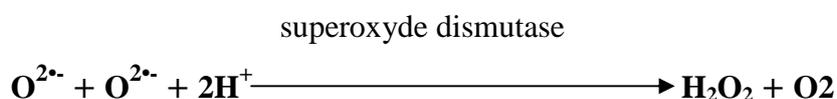
III.2.2.1.L'oxygène singulet (¹O₂)

L'oxygène singulet (¹O₂) correspond à une forme excitée de l'oxygène O₂, il possède la même structure électronique que l'oxygène mais « agencée » différemment, à savoir que les électrons de la couche externe initialement non appariés se sont appariés. Il n'est donc pas radicalaire. Son état « excité » lui confère un potentiel oxydant supérieur à celui de l'oxygène (Bonfont-Rousselot et *al.*, 2003).

III.2.2.2. Le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)

La dismutation de O₂^{•-} spontanée ou catalysée par les superoxydes dismutases est la source majeure de l'H₂O₂.

L'H₂O₂ n'est pas un radical libre mais a la capacité de générer des radicaux hautement réactifs. En présence de métaux de transition (fer et cuivre), l'H₂O₂ donne naissance via la réaction de Fenton à un radical hydroxyle HO[•] hautement réactif (Bonfont-Rousselot et *al.*, 2003).



III.2.2.3. Le peroxydinitrite (NO₃⁻)

Son apparition est extrêmement rapide, et se produit par une réaction entre deux ERO



A l'instar du radical hydroxyle, NO₃⁻ est une ERO qui cause beaucoup de dommages aux composants cellulaires (Bonnefont-Rousselot et al., 2003).

III.2.2.4. L'acide hypochlorique (HOCl)

Il est formé à partir du peroxyde d'hydrogène, il passe facilement à travers les membranes biologiques, et peut altérer les constituants protéiques de la cellule à cause de son fort pouvoir oxydant (Bonnefont-Rousselot et al., 2003)

Meyloperoxydase.

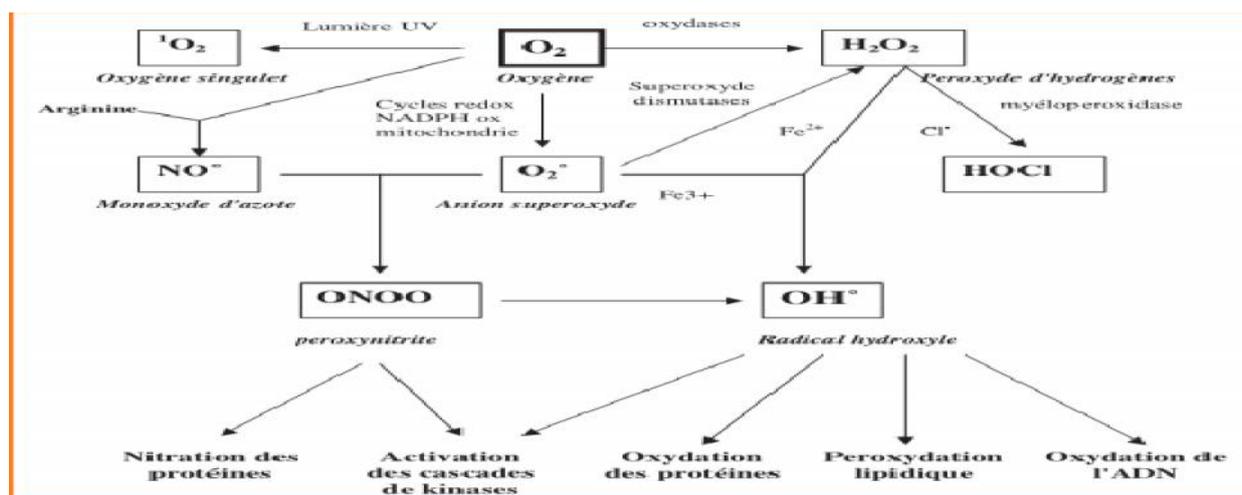
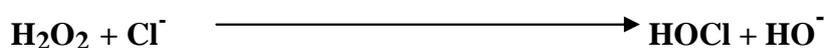


Figure 12: Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie (Favier, 2003).

III.3. Les conséquences moléculaires du stress oxydatif

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

III.3.1. Sur l'ADN

Les ADN nucléaires et mitochondriaux constituent une cible cellulaire importante, les bases qui composent l'ADN sont sensibles à l'oxydation. Ces attaques sont essentiellement causées par le HO[•] (Cadet *et al.*, 2002), elles sont de différents types (Grandjean, 2005) :

- Modification de base azotée.
- Destruction de la liaison entre la base et le désoxyribose.
- Destruction du désoxyribose, responsable d'une cassure de brin, létale pour la cellule.
- Formation de pontages avec des protéines, ou avec des dérivés d'oxydation lipidique.

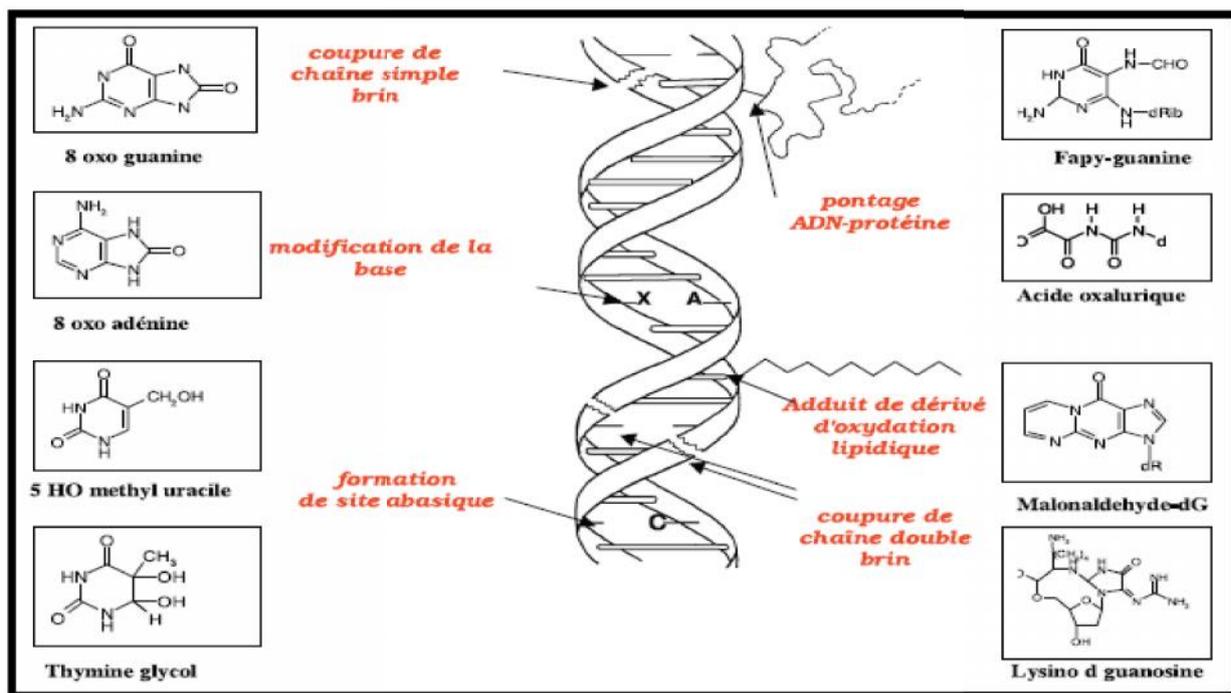


Figure 13 : Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules. (Favier, 2003).

III.3.2. Sur les lipides

Les lipides et principalement leurs acides gras polyinsaturés sont la cible privilégiée de l'attaque par le radical hydroxyle capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons, pour former un radical diène conjugué, oxydé en radical peroxyde. Cette réaction appelée peroxydation lipidique (Favier, 2003).

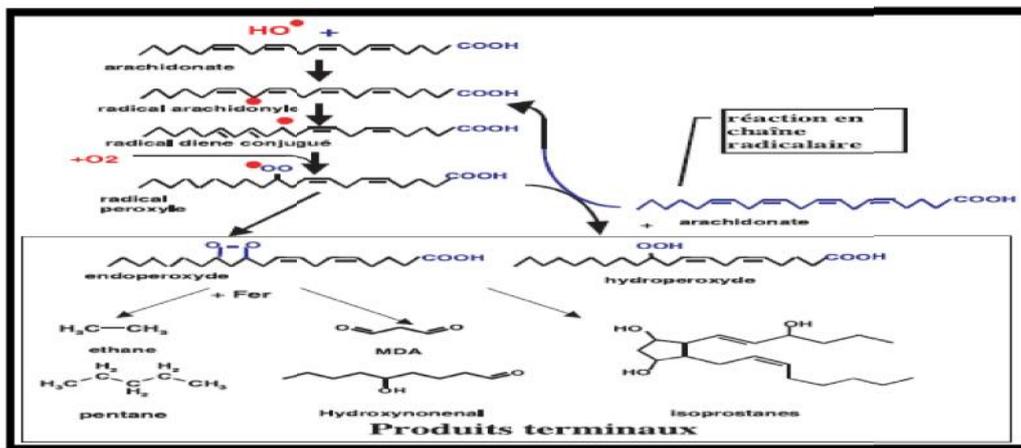


Figure 14: Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés (Favier, 2003).

III.3.3. Sur les protéines

Les acides aminés sulfurés (méthionine, cystéine) et aromatiques (tyrosine, tryptophane) sont les plus sensibles, L'oxydation des acides aminés induit des modifications structurales et la fragmentation des chaînes, ce qui affecte leurs fonctionnements et leurs activités (Martinez-Cayuela, 1995; Leucher-Michel *et al.*, 2001 ; Valko *et al.*, 2007). Les protéines ainsi deviennent sensibles à l'action des protéases et dirigées vers la dégradation protéolytique au niveau du protéasome (Jung *et al.*, 2007).

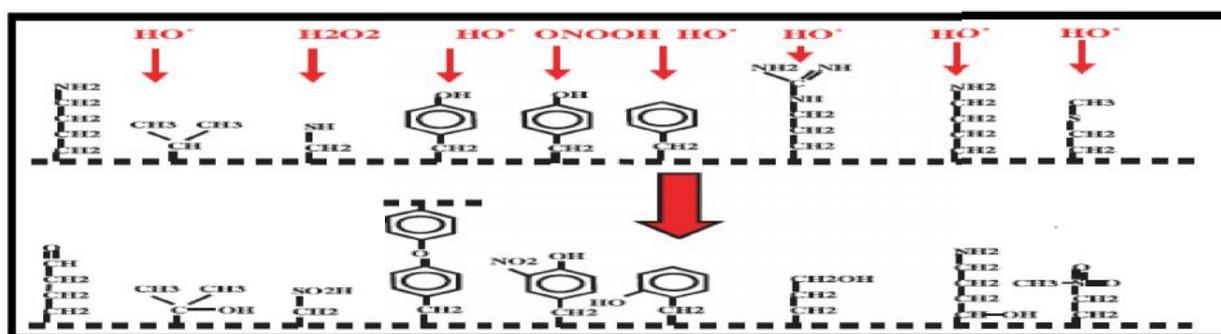


Figure 15: Nature de quelques modifications des chaînes latérales d'acides aminés des protéines après attaque radicalaire (Favier, 2003).

III.4. Les antioxydants

Un antioxydant est une substance qui retarde significativement l'oxydation d'un substrat, Ils sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme (Vansant, 2004). Les antioxydants peuvent être des enzymes ou de simples molécules. Certains sont produits par l'organisme, ce sont les antioxydants endogènes, ou proviennent de l'alimentation ou la médication, et sont donc exogènes (Helliwell *et al.*, 1990).

III.4.1. Les systèmes antioxydants enzymatiques

L'organisme vivant possède des systèmes de défense qui les protègent contre les dommages des ROS. Ces défenses permettent de maintenir la concentration en espèces radicalaires à un taux basal, elles possèdent une grande affinité pour les ROS, avec lesquelles elles réagissent très rapidement pour les neutraliser; Dans cette catégorie d'antioxydant nous retrouvons le superoxyde dismutase, La catalase, La glutathion peroxydase, L'hème oxygénase (Salvayre et *al.*, 2003), les thiorédoxines et la thiorédoxine réductase (Hattori et *al.*, 2003).

III.4.2. Les antioxydants non enzymatiques

Les antioxydants sont des agents redox qui réagissent avec les oxydants et soit stoppent, soit ralentissent les processus d'oxydation. Pendant ces réactions, les antioxydants s'oxydent en dérivés stables, ils se divisent en deux principales catégories, Les endogènes comme glutathion, les protéines à groupements thiols, la bilirubine, l'acide lipoïque, l'acide urique,...etc. (Favier, 2003), et les exogènes (vitamines, oligoéléments, ou les polyphénols comme les flavonoïdes, les tanins...) (Léopoldine et *al.*, 2011).

III.4.3. Le mécanisme d'action des antioxydants

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulier, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la chélation des métaux de transition (Favier, 2006), et l'inhibition des enzymes et la chélation des traces métalliques responsables de la production de ROS (Halliwell, 1996). On retrouve de nombreux antioxydants naturels contribuer de manière significative à la prévention des maladies cardiovasculaires (Amadou, 2005) ; et les cancers (Caraballoso M et al, 2003).

Les stratégies de défense vis-à-vis du stress oxydant sont variées :

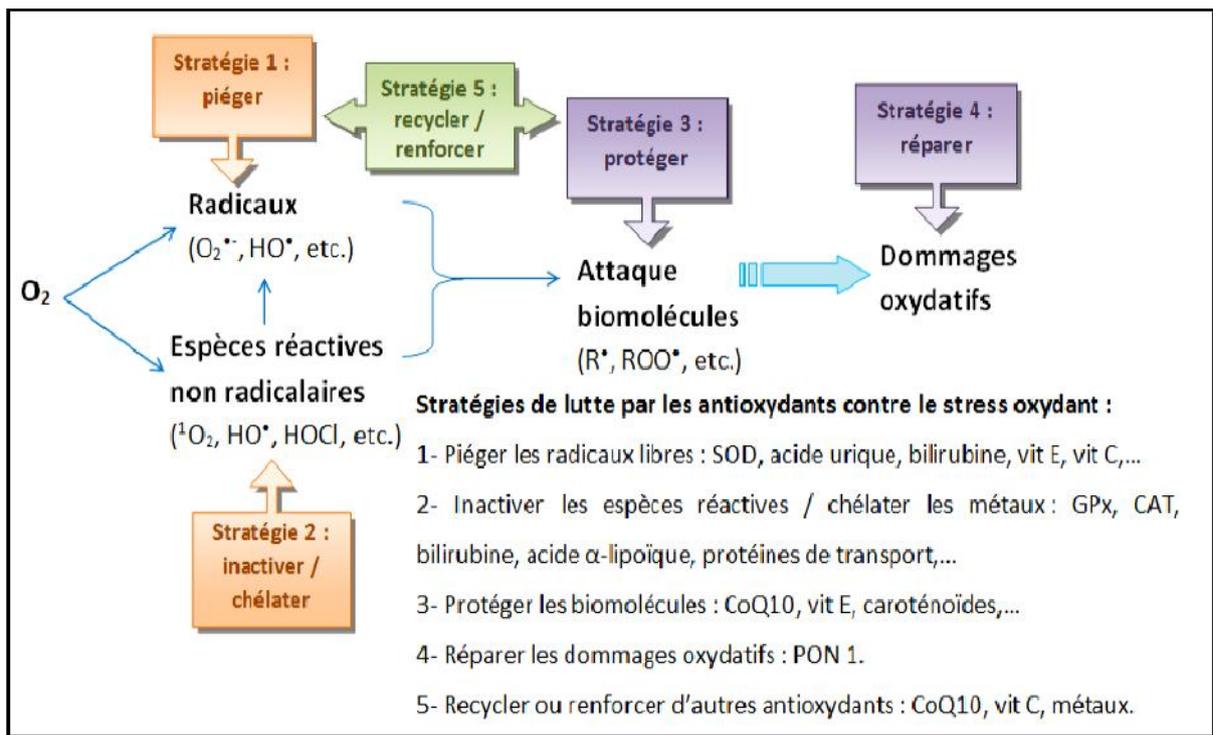


Figure 16 : Stratégies de lutte des antioxydants contre les causes et les conséquences du stress oxydant (Grandjean, 2005).

Chapitre IV : L'acétate de plomb

IV. Propriétés physico-chimiques du plomb

Les propriétés physico-chimiques du plomb sont très importantes pour la compréhension des mécanismes de biodisponibilité et d'action de ce métal.

IV.1 Caractéristiques physiques

Le plomb du latin *plombum*, ce qui lui a valu son symbole (Pb) il est un métal lourd et mou, bleu grisâtre, sa densité est de 11.35, odorant après frottement, se présentant soit sous la forme Insoluble dans l'eau soit sous la forme soluble dans l'acide nitrique et l'acide sulfurique chaud (Sposito, 1989 ; Rkhila, 2003).

IV.2 Caractéristiques chimiques

Le plomb présente une grande affinité pour les groupements thiols et inactive divers systèmes enzymatiques par fixation sur les groupes SH ou par déplacement d'autres métaux. Le plomb résiste très bien à l'action des acides sulfuriques, phosphoriques, chromiques et à de nombreux produits chimiques industriels (Pascal, 1963). En revanche, sa résistance est imparfaite vis-à-vis de l'acide nitrique, des hydracides et des acides organiques et aussi présente une remarquable résistance à la corrosion (Baillar et *al.*, 1973 ; Burnol et *al.*, 2006).

Le plomb forme avec l'anion phosphorique le phosphate de plomb, qui favorise la fixation au niveau du squelette (Rekhila, 2003).

IV.3 Les composé toxique du plomb

Le plomb existe sous forme inorganique et organique qui est les principaux Composés nocifs.

IV.3.1. Composés inorganiques

- Les oxydes de plomb: monoxyde de plomb << PbO >>, dioxyde de plomb <<PbO₂>>, minium de plomb <<Pb₃O₄>>, La plupart des oxydes de plomb sont des colorants utilisés dans l'industrie de fabrication de peinture.
- Les sels de plomb, comme les stéarates de plomb, les acétates de plomb Pb(CH₃COO)₂, Pb(CH₃COO)₂, 3H₂O ; les sulfates de plomb <<PbS>>, les arséniate de plomb, ont des emplois divers en agriculture, en industrie chimique ou pharmaceutique (INSERM, 1999 ; Rkhila, 2003).

IV.3.2. Composés organiques

→ Plomb tétra-méthyle $Pb(CH_3)_4$, plomb tétra-éthyle $Pb(C_2H_5)_4$: ils ont été employés comme antidétonant dans les carburants (INSERM, 1999 ; Rekhila, 2003).

IV.4.les principale sources d'exposition au plomb

Il existe deux types : professionnelle et non professionnelle.

IV.4.1. Les sources d'exposition professionnelle

En raison du recours toujours actuel au plomb dans de nombreuses applications, il existe en plusieurs domaines :

- Industrie métallurgique (fonte d'alliages de plomb, refonte de vieux plomb).
- Industrie des colorants (fabrication, ponçage et décapage au feu de peintures au plomb) (Hellström-Lindberg E *et al.*, 2006).
- Industrie électronique (soudures au plomb).
- Recyclage de déchets contenant du plomb (vapeurs, fumées, poussières de plomb) (Voack C *et al.*,1993).

IV.4.2. Les sources d'exposition non professionnelle

- L'air (Les niveaux pré-industriels du plomb dans l'air d'origines naturelles) (Settle et Patterson, 1980).
- L'alimentation (Les sources de plomb dans les aliments peuvent être naturelles ou anthropogéniques, et la contamination peut survenir à l'origine ou à n'importe quel point du processus de fabrication, par contact avec des outils métalliques (Chien *et al.*, 2006 ; Efsa, 2010).
- L'eau du robinet (Les niveaux de plomb sont très faibles dans l'eau de source ; L'eau du robinet peut se retrouver contaminée à travers la corrosion des matériaux de plomberie contenant du plomb (Levin, 1986).

IV.5. Toxicocinétique de l'acétate de plomb

Le métabolisme du plomb est important à connaître pour comprendre certains aspects de l'intoxication, il importe d'évaluer les différentes phases de ce métabolisme de l'absorption à l'élimination en passant par les mécanismes de transfert dans les différents tissus et le stockage dans certains organes.

IV.5.1.Absorption

La quantité de plomb absorbée par voie gastro-intestinale la région duodénale de l'intestin grêle et cutanée chez l'homme adulte est influencée par les caractéristiques physico-chimiques du minéral (ATSDR, 2007); Le plomb inorganique est absorbé par les poumons au niveau du tractus respiratoire inférieur dépend la taille des particules chargées en plomb est mieux absorbé par les poumons. (Venugopal B., Luckey T.D. 1974).

Une partie de plomb absorbé pouvant subir un cycle entérohépatique (Hac et Krechniak., 1996).

IV.5.2.Distribution

90 à 95 % du plomb sanguin seraient liés aux érythrocytes (ATSDR ; 2007), et reste diffuse dans le sérum, il est ensuite distribué à divers organes et tissus, (Baloh, 1974 ; Alessio et *al.*, 1978).

Les études de cinétique chez l'homme indiquent trois compartiments :

- la masse sanguine et quelques tissus à échange rapide; la demi-vie du plomb y est d'environ un mois, la concentration sanguine est modulée par des variations individuelles d'origine nutritionnelle (interférence avec le zinc ou le cuivre).
- le système nerveux central et périphérique ainsi que le foie, les reins, les muscles ; la demi-vie du plomb y est d'environ 40 à 60 jours. (Amdur, 1996)
- le squelette ou l'os est le compartiment le plus chargé en plomb environ 90 % du plomb total avec une demi-vie d'environ 10 - 20 ans (Kaminsky et *al.*, 1993). Cette concentration augmente progressivement avec l'âge (Barry PSI, 1975).

Il traverse la barrière placentaire et peut s'accumuler dans les tissus fœtaux (sang, foie, cerveau, squelette) (Kasprzak, 1985), le plomb passe dans le lait maternel. Le taux dans le lait maternel est à environ 3 % du taux sanguin maternel (Gulson, 1998).

IV.5.3.Elimination

Le plomb inorganique n'est pas métabolisé dans l'organisme. Il est ingéré est absorbé ou éliminé dans les fèces. Environ 80 % le plomb absorbé est principalement éliminé par la voie urinaire par filtration glomérulaire, avec une réabsorption tubulaire possible (Laurewys, 1983). Le reste est éliminé par la bile environ 16 %, les sécrétions gastro-intestinales, la sueur et les phanères (environ 8 %) (Alessio et *al.*, 1978).

IV.6. L'intoxication par le plomb

IV.6.1. Intoxication aiguë

L'ingestion accidentelle ou volontaire unique de plomb provoque des troubles digestifs, douleurs épigastriques, douleurs abdominales, vomissement, Une atteinte rénale, protéinurie, cylindrurie, glycosurie, hyper-phosphaturie, oligurie, des symptômes neurologiques, convulsions, coma pouvant conduire au décès en 2-3 jours, Parfois une atteinte hépatique, Parfois une hémolyse. (Lauwerys, 1999 ; ATDSR, 2000)

IV.6.2. Intoxication chronique

L'exposition à des petites doses répétées de plomb par inhalation ou par ingestion provoque :

IV.6.2.1. Effets cardiaques et vasculaires

Les effets cardiotoxiques sont liés à des effets inotropes et dromotropes négatifs ; le plomb a un effet arythmogène sur le myocarde et peut produire des modifications dégénératives au niveau cardiaque. Cet effet serait dû à sa capacité à former des complexes avec les macromolécules intracellulaires et à s'opposer au calcium (Amdur, 1996).

IV.6.2.2. Effets hématologiques

Le plomb modifie les propriétés de nombreuses protéines cytosoliques et membranaires en se liant de façon réversible avec les groupements thiols (-SH), notamment au niveau de la biosynthèse de l'hème. Il inhibe ainsi des enzymes de la voie de biosynthèse de l'hème comme l'acide aminolévulinique déshydratase (ALAD) et la ferrochélatase. En conséquence, il diminue la durée de vie des hématies et modifie le métabolisme du fer par diminution de la capacité de fixation (Kaminsky, 1993).

IV.6.2.3. Effets neurologiques

Le plomb constitue un poison du système nerveux, il peut provoquer des dommages irréversibles dans le développement du système nerveux (Boeckx et *al.*, 1986). Cette neurotoxicité est due à la perturbation des mécanismes de libération de neurotransmetteurs, régulés par le calcium, les conséquences sont surtout marquées au cours de deux périodes critiques : l'enfance et la vieillesse les formes neurologiques sont habituelles troubles de l'attention, retards psycho-moteur, voire des atteintes graves du cerveau (Godwin, 2001).

IV.6.2.4. Effets rénaux

L'intoxication chronique au plomb provoque une atteinte rénale qui est le plus souvent réversible, au départ, atteinte tubulaire avec protéinurie, glycosurie, phosphaturie. Sans traitement, évolution vers une insuffisance rénale; Le plomb provoquerait aussi des spasmes des artères rénales. Ce phénomène serait responsable des poussées d'hypertension artérielle observées lors des grosses intoxications, même sans atteinte rénale (Ibels, 1986).

IV.6.2.5. Effet hépatique

La cytolysse hépatique est un signe d'intoxication aigue par le plomb. Elle ne s'observe qu'après des contaminations massives. Le plomb inhibe la synthèse des hémoprotéines, et en particulier celle du cytochrome P450, ce qui peut être à l'origine d'interactions médicamenteuses et d'effets toxiques d'autres substances (Lauwerys et Hoet, 2001).

Partie II : Matériels et méthodes

I.1. Matériel

I.1.1. Matériel végétale

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



Figure 17 : Les feuilles des *Zizyphus lotus*.

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

I.2. Méthodes

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

Après récupération des plantes, les feuilles sont nettoyées, puis mises à sécher à l'abri de la lumière à température ambiante selon la méthode de Bougandoura et Bendimerad (2012) modifiée, l'extrait aqueux a été préparés à partir des feuilles pulvérisées.

L'extrait aqueux a été obtenu par la macération agitée durant 24h de 50g de poudre de l'échantillon dans un volume de 500 ml d'eau distillée, la phase aqueuse du macéré a été ensuite filtrée sur un papier filtre. Après filtration, l'extrait a été lyophilisé (Bougandoura et Bendimerad, 2012).

Le Lyophilisateur

Selon Dumais et Roux (2003), la lyophilisation (séchage à froid) est un procédé qui consiste à retirer l'eau d'un aliment afin de le rendre stable à la température ambiante et de faciliter sa conservation. On peut décomposer la lyophilisation en trois étapes principales :

- Congélation (-80°C ; 3h).
- Dessiccation primaire ou sublimation (20°C ; 24h).
- Dessiccation secondaire ou séchage finale (40°C ; 5h).

Le lyophilisat a été conservé au dessiccateur jusqu'à la reconstitution avec de l'eau distillée aux concentrations voulues pour l'utilisation (Dumais et al.,2003).



Figure 18 : Le Lyophilisateur (Université mentourie Constantine1(2016).

I.2.2. Préparation d'extrait méthanolique

L'extrait méthanolique est préparé par dissolution de 37,5 g de la matière végétale (la poudre fine de *Zizyphus lotus*) dans 500 ml de méthanol puis agitée. Après une macération de 24 heures à température ambiante. Le mélange est filtré. Le filtrat obtenu est évaporé à sec.

I.2.3. Analyse de l'extrait aqueux et méthanolique des feuilles du *Zizyphus lotus*

I.2.3.1. Analyse qualitative des extraits du *Zizyphus lotus*

I.2.3.1.1. Tests préliminaires

I.2.3.1.1.1. Test des composés phénoliques

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

I.2.3.1.1.2. Caractérisation des Flavonoïdes

Le test consiste à ajouter à 3ml d'extrait (EAq, EMet) quelques gouttes d'acide Chlorhydrique (HCl), puis quelques morceaux du magnésium (Mg). Une coloration orange implique la présence des flavonoïdes (Karumi et *al.*, 2004).

I.2.3.1.1.3. Caractérisation des tanins condensés

Pour détecter la présence des tanins, on ajoute à chaque extrait (EAq, EMet) quelques gouttes de FeCl₃ (Chlorure ferrique) à 1%. La couleur vire au bleu noir en présence de tanins galliques et au bleu verdâtre en présence de tanins catéchiques (tanins condensés) (Diallo et *al.*, 2004).

I.2.3.1.1.4. Différentiation des tanins

Précipitation par le réactif de Stiasny

A 15 ml de chaque extrait, on ajoute 8ml de réactif de Stiasny (formaldéhyde à 30% ; 2 volumes + HCl concentré ; 1 volume), On chauffe le mélange au bain-marie à ébullition pendant 30min. On note la présence de précipités, donc la présence des tanins condensés. On filtre, puis au filtrat on ajoute l'acétate de sodium jusqu'à saturation. Ensuite on met quelques gouttes de FeCl₃ à 2%. On obtient une coloration bleu-noire, donc la présence des tanins hydrolysables (Mamadou, 2002).

I.2.3.1.2. Chromatographie sur couche mince

La chromatographie sur couche mince qui est une technique de séparation des constituants d'un mélange complexe par entraînement à l'aide d'une phase mobile (solvant) le long d'une phase stationnaire (gel de silice), dont la séparation dépend des phénomènes d'adsorption et de partage. L'analyse des extraits aqueux et méthanolique du *Zizyphus lotus* a été réalisée sur des plaques de gel de silice avec indicateur de fluorescent (20x20cm, 60 F254) dans un système de migration butanol/acide acétique/eau à des proportions (48/12/28) selon la méthode de Diallo et al (2004) avec quelques modifications, les deux extraits ont été dissous dans leur solvant d'origine.

5 µl de chaque extrait et des standards quercétine, catéchine, naringénine, acide gallique, rutine (2mg/ml) sont déposés sur la plaque est ensuite introduite dans la chambre de migration préalablement saturée par la vapeur de la phase mobile.

Après développement, les plaques sont séchées, puis visualisées séparément par deux systèmes de révélation :

- ✓ révélation physique sous lampe UV à 254 nm.
- ✓ révélation chimique par une solution acide sulfurique, eau (50ml /50ml), pour la détection des composés phénoliques.

Les calculs de rapports frontaux (RF) des spots à été réalisé par l'application de la formule suivante :

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

I.2.3.2. Analyse quantitative des extraits (aqueux et méthanolique) des feuilles des *Zizyphus Lotus*

I.2.3.2.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux dans l'extrait des feuilles de *Zizyphus lotus* est effectué selon la méthode de Folin Ciocalteu (Wong et *al.*, 2006). Le réactif précédent est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$), il réduit lors de l'oxydation des phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (Boizot et Charpentier, 2006), A 200µl de l'extrait aqueux ou méthanolique est ajouté à 1 ml du réactif de Folin Ciocalteu (dilué 10 fois par l'eau distillée). Après 4 min, 800µl de Na_2CO_3 (75g/l) sont ajoutés et agités, l'ensemble est incubés à l'ombre pendant 2 heures. L'absorbance est lue à 765 nm par un spectrophotomètre, la concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique (0-200 µg /ml). Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalent d'acide gallique par un milligramme de l'extrait (µg EAG/mg d'extrait).

I.2.3.2.2. Dosage des Flavonoïdes

La méthode du trichlorure d'aluminium (Bahorun et *al.*, 1996) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les différents extraits du *Zizyphus lotus* ; 1 ml de chaque échantillon (préparés dans le méthanol pour les extraits organiques et l'eau distillée pour l'extrait aqueux) avec dilutions convenables sont ajoutés à 1 ml d' $AlCl_3$ 2%. Après 10 min d'incubation, l'absorbance est lue à 430 nm. Les concentrations des flavonoïdes sont déduites à partir des gammes d'étalonnage établies avec la quercétine (0-35µg/ml), et sont exprimées en microgramme d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait (µg EQ/mg).

I.2.3.2.3. Dosage des tanins condensés

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

Pour 400µl de l'échantillon ou standard, on ajoute 3ml d'une solution de vanilline (4% dans le méthanol), et 1.5 ml d'acide hydrochlorique concentré, le mélange est incubé durant 15 min et l'absorbance est lue à 500nm. Les concentrations des tanins condensés sont déduites à partir des gammes d'étalonnage établies avec la catéchine (0-300µg/ml), et sont exprimées en microgramme d'équivalent catéchine par milligramme d'extrait (µg ECT/mg).

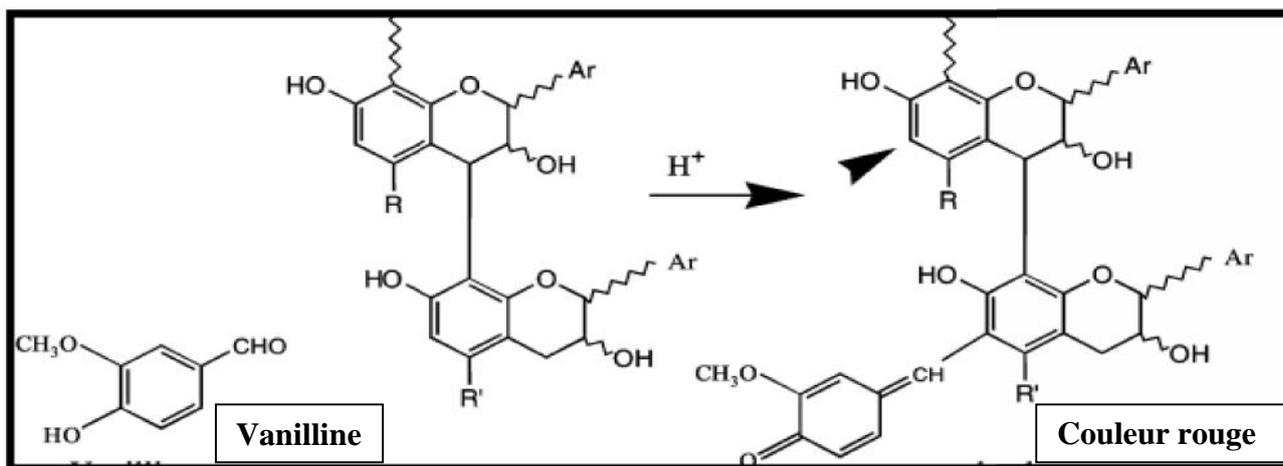


Figure 19 : La réaction entre la vanilline et les tanins condensés (Schofield et *al.*, 2001).

I.2.3.3. Activités biologiques

I.2.2.3.1. Activités antioxydantes

Afin d'étudier l'activité anti oxydante des différents extraits (aqueux et méthanolique), nous avons utilisé la méthode de phosphomolybdène (capacité antioxydante totale) de Prieto *et al* (1999). Cette technique est basée sur la réduction de molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate MoO_4^{2-} à molybdène Mo (V) MoO_2^+ en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate/ Mo(V) (phosphomolybdène) à pH acide.

Un volume de 0.1 ml de l'extrait aqueux et méthanolique (différentes dilutions 1 mg /ml, 0.5 mg /ml, 0.25mg/ml) est mélangé avec 1 ml de solution du réactif (0.6 M acide sulfurique, 28 mM phosphate de sodium et 4 mM molybdate d'ammonium). Les tubes sont vissés et incubés à 95°C pendant 90 min. Après refroidissement, l'absorbance des solutions est mesurée à 695 nm contre le blanc; la capacité antioxydante totale est exprimée en

milligramme équivalent d'acide ascorbique (mg EAA) à partir d'une gamme d'étalonnage réalisée par l'acide ascorbique (0.75 mg/ml,0.5mg/ml,0.25mg/ml) (voir annexe 03).

II. Etude de l'effet protecteur de l'extrait méthanolique du *Zizyphus lotus* sur la toxicité de plomb chez les rats

II.1. Choix du modèle expérimental

Le rat de laboratoire est un modèle expérimental couramment utilisé pour son disponibilité aussi pour ces données physiologiques qui sont importants. Cependant, quelques limites existent dans ce modèle.

II.2.matériel biologique et conditions d'élevage

Les 16 rats utilisés dans cette expérimentation sont des rats blanc femelles adultes de souche *wister*, pesant entre 152 et 218 g (au début de l'expérimentation). L'élevage des animaux a été réalisé pendant 8 jours dans 4 cages plastique qui sont tapissées d'une litière constituée de copeaux de bois; chaque cage regroupe 4 rattes au niveau de l'animalerie de l'université de Constantine1, Durant la période de cette expérimentation, Les rattes sont maintenues a une température 25 C° et une photopériode naturelle, nourris par un régime standard bien équilibré fabriqué par l'O.N.A.B (office nationale d'Aliment de Bétail, wilaya de Bejaia) (voir tableau 06)et boivent l'eau de robinet à volonté. Ils ont été traités conformément au principe énonces dans le manuel sur le soin et l'utilisation des animaux d'expérimentation.

Tableau 06: composition d'1 kg l'aliment (ONAB).

Matière alimentaire	Quantité d'aliment (%)
Maïs	42
Soja	26
CMV	3
son	6
cellulose	21
huile	2

II.3. Traitement des rats

Les rattes ont été repartis en 4 groupes de 4 rats chacun, il s'agit de :

- ✓ **Lot 01:** rattes témoins.
- ✓ **Lot 02:** rattes traitées par l'acétate de plomb à une dose de (50 mg /kg) par injection intra péritonéale chaque jour pendant 8 jours.
- ✓ **Lot 03:** rattes traitées par l'extrait méthanolique de *Zizyphus lotus* (200 mg /kg) avec une traitement par le plomb (50 mg/ kg) jusqu'à 8 jours.
- ✓ **Lots 4:** rattes traitées par l'extrait methanolique de *Zizyphus lotus* a une dose de (200 mg /kg) par gavage à l'aide d'une sonde gastrique chaque jour pendant 8 jours.



Figure 20 : l'injection intra-péritonéale.



Figure 21 : méthode de gavage.

II.4. Dissection et Prélèvement des organes

La dissection a été réalisée à la fin des expérimentations, dans le but de prélever les organes et faire des dosages de GSH, MDA.

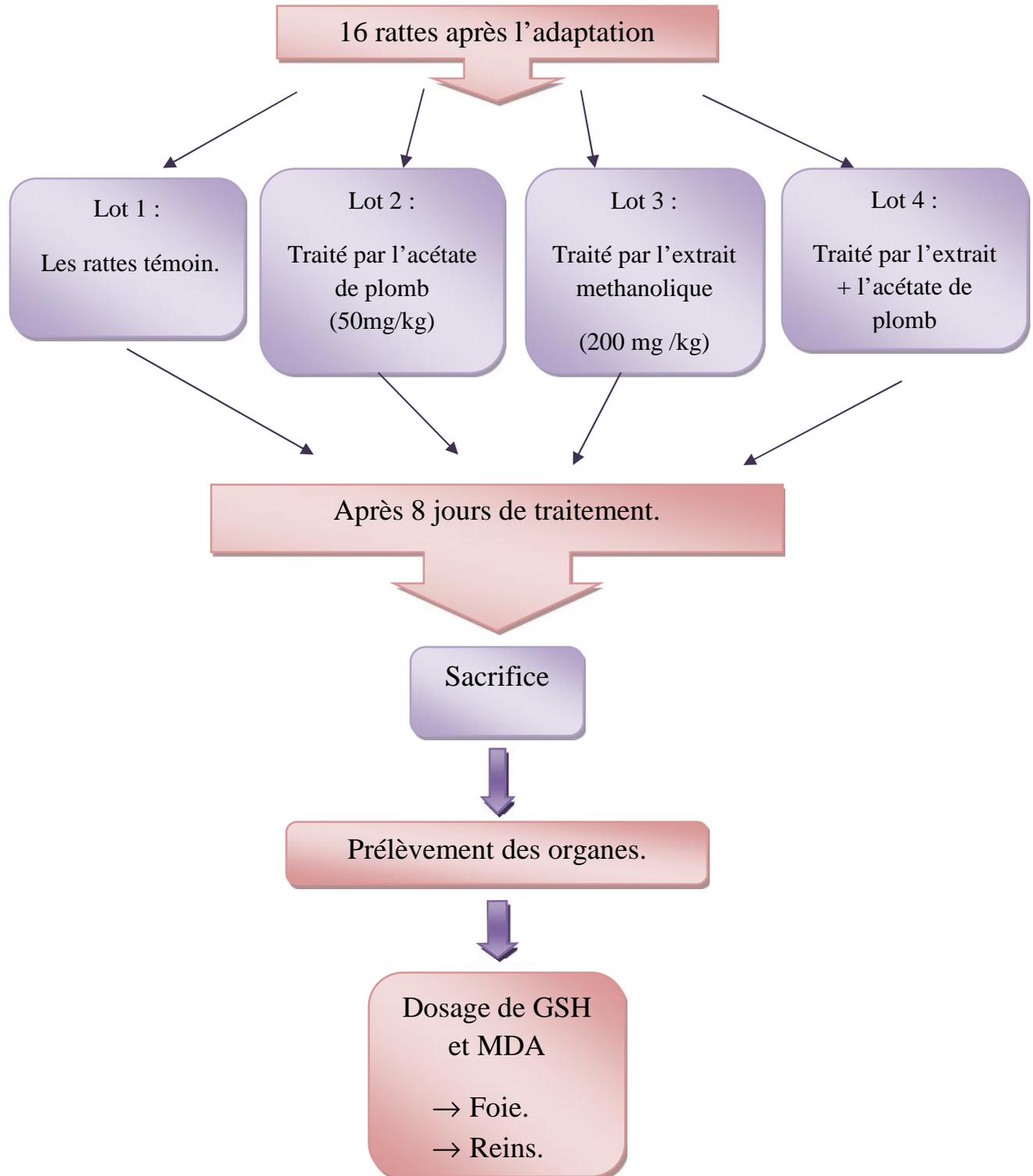


Figure 22: Schéma récapitulatif du protocole expérimental.

II.4.1.Prélèvement des organes

Les rats de chaque lot sont sacrifiés puis les organes (reins ; foie) sont soigneusement prélevés, rincés avec la solution du NaCl 9%; pesés ensuite ils sont stockés au congélateur pour le dosage des paramètres du stress oxydant.

II.4.2.Dosage des paramètres du stress oxydant

II.4.2.1.Préparation de l'homogénat

le dosage du glutathion (GSH) ; malondialdéhyde (MDA), a été fait au niveau du foie, des reins, 0.5 g de chaque tissu ont été mis en présence de 4 ml d'une solution TBS (Tris 50 mM, NaCl 150mM, Ph=7,4) puis ont été broyés à froid en utilisant un broyeur. On a procédé à une centrifugation de chaque suspension cellulaire (9000 tours /min, 4°C, 15 min), le surnageant obtenu est aliquoté dans des tubes eppendorfs et conservés à -20 C° en attendant d'effectuer les dosages des paramètres du stress oxydatif.

II.4.2.2.Dosages des protéines

La concentration de protéines est déterminée selon la méthode de Bradford (1976) qui utilise le bleu de Coomassie (G 250) comme réactif. Ce dernier réagit avec les groupements amines (-NH₂) des protéines pour former un complexe de couleur bleu. (L'apparition de la couleur bleue reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité correspond à la concentration des protéines).

Mode opératoire

- ❖ Prélever 0,1 mL de l'homogénat.
- ❖ Ajouter 5 mL du réactif de Bradford.
- ❖ Agiter et laisser reposer 5 min.
- ❖ Lire la densité optique à 595 nm, contre le blanc.

Calcul de la concentration

La densité optique obtenue est rapportée sur une courbe d'étalonnage préalablement tracée. La concentration des protéines est déterminée par comparaison à une gamme étalonnage d'albumine sérique bovine (1 mg/mL) réalisée dans les mêmes conditions. (Annexe 06).

II.4.2.3. Dosage du glutathion tissulaire

Principe

Le dosage du glutathion a été réalisé selon la méthode de Weckbecker et Cory (1988). Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance optique de l'acide 2-nitro-5-mercaptopurique. Ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoïque (réactif d'Ellman, DTNB) par les groupements (-SH) du glutathion pour cela une déprotéinisation de l'homogénat est indispensable afin de garder uniquement les groupements thiol spécifiques du glutathion.

Mode opératoire :

- ❖ Prélever 0,8 ml de l'homogénat.
- ❖ Déprotéiniser en ajoutant 0,2 ml d'une solution d'acide sulfosalicylique (SSA) 0,25 %.
- ❖ Agiter le mélange et laisser pendant 15 minutes dans un bain de glace.
- ❖ Centrifuger à 1000 tours/min pendant 5 min.
- ❖ Prélever 0,5 mL du surnageant.
- ❖ Ajouter 1 mL du tampon Tris + NaCl, pH 7.4.
- ❖ Mélanger et ajouter 0,025 ml de l'acide 5,5 dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) à 0,01 M (dissous dans le méthanol absolu).
- ❖ Laisser pendant 5 min à température ambiante pour la stabilisation de la couleur qui se développe instantanément.
- ❖ Lire les densités optiques à 412 nm contre le blanc réactif.

Calcul de La concentration

La concentration du glutathion est obtenue par la formule suivante :

$$\text{GSH (nmol /mg protéines)} = \frac{\text{DO} \times 1 \times 1,525}{13100 \times 0,8 \times 0,5 \times \text{mg protéines}}$$

- ✓ D0 : Densité optique.
- ✓ 1 : Volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation (0.8mL homogénat + 0.2 mL de l'acide salicylique).
- ✓ 1.525 : Volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau du Surnageant (0.5 mL surnageant + 1 mL Tris + 0.025 mL DTNB).
- ✓ 13100 : Coefficient d'absorbance du groupement -SH à 412 nm.
- ✓ 0.8 : Volume de l'homogénat.
- ✓ 0.5 : Volume du surnageant.

II.4.2.4. Dosage du malondialdéhyde (MDA)

Principe

Le MDA est l'un des produits terminaux formés lors de la décomposition des acides gras polyinsaturés (PUFA) médiées par les radicaux libres. Dans notre étude, les taux du MDA hépatique et rénal ont été évalués selon la méthode d'Ohkawa et al (1979). Le dosage repose sur la formation en milieu acide et chaud (100 °C) entre le MDA et l'acide thiobarbiturique (TBA) d'un pigment coloré absorbant à 530 nm, extractible par les solvants organiques comme le butanol.

Mode opératoire

- ❖ Prélever 0,5 mL de l'homogénat.
- ❖ Ajouter 0,5 mL d'acide trichloracétique (TCA) 20 %.
- ❖ Ajouter 1 mL d'acide thiobarbiturique (TBA) 0,67 %.
- ❖ Mélanger et incuber au bain marie à une température de 100 °C pendant 15 min.
- ❖ Refroidir et additionner de 4 mL de n-butanol.
- ❖ Centrifuger pendant 15 minutes à 3000 tours/min.
- ❖ Récupérer le surnageant, et lire la densité optique à 530 nm contre le blanc. **(annexe 5)**

Calcul de la concentration du MDA

La quantité du MDA dans l'échantillon est exprimée en nM/gramme de tissu (foie ou reins). Elle est obtenue grâce à une courbe standard réalisée avec du 1,1',3,3'-tetraethoxypropane faite dans les mêmes conditions. **(voir annexe 07)**.

Analyse statistique

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

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

Partie III : Résultats et discussion

II.1.Préparation des extraits aqueux et méthanoliques des feuilles du *Zizyphus lotus*

La préparation de l'extrait Aq et Met à partir des feuilles du *Zizyphus lotus* a été effectuée selon la méthode Bougandoura et al. (2012) modifiée. Cette méthode est basée sur l'utilisation des solvants polaires (eau ; méthanol).

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

Tableau 07 : Aspect et couleur de l'extrait Aqueux et méthanolique des feuilles du *Zizyphus lotus*

Extrait	Aspect	Couleur
Aq	Poudre	Marron clair
Met	Pate	Marron foncé

II.2.Analyse des extraits polaires des feuilles du *Zizyphus lotus*

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

II.2.1.1. Tests préliminaires

Le tableau ci-dessous représente les différents tests de caractérisation de quelques métabolites secondaires dans EAQ et EMet: polyphénols, flavonoïdes et tanins.

Tableau 08 : Résultats des tests préliminaires de quelque métabolite secondaire d'EAQ du *Zizyphus lotus*.

Métabolites testés	Remarques	Résultats
Flavonoïdes	Couleur orange claire	+
Tanins	Couleur bleu verdâtre	+++
Tanins condensés	Formation de précipité	+
Tanins hydrolysables	Couleur Bleu-noir	±
Composés phénoliques	Couleur Bleu verdâtre	+

Tableau 09 : Résultats des tests préliminaires de quelque métabolite secondaire d'EMet du *Zizyphus lotus*.

Métabolites testés	Remarques	Résultats
Flavonoïdes	Couleur orange	+ +
Tanins	Couleur bleu verdâtre	+
Tanins condensés	Formation de précipité	+++
Tanins hydrolysables	Couleur Bleu-noir	++
Composés phénoliques	Couleur verdâtre	+++

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

Les essais phytochimiques effectués sur l'EAq et EMet des feuilles de *Zizyphus lotus* ont révélé la présence des flavonoïdes, dont la couleur orange claire désigne la présence des flavonoïdes de type flavones.

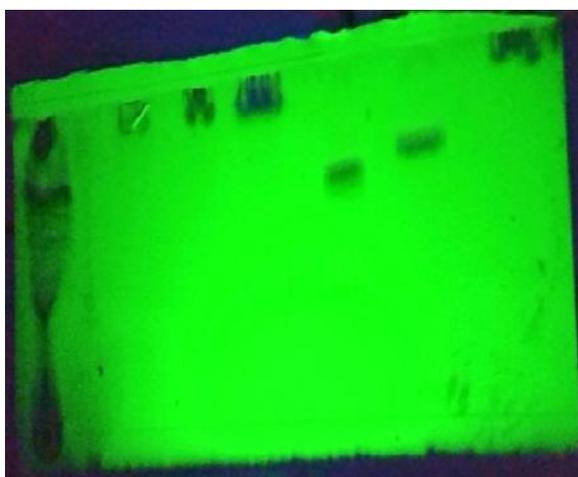
L'apparition de la couleur bleu verdâtre (test de FeCl₃) reflète la présence des tanins catéchique.

Pour la séparation entre les deux types des tanins (tanins condensés et tanins hydrolysables), le test Stiasny a été réalisé où les résultats confirment la présence des tanins condensés et montrent la présence des tanins hydrolysables.

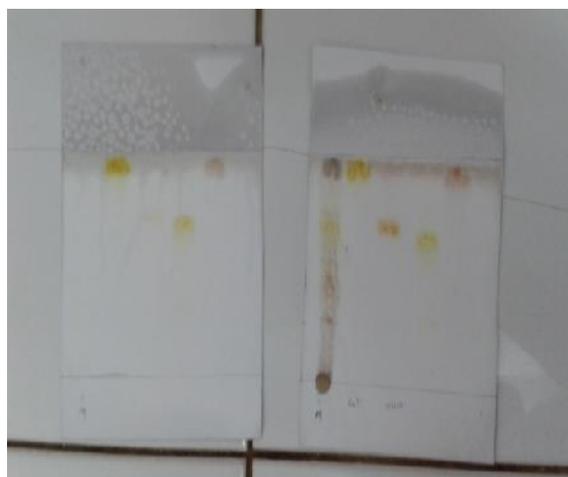
Tous ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Borgi et *al.* (2007(a,b)), où l'analyse phytochimique faite sur l'EAq et EMet des feuilles a donné des résultats positifs pour les flavonoïdes, les tanins.

II.2.1.2. Chromatographie sur couche mince

Nous avons soumis nos extraits méthanoliques et aqueux à une analyse chromatographique sur couche mince pour une caractérisation partielle des extraits du *Zizyphus lotus* par l'utilisation de système de migration (BAW) butanol-acide acétique - eau (48/12/28).



Révélation UV 254nm.



Révélation par l'acide sulfurique/eau.

Figure 23: Chromatographie sur couche mince d'EAq et EMet des feuilles du *Zizyphus lotus* (de gauche à droite : EMet, EAq, CA, Q, AG, Rut, Nar et AC).

Tableau 10 : Rapports frontaux et couleurs des spots après révélation.

standard	RF	Couleur après révélation	
		Acide sulfurique /eau	Lamp UV 254nm
Quercétine.	0.91	Jaune.	sombre.
Acide gallique.	0.91	mauve.	sombre.
Rutine.	0.66	Orange foncé.	Vert foncé.
Cathéchine.	0.90	Orange claire.	Vert.
Acide Coumaric	0.92	/	Sombre.
Naringénine	0.70	Verdâtre.	Vert.
L'extrait Methanolique	0.38	Mauve.	Claire.
	0.56	Jaune.	Claire.
	0.63	Orange.	Claire.
	0.7	Verdâtre	Oronge.
	0.91	Verdâtre.	Verdâtre.
L'extrait Aqueux	0.37	Tache claire.	/

Après révélation par la lampe UV 254nm et l'acide sulfurique trois tâches sont détectées pour l'extrait Methanolique et une seule tache pour l'extrait Aqueux.

La mesure des rapports frontaux de chacune des tâches de l'EMet révèle que l'une des tâches correspond à l'acide gallique et la quercétine (RF=0.91), ceci est confirmé par le rapport frontal de spot (RF= 0.91).

Pour l'EAq, une seule tache (RF=0.37), cette dernière ne correspond à aucun standard.

II.2.2. Analyse quantitative des extraits Aq et Met des feuilles du *Zizyphus lotus*

Afin de caractériser l'extrait aqueux et méthanolique préparés à partir des feuilles de *Zizyphus lotus*, des dosages des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés ont été effectués.

Le choix du dosage de ces substances réside dans le fait que la majorité des propriétés antioxydantes des plantes leur sont attribuées, La méthode du dosage des polyphénols totaux est celle de Folin –Ciocalteu (Wong et al., 2006). L'acide gallique a été utilisé comme standard, Pour les flavonoïdes le dosage a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium (Baharun et al., 1996), en utilisant comme standard la quercétine, enfin celui des tanins condensés a été effectué selon la méthode de vanilline (Broadhurst et Jones, 1978), modifiée par Heimler et al. (2006), en utilisant la catechine comme standard. Les résultats sont représentés dans le **tableau 11**. Les gammes d'étalonnage dans les **figures 24, 25, 26**.

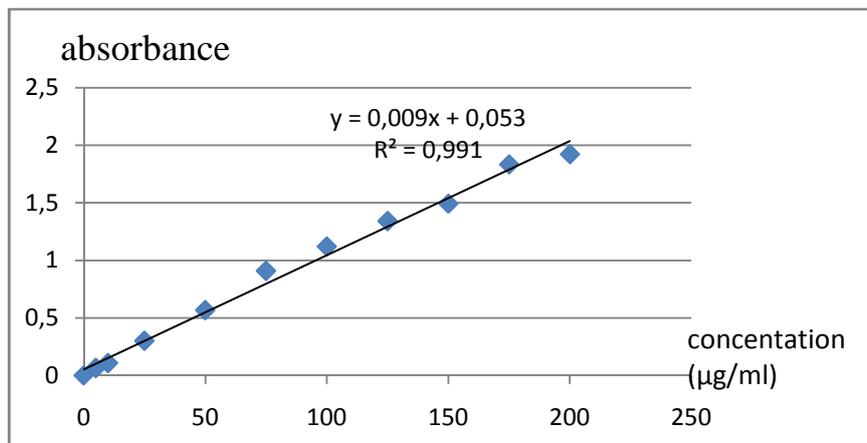


Figure 24 : Gamme d'étalonnage d'acide gallique

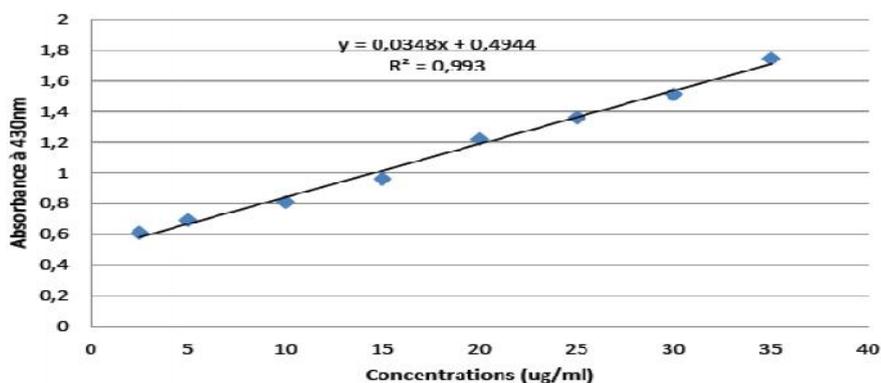


Figure 25 : Droite d'étalonnage de la quercétine (moyenne \pm SD de deux essais).

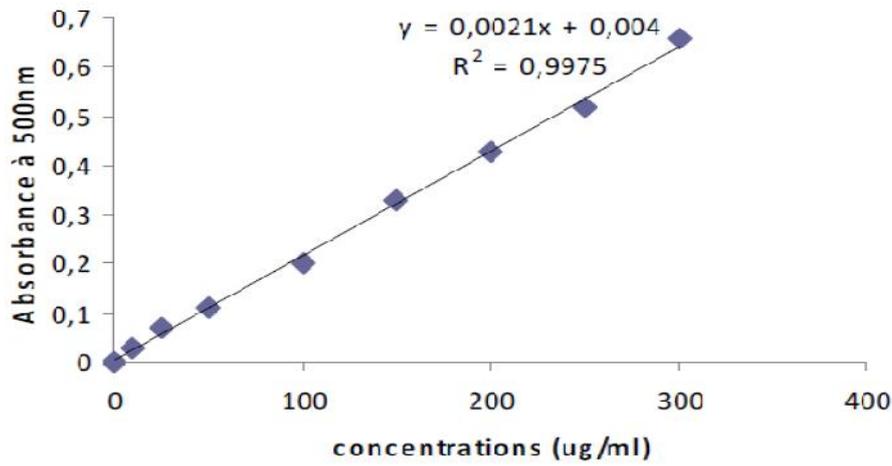


Figure 26 : Droite d'étalonnage de la catéchine (moyenne \pm SD de deux essais).

Tableau 11 : Teneur des composés phénoliques.

Extrait	Polyphénols ^(a)	Flavonoïdes ^(b)	Tannins ^(c)
Aqueux	63.91 \pm 7.123	28.48 \pm 1.290	0.34 \pm 0.1732
Méthanolique	381.6 \pm 13.11	34.91 \pm 3.250	19.67 \pm 1.155

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

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

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

Les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures \pm SD.

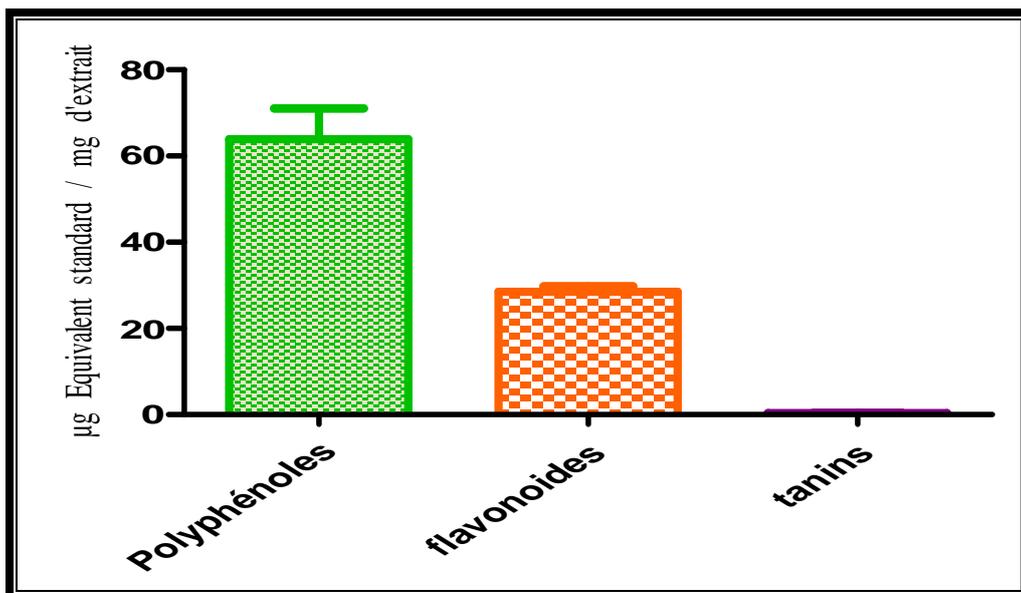


Figure 27: Teneur des composés phénoliques, tanins, flavonoïdes en μg Eq standard /mg d'extrait aqueux.

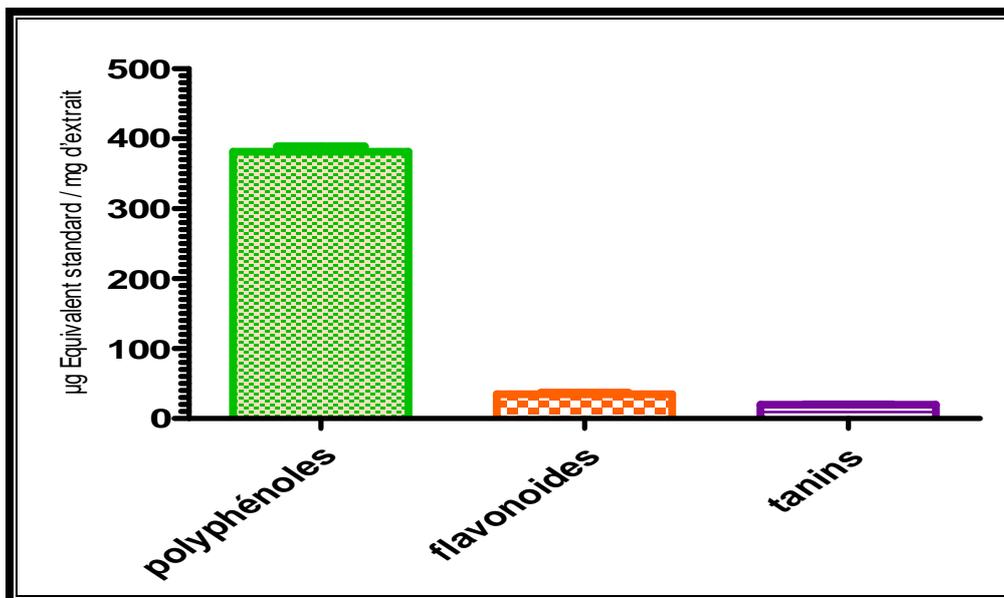


Figure 28: Teneur des composés phénoliques, tanins et flavonoïdes en µg Estandard /mg d'extrait methanolique.

Les résultats de dosage montrent la présence des polyphénols, des flavonoïdes, et des tanins condensés dans l'EMet et EAq dont la teneur en flavonoïdes est supérieure à celle des tanins condensés.

Par comparaison avec l'étude faite par (Amany *et al.*, 2013) sur le dosage des polyphénols des feuilles de *Zizyphus spina christi* ($0.0722 \pm 0.012 \mu\text{g}/\text{mg}$), les extraits Met et Aq des feuilles de *zizyphus lotus* apparaît plus riche en polyphénols ($381.6 \pm 13.11 \mu\text{g EAG}/\text{mg}$; 63.91 ± 7.123) et aussi avec les résultats obtenus par Sazzad *et al* (2015) ($97.188 \pm 12.816 \text{ mg EAG}$). La teneur des flavonoïdes et tanins de l'extrait méthanolique de *zizyphus lotus* est de $34.91 \mu\text{g EQ}/\text{mg}$, $19.67 \mu\text{g EAG}/\text{mg}$ respectivement qui sont des valeurs supérieures avec celles obtenues par MD.Sazzad *et al* (2013) ($15.009 \pm 0.385 \mu\text{g EQ}/\text{mg}$) avec l'extrait méthanolique des feuilles de *zizyphus rugosa* Lam, et aussi avec les résultats obtenus par Bakchiche *et al* (2013) ($18.73 \pm 4.59 \text{ mg EAG}$), Alors pour le taux des flavonoïdes dans notre extrait aqueux apparaît plus riche (28.48 ± 1.290).

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

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

II.2.3. Activités biologiques

II.2.3.1. Activités antioxydantes

II.2.3.1.1. Technique de phosphomolybdène

La mise en évidence du pouvoir antioxydant des extraits (aqueux et méthanolique) des feuilles de *Zizyphus lotus* a été réalisée par la technique chimique (la capacité antioxydante totale) qui est une mesure de degré de réduction de Mo (VI) à Mo (V).

La méthode de Phosphomolybdène est une analyse quantitative pour étudier la vitesse de réaction de réduction entre un antioxydant, un agent oxydant qui est le ligand de molybdène. Elle implique en générant la chaleur l'auto-oxydation pendant la période d'incubation prolongée à température plus élevée. Il donne une estimation directe de la réduction de la capacité d'anti-oxydante, dont l'intensité de la couleur (DO) reflète le pouvoir réducteur ou l'activité antioxydante.

Pour la concentration (0.5mg/ml et 1mg/ml), l'EMet apparaît le plus actif avec une différence très hautement significative ($p \leq 0.001$).

Alors pour les concentrations (0.25 mg/ml et 0.5mg/ml) pour l'extrait Met et la vitamine C aucune différence significative a été remarquée, ce qui confirme le pouvoir antioxydant puissant de cet extrait.

D'après le profil (**voir annexe 01**) il y a une corrélation entre les différentes concentrations de l'EAq et l'activité antioxydante par équivalence en vitamine C mais non significative $R^2 = 0.73$.

Pour l'EMet il y a une corrélation significative ($R^2=0.97$) entre les différentes concentrations et l'activité antioxydante par équivalence en vitamine C. (**voir annexe 02**).

D'après ces corrélations il est évident que l'activité antioxydante des extraits polaires des feuilles de *Zizyphus lotus*.

D'après les résultats de l'analyse quantitative il y a une relation entre la teneur en polyphénols, flavonoïdes et tanins dont l'EMet le plus riche par ces molécules est révélé le plus actif (**annexe 04**).

En effet, l'extrait méthanolique des feuilles de *Zizyphus lotus* révèle une meilleure capacité antioxydante totale par rapport à l'extrait aqueux, ce qui est confirmé par Sun et al (2007) qui ont montré que le méthanol reste le solvant le mieux choisi pour extraire les antioxydants d'une plante.

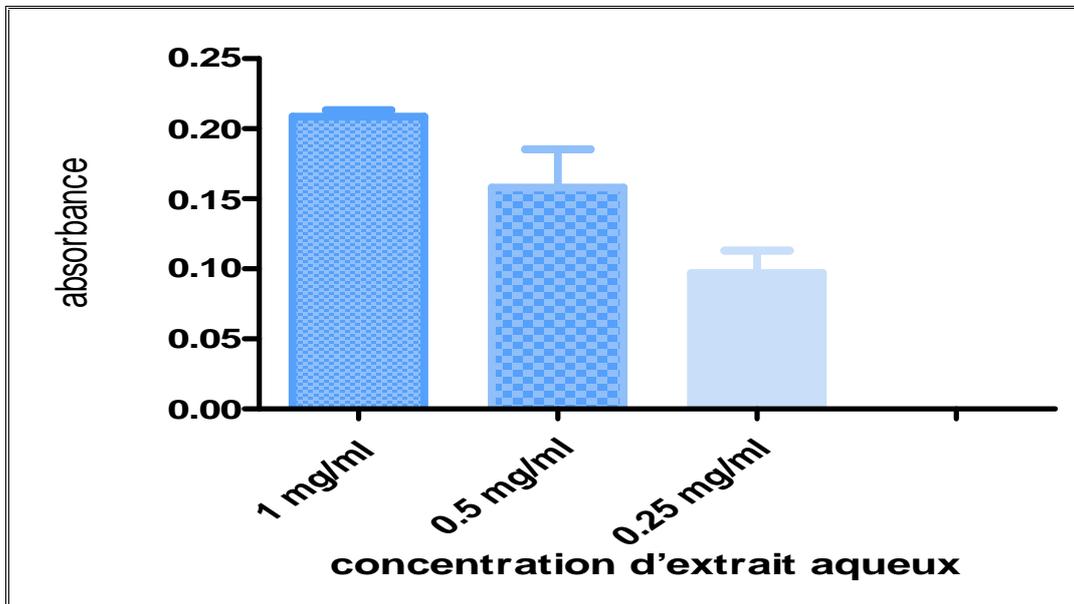


Figure 29 : Histogrammes présent l'ABS des différentes concentrations de l'extrait aqueux.

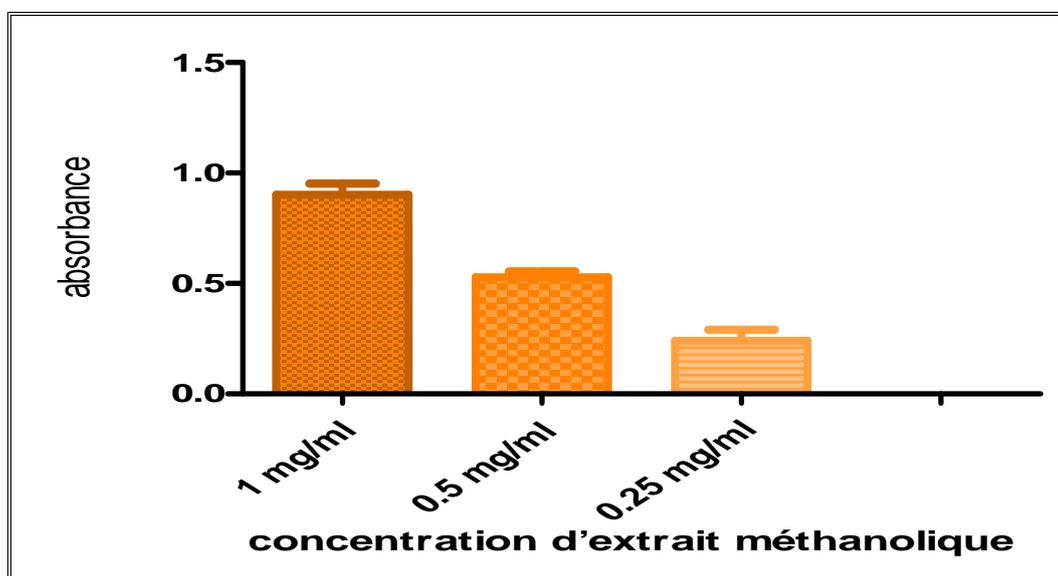


Figure 30: Histogrammes présent l'ABS des différentes concentrations de L'extrait methanolique.

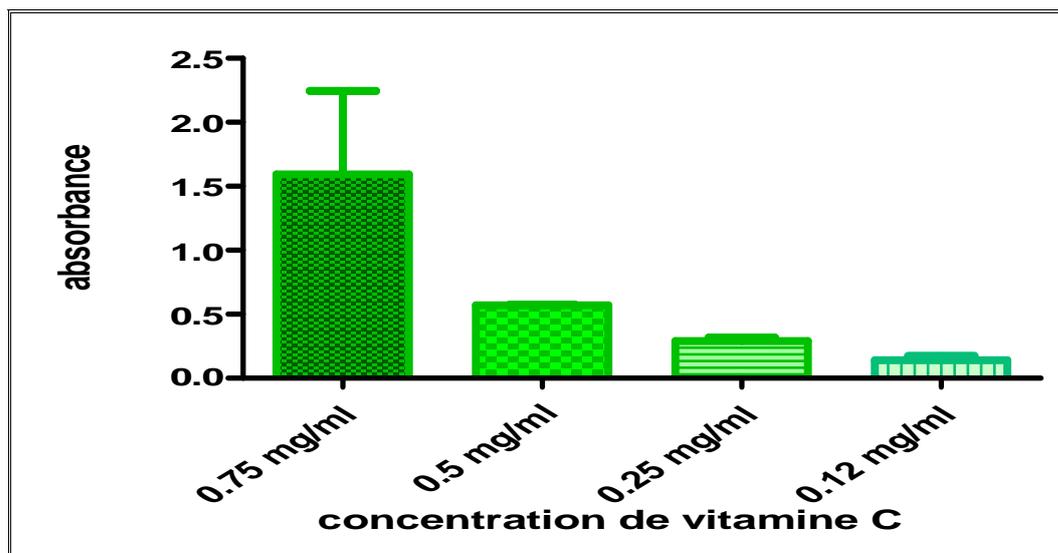


Figure 31: Histogrammes présent l'abs des différentes concentrations du Vitamine C

II.3. Etude de l'effet protecteur d'extrait méthanolique de *Zizyphus lotus* contre le stress oxydants induit par le plomb

En considérant les résultats des analyses quantitatives et les résultats de l'activité antioxydante par la méthode de phosphomolybdène où l'extrait méthanolique est appaissent le plus riche en polyphénols, flavonoïdes et tanins et le plus active par comparaison avec l'extrait aqueux, on a choisi l'extrait méthanolique pour les analyses in-vivo.

II.3.1. Influence du traitement sur les variations du poids corporel

Le traitement des rats par l'acétate de plomb n'a produit aucun signe apparent de toxicité/mortalité. Nos résultats montrent l'existence d'une diminution non significative du poids corporel, et une diminution du gain du poids chez les 2 lots traités par l'acétate de plomb et la combinaison (Pb/EMet) par rapport au témoin, alors pour le lot traité par l'EMet on note une augmentation du gain de poids par rapport le témoin (**annexe 08**).

On note une augmentation dans le gain du poids de façon non significative chez les lots traités par la combinaison (Pb/EMet) en comparant au lot traité par l'acétate de plomb seul.

Concernant l'évaluation de la toxicité du plomb, les résultats de notre expérimentation suggèrent que l'administration d'acétate de plomb comme agent stressant, fait diminuer la croissance corporelle par rapport à celle des témoins, ceci est en accord avec les constatations

de Hammond et al (1980), cet effet peut être expliqué par l'action du plomb sur le transport des éléments nutritifs (glucose, les minéraux essentiels comme le fer...) par le sang et par conséquent, ils peuvent induire une mauvaise assimilation des aliments par le corps. Hammond et al (1980).

L'augmentation du gain de poids chez le lot traité par la combinaison par rapport au lot traité par le plomb peut être due à l'effet protecteur de l'EMet contre la dégradation des lipides et protéines par suite de la toxicité du plomb et à la qualité nutritionnelle de l'extrait MET qui est très riche en métabolites primaires et secondaires (86,21%) (Boual et al., 2015)

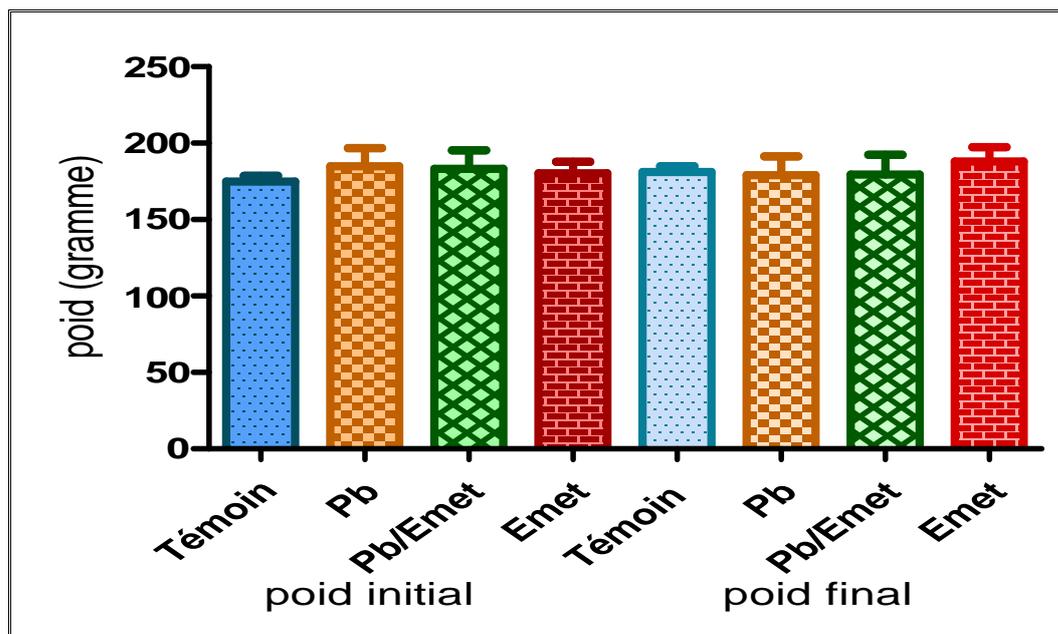


Figure 32: variation du poids corporel en (g) chez le lot témoin et les lots traités par le plomb, combinaison (Pb/EMet) et l'extrait méthanolique après 8 jours du traitement.

II.3.2. Influence du traitement sur les variations de la teneur hépatique et rénal en GSH

Les résultats montrent une diminution non significative de la teneur hépatique en glutathion GSH, chez les 3 lots: traités par le plomb (- 42.45%), l'extrait méthanolique de zizyphus lotus (- 12.25%) et la combinaison (Pb/EMeth) (-9.4%) par rapport aux témoins.

Par contre on note une augmentation non significative chez le lot traité par la combinaison (Pb/EMet) comparativement au lot traité par le plomb seul (+55%).

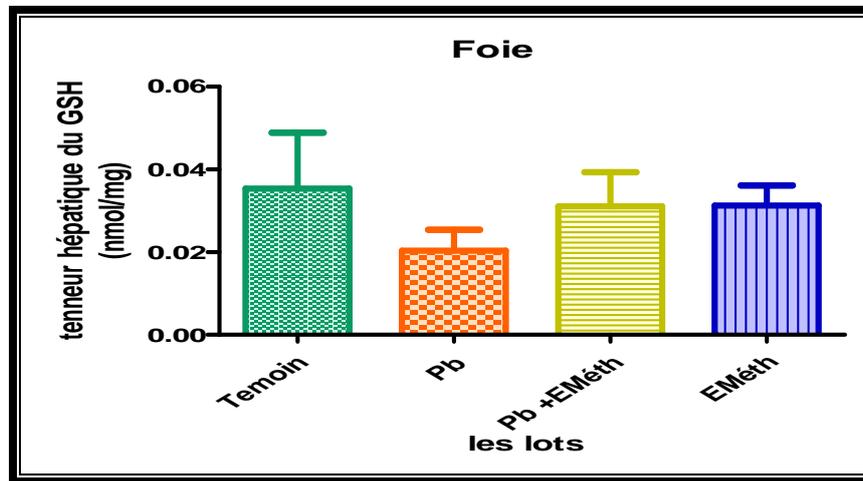


Figure 33: la teneur hépatique en glutathion (GSH) chez les rattes témoins et traitées par l'acétate de plomb et EMet et la combinaison (EMet/Pb) après 8 jours de traitement.

Nous remarquons aussi une diminution non significative de la teneur rénal en glutathion chez les rattes traitées par le plomb (-23.056) et par la combinaison (Pb /EMeth) (-12.926), en revanche nous avons enregistré une augmentation non significative, chez le lot traité par l'extrait méthanolique (+5.676) par rapport au témoin, et on remarquons aussi une augmentation non significative chez le lot traité par la combinaison (Pb/EMet) par comparaison avec le lot traité par le plomb (+16.66%) (annexe 09)

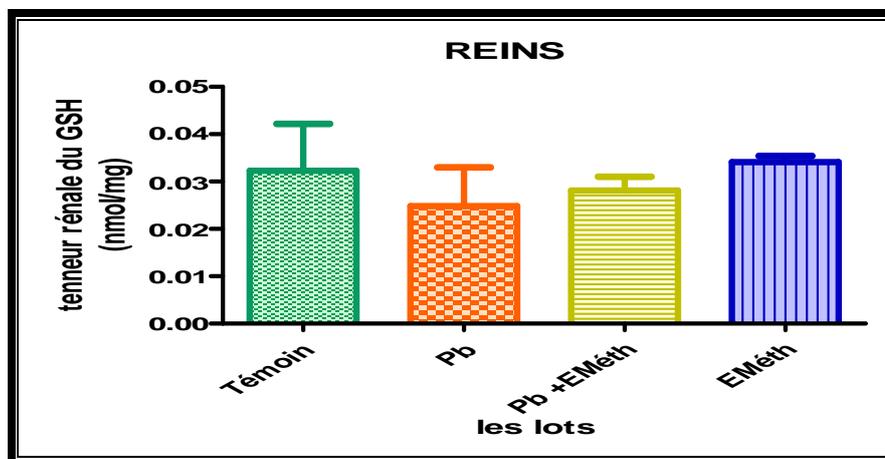


Figure 34: la teneur rénal en glutathion(GSH) chez les rattes témoins et traitées par l'acétate de plomb et extrait Met et la combinaison (EMet/pb).

Le glutathion est une protéines très riches en groupements thiol, il est de basse masse moléculaire, il agit comme un antioxydant physiologique de protection dans des systèmes biologiques (Fatima et Mahmood, 2007). De même, le GSH est un élément crucial du mécanisme de défense antioxydant, fonctionne comme un capteur de radicaux libres (Romão

et *al.*, 2006), L'exposition prolongée au plomb s'accompagne d'une diminution en glutathion et en groupements sulfhydriles (Skoczynska, 1997)

Après le traitement des rattes par l'acétate de plomb (50 mg/ kg) pendant 8 jours, les résultats montrent une diminution non significative des niveaux de glutathion dans le foie et les reins chez les rattes traités par le plomb. Cette baisse de GSH peut être expliquée par sa participation de GSH dans les réactions de détoxication des ROS et des métaux lourds (le plomb) ou par l'inhibition de la glutathion synthétase (GS) par le plomb (Zhu BT et *al.*, 1994).

L'augmentation des niveaux de glutathion tissulaire chez les rattes traitées par la combinaison (Pb /EMet) peut être expliquée par l'activité antioxydante du zizyphus lotus ou les molécules actives de l'extrait méthanolique participent dans la diminution de stress oxydatif résultant de l'effet toxique du Pb.

II.3.3. Influence du traitement sur les variations de la teneur hépatique et rénal en malondialdéhyde

Les résultats révèlent que la concentration de MDA hépatique est augmentée de façon non significative (+38.71%) pour le lot traité par le plomb, et (+14.05%) chez les rattes traitées par la combinaison de l'extrait et le plomb, cette concentration de MDA diminue chez le lot traitée par l'extrait méthanolique de façon non significative (-7.16%) par rapport au lot témoin, et on remarque aussi une diminution non significative chez le lot traité par la combinaison (Pb/EMet) par comparaison avec le lot traité par le plomb(-17.77%) (annexe10)

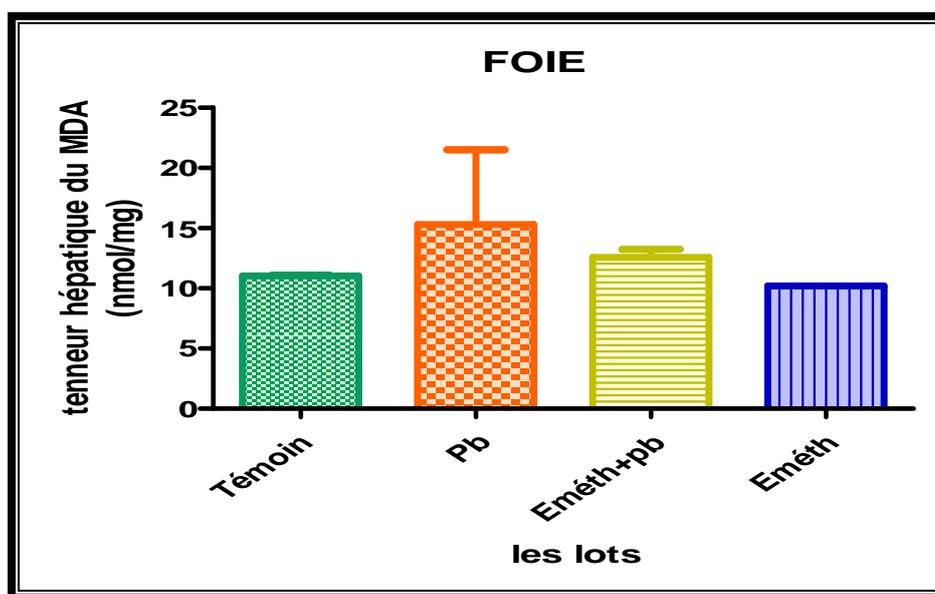


Figure 35: la teneur hépatique de MDA chez les rattes témoins et traitées par l'acétate de plomb et l'extrait méthanolique et la combinaison (EMet/Pb).

Les résultats montrent une augmentation non significative de la teneur rénal en MDA, chez les 2 lots traités par le plomb (+ 60.89%) et la combinaison (Pb/EMet) (+39.68%) en revanche nous remarquons une diminution de teneur de MDA chez les rattes traitées par l'extrait méthanolique de zizyphus lotus (- 7.40%) par rapport aux témoins.

D'autre part il y a une diminution non significative chez le lot traité par la combinaison (Pb/EMet) par comparaison avec le lot traité par le plomb (-13.18%).

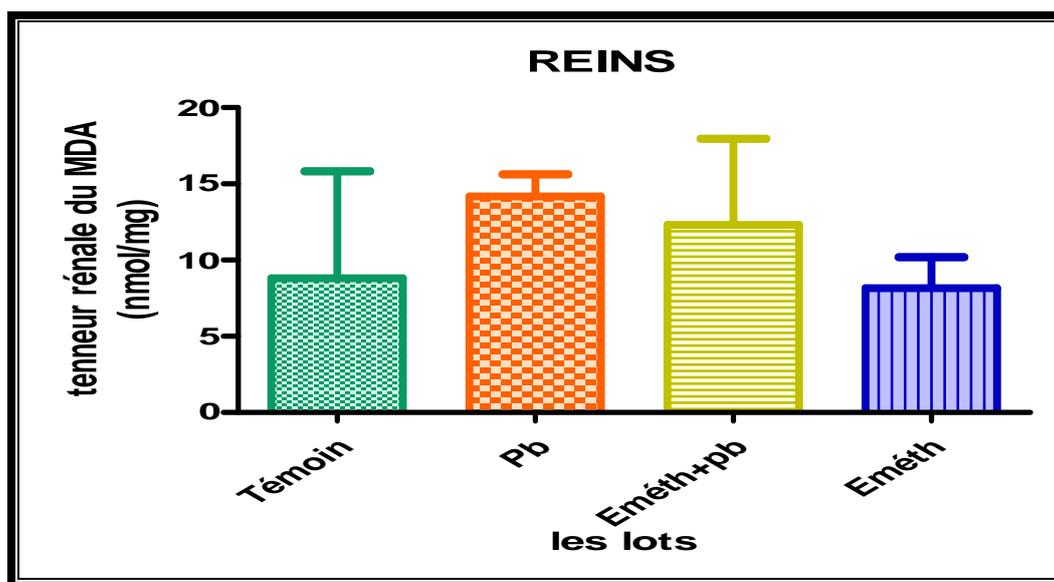


Figure 36: la teneur rénal de MDA chez les rattes témoins et traitées par l'acétate de plomb et l'extrait méthanolique et la combinaison (EMet/Pb).

La peroxydation lipidique est l'effet le plus anciennement connu des radicaux libres et le plus simple à mesurer, les dérivés de l'oxydation lipidique sont les composés les plus souvent étudiés lorsque l'on recherche un stress oxydant (Goudable et Favier, 1997). Le stress oxydant est caractérisé par les ROS qui induisent la peroxydation lipidique, la malondialdéhyde est un produit secondaire généré au cours de l'oxydation des acides gras polyinsaturés. (Misra et *al.*, 2009).

Après le traitement des rattes par l'acétate de plomb (50 mg/ kg) par injection intra-péritonéal pendant 8 jours, les résultats montrent une augmentation non significative des niveaux de l'MDA dans le foie et les reins chez les rattes traitées par le plomb. Cette augmentation expliquée par le rôle catalyseur de plomb dans les réactions de peroxydation lipidique (Christie et Costa, 1984; Yiin et Lin, 1995; Shafiqur- Rehman et *al.*, 1995; Sandhir

et Gill, 1995; Gurer et *al.*, 1998), potentiellement responsable de la toxicité du plomb sur différents organes.

La diminution de la teneur de MDA après traitement des rattes par l'extrait Met du *Zizyphus lotus* est expliquée par l'effet antiperoxydant des molécules actives de l'extrait méthanolique qui est très riches en polyphénols, ces derniers sont reconnus par leur activité antioxydante intense.

Conclusion générale et perspective

Conclusion général et perspectives

L'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale, elle trouve de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, et l'agriculture.

L'étude des propriétés anti-oxydantes de l'extrait aqueux et méthanolique des feuilles du *Zizyphus lotus* nous a permis d'obtenir des résultats intéressantes in vitro et in vivo.

Dans un premier temps, l'analyse qualitative de l'extrait méthanolique et aqueux obtenus des feuilles du *Zizyphus lotus*, a mis en évidence la présence des composés phénoliques, des flavonoïdes, des tanins dans ces deux extraits, alors que l'analyse effectuée par chromatographie sur couche mince a montré la présence de la quercétine et l'acide gallique dans l'extrait méthanolique.

L'analyse quantitative de l'extrait du *Zizyphus lotus* est représentée par le dosage spectral des trois substances bioactives : les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins.

Les résultats montrent que l'extrait le plus riche en polyphénols est l'extrait méthanolique qui est utilisé par la suite dans l'analyse in vivo.

L'une des techniques utilisées pour étudier l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique et aqueux est la méthode de phosphomolybdène qui a révélé que l'extrait méthanolique possède une activité antioxydante importante.

Dans un deuxième temps, notre étude in vivo montre que l'administration de l'acétate de plomb à 50mg/kg de poids corporel par injection intrapéritonéale chez les rats pendant 8 jours, a provoqué des effets hépatotoxiques et néphrotoxiques. Nos résultats montrent que l'addition de l'extrait méthanolique du *Zizyphus lotus* avec l'acétate de plomb a amélioré la plupart des paramètres étudiés.

L'étude physiologique montre :

- ✓ Une diminution du poids corporel durant la période de traitement chez les rats traités par le plomb par rapport aux témoins.

L'étude des dosages des marqueurs GSH et MDA :

- ✓ Le dosage de biomarqueur du stress oxydant (glutathion, malondialdéhyde) a permis une meilleure caractérisation de l'effet antioxydant de l'extrait méthanolique vis-à-vis la toxicité du plomb.

- ✓ Les résultats obtenus ont permis de mettre en évidence l'action protectrice de l'extrait de feuille de *Zizyphus lotus* et sa capacité à moduler les effets toxiques causés par le plomb.

Cette recherche nécessite d'autres études approfondies pour mieux se concentrer sur les effets révélés. Il serait souhaitable de développer cette étude en mesurant d'autres paramètres du statut antioxydant (SOD, catalase,...). Il serait intéressant aussi de déterminer la distribution et la concentration du plomb dans le sang, les urines et quelques organes cibles (en particulier le foie et les reins). Des études à l'échelle moléculaire sont nécessaires pour déterminer d'une part les composés actifs du *Zizyphus lotus*, et d'autre part le mécanisme par lequel ces composés accomplissent leur rôle.

Références bibliographiques

Références bibliographique

-A-

- **Adzu B., Amos S., Amizan MB., Gamaniel K.** (2003). Evaluation of the antidiarrheal effects of *Zizyphus spina-christi* stem bark in rats. *Acta Tropica*, 7:245-250.
- **Amany M., Basuny., Shaker M., Arafat and Hoda A., Farag.** (2013). Utilisation from fruits and leaves of Napek (*Zizyphus spina-christi* L.) as a source of bioactive components. *International Journal of Chemical and Natural Science*, 1 :29-36.
- **Ami D., Davidovi -Ami D., Bešlo D., et Trinajsti N.** (2003). Structure–Radical scavenging activity relationships of flavonoids. *CROATICA CHEMICA ACTA CCACAA.*, 76 (1) : 55-61
- **Amdur M.O., Doull J., Klaassen C.D.** (1996). - Lead. In : Casarrett and Doull's Toxicology , 5 e ed, New York, McGraw-hill.
- **Atefeibu E.S.I .** (2002). Contribution a l'étude des tanins et de l'activité antibacterienne d'Acacia Nilotica Var Andesonii .Thèse de Doctorat, université cheikh Anta Diop de Dakar.33p
- **ATSDR.**, Case Studies in Environmental Medicine, Lead Toxicity, (Oct. 2000).
- **ATSDR.** Toxicological profile for lead. U.S. Department of health and human services. Public Health Service. Agency for Toxic Substances and Disease Registry 2007; 582 pages.

-B-

- **Bahorun T., Gressier B ., Trotin F., Brunete C ., Dine T ., Vasseur J ., Gazin JC ., Pinkas M., Luycky M.** (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts of phenolic extravts from haworthon fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-Forschung*, 46:1086-1089.
- **Baillar JC., Emeleus HJ., Nyholm R., Trotmen-Dickenson AF.** (1973). Comprehensive inorganic chemistry. Pergamon Press ed., Oxford.
- **Bakchiche B., Gherib A., Smail A., Cutodia G and Graca M.** (2013). Antioxidant activities of eight Algerian plant extracts and two essential oils. *Industrial Crops and Products*, (46):85– 96.
- **Barry PSI.** A comparison of concentrations of lead in human tissues. *Br J Ind Med.* 1975; (32): 119–139.
- **Bayer, E., and Butter, K.** (2000). Guide de la flore méditerranéenne p. 280.
- **Bettaieb rebey., J. Sriti., B. Besbess., K. Mkaddmini hammi, I., Hamrouni sellami, B., Marzouk, R., Ksouri.** (2016). Effet de la provenance et du solvant d'extraction sur la

teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes des graines de fenouil (*Foeniculum vulgare* Mill.), 27(4), 2286-5314.

- **Bjelakovic G., Nikolova D., Simonetti RG., Gluud C.** *Cochrane Database Syst Rev.* (2004) Oct 18;(4):CD004183.
- **Boizot Net Charpontier J. P.** (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le Cahier des Techniques de l'Inra*, 79-82.
- **Bonnefont-Rousselot D., Thérond P., Delattre J.** (2003). Radicaux libres et antioxydants. En : Delattre J., Durand G., Jardillier J-C. *Biochimie pathologique*. Flammarion, Paris. 317p
- **Borgi W., Ghedira K., et Chouchane N.** (2007(a)). Anti-inflammatory and analgesic activities of *Zizyphus lotus* root barks. *Fitoterapia*, 78:16-19.
- **Borgi W., Ghedira K and Chouchane N.** (2007(b)) Antiulcerogenic activity of *Zizyphus lotus* (L.) extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 112: 228–23.
- **Borgi W., Recio M-C., Rios J-L., Chouchane N.** (2008). Anti-inflammatory and analgesic activities of flavonoid and saponin fractions from *Zizyphus lotus* (L.) Lam. *South African Journal of Botany*, 14:320-324.
- **Bougandoura N., et Bendimerad N.** (2012). Effet antifongique des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. (*Nepeta*) briq. *Revue des BioRessources*, 2 :1-7.
- **Bradford, M.** (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein binding. *Anal. biochem.* 72 :248-254.
- **Bronner W. E. and Beecher G. R.** (1995) Extraction and measurement of prominent flavonoids in orange and grapefruit juice concentrates. *J. Chromatog. A*; 705: 247-256.
- **Bross J.** (2000). *Larousse des arbres et des arbustes*. Larousse (Ed) Canada .576p.
- **Bruneton J.** (1999). *Pharmacognosie phytochimie, plantes médicinales*, (3e éd). Tec & Doc (Ed). Paris, 1120 p.
- **Burnol, A., Duro, L. M.** (2006). Recommandations pour la modélisation des transferts des éléments traces métalliques dans les eaux souterraines. Rapport final, BRGM/RP-52910 – FR, 73pp.

-C-

- **Cadet J., Bellon S., Berger M., Bourdat A.G., Douki T., Duarte V., Frelon S., Gasparutto D., Ravanat JL., Sauvaigo S.** (2002). Recent aspects of oxidative DNA

damage: guanine lesions, measurement and substrate specificity of DNA repair glycosylases. *Biol. Chem.* 383(6): 933-943.

- **Catoire, C., Henri, Z., and Bouet, C.** (1999). Dossier et article édité par fruits oubliés jujubes et jujubier.
- **Cetkovic G., Canadanovic-Brunet J., Djilas S., Savatovic S., Mandic A., Tumbas V.** (2008). Assessment of polyphenolic content and in vitro antiradical characteristics of apple pomace. *Food Chemistry*, 109:340-347.
- **Chavan U-D., Shahidi F., Naczk M.** (2001). Extraction of condensed tannins from beach pea (*Lathyrus maritimus* L.) as affected by different solvents. *Food Chemistry*, 75: 509-512.
- **Chien LC., Yeh CY, Lee HC., Jasmine Chao H, Shieh MJ, Han BC.** (2006). Effect of the mother's consumption of traditional Chinese herbs on estimated infant daily intake of lead from breast milk. *Science of The Total Environment* 354: 120-126.
- **Christie NT., Costa M.** (1984). In vitro assessment of the toxicity of metal compounds. *Biol Trace Elem Res* 6: 139-158.
- **Christensen J M et Kristiasen C.** (1994). Lead in handbook on metals in clinical and analytical chemistry. Ed. SHG. Seiller. A. Sigel and H. Sigel. Marcel Dekker, Inc., New York, Basel, Hong Kong. 283-297.
- **Claudine, R.** (2007). Le nom de l'arbre : le grenadier, le caroubier, le jujubier, le pistachier et l'arbousier. Actes sud leMajan, 1^{er} édition France, p. 45-62.
- **Cowan M. M.** (1999) Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin. Microbiol.* 12: 564-582
- **Crozier, A., Clifford, M.N., Ashihara, H.** (2006). Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet. Edt Blackwell Publishing Ltd.
- **Curtay J-P & Robin J-M.** (2000). Intérêt des complexes antioxydants. *Nutri-thérapie INFO*. 6p.

-D-

- **Dacosta Y.** (2003). Les phytonutriments bioactifs. (Ed) Paris. 317p.
- **Dangles O., Stoeckel C., Wigand MC., Brouillard R.** (1992). Two very distinct types of anthocyanin complexation: Copigmentation and inclusion. *Tetrahedron Lett.* 1992, 33: 5227-30.
- **De Bruyne T., Pieters., Deelstra H., Vlietink A.** (1999). Condensed vegetable tannins: Biodiversity and biological activities. *Biochemical Systematics and Ecology*, 27: 445-459.

- **Diallo D ., Sanogo R ., Yasambou H ., Traré A ., Coulibaly K ., Maïga A.** (2004). Etude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam. (Rhamnaceae) utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali. *C.R.Chimie*, 7 : 1073-1080.
- **Caraballoso M., Sacristan M., Serra C., Bonfill X.** (2003). Drugs for preventing lung cancer in healthy people. *Cochrane Database Syst* ; (2):CD002141. (abstract accessible en ligne) Antioxidant supplements for preventing gastrointestinal cancers.
- **Dumais O et Roux J-L.** (2003). lyophilisation. 2p .

-E-

- **EFSA.** (2010). Scientific Opinion on Lead in Food. *EFSA Journal* (8): 1570.

-F-

- **Fatima S., Mahmood R.** (2007) Vitamin C attenuates potassium dichromate-induced nephrotoxicity and alterations in renal brush border membrane enzymes and phosphate transport in rats. *Clin Chim Acta* ; 386(1-2) : 94-9.
- **Favier A.** (2003) Le stress oxydant: intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'Actualité chimique*; 108-117.
- **Favier A.** (1997). Le stress oxydant : intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. *Ann. Bio. Clin.* 55(1): 9-16.
- **Finaud J., Lac G., Filaire E.** (2006). Oxidative Stress. Relationship with Exercise and Training. *Sports med.* 36(4): 327-358.
- **Fritch H., Griesbach H.** (1975). Biosynthesis of cyaniding in cell cultures of *Haploppappus gracilis*. *Phytochem*, 14: 2437-42.

-G-

- **Ghedira K., Chemli R., Caron C., Nuzillard J-M., Zeches M., Le Men-Olivier L.** (1995). Four cyclopeptide alkaloids from *Zizyphus lotus*. *Phytochemistry* ,38 :767-772.
- **Glombitza KW., Mahran GH., Mirhom YW., Michel KG., Motawi TK.** (1994). Hypoglycemic and antihyperglycemic effects of *Zizyphus spina-christi* in rats. *Planta Med* 60:244-247.
- **González-Gallego J., Sánchez-Campos S. et Tuñón M. J.** (2007). Anti-inflammatory properties of dietary flavonoids. *Nutricin hospitalaria*, 22 (3) : 287-293.
- **Goto M., Ueda K., Hashimoto T., Fujiwara S., Matsuyama K., Kometani T., Kanazaw K.** (2008). A formation mechanism for 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine mediated by peroxidized 2'-déoxythymidine. *Free Radical Biology and Medicine*. 45: 1318-1325.

- **Goudable J1, Favier A.** (1997). Radicaux libres oxygènes et antioxydants. *Nutr Clin Metabol*; 11(2) : 115-20.
- **Grandjean D.** (2005). Comprendre le stress oxydatif cellulaire chez le chien. *Le Nouv. Prat. Vét.* 22: 11-15.
- **Grisham M. B., McCord J. M.** (1986). Chemistry and cytotoxicity of reactive oxygen metabolites. In "Physiology and oxygen radical" AE Taylor, S Matalon, Ed PA Ward. Bethesda. *American Physiology Society.* 1-18.
- **Gulson B.L. et al.** (1998). Relationship of lead in breast milk to lead in blood, urine and diet of the infant and mother, *Environmental Health Perspectives* ; 106(10) : 667-674.
- **GURER H., OZGUNES H., NEAL R., SPITZ DR., ERCAL N.** (1998). Antioxidant effects of N-acetylcysteine and succimer in red blood cells from lead-exposed rats. *Toxicology*, 128: 181-189.

-H-

- **H. A. Godwin.** (2001). *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 5, 223.
- **Halliwell, B.** (1996). Antioxydants in human health and disease. *Annu. Res. Nutr.*, 16 : 33-50.
- **Halliwell, B. and Gutteridge, J. M.** (1990). "Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview." *Methods Enzymol* 186: 1-85.
- **Hattori I., Nakamura H., Masutai H et al.** (2003). Thioedoxin-dependent redox regulation – implication in aging and neurological diseases. Critical review of oxidative stress and aging. RG Cutler and H Rodriguez Eds. *World Scientific.* Vol II pp 87 – 101.
- **Heimler D ., Vignolini P ., Giulia Dini M ., Francesco Vincieri F and Rmani A.**(2006). Antiradical activity and polyphenol composition of local Brassicaceae edible varieties. *Food Chemistry*, 99:464-469.
- **Heller W., Forkmann G.** (1986). The flavonoids. Advances in research since. In Harborne JB. Secondary Plant Products. Encyclopedia of plant physiology. Ed. Chapman & Hall, London, 1993, 399-425.
- **Hellström-Lindberg E., Björklund A., Karlson-Stiber C., Harper P., Seldén A.I.** (2006). Lead poisoning from souvenir earthenware. *Int Arch Occup Environ Health*; 79: 165-168.
- **Hodek, P., Trefil, P., Stiborova, M.** (2002) Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. *Chemico-Biological Interactions.* 139: 1- 21.

-I-

- **IARC.** (1980). Monographs on the evaluation of carcinogenic risks of chemicals to humans. Some metals and metallic compound. Lyon, Centre international de recherche sur le cancer, vol. 23, pp. 325-415.
- **Igor Passi L B.** (2002). Etude des activités biologiques de *Fagara zanthoxyloides* Lam.(*Rutaceae*). Thèse Pharmacie, Bamako ; 133 P.
- **Ibels L.S., Pollock C.A.,** Lead intoxication, *Medical Toxicology*, 1986 ; 1 (6) : 387-410.

-J-

- **Jacques B., and André R.** (2004). *Biochimie métabolique* Ed ellipses .Paris. pp: 217-219- 220-223-225.
- **JC ., Pinkas M., Luycky M.** (1996).Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts of phenolic extracts from haworthon fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-Forschung*, 46:1086-1089.
- **Jürgen R., Paul .S., Ulrike S., and Reinhard S.** (2009). Essential Oils of Aromatic Plants with Antibacterial, Antifungal, Antiviral, and Cytotoxic Properties– an Overview: *Forsch Komplementmed.*16: 79–90.

-K-

- **Kaminsky P., Klein M., Duc M.** (1993). Physiopathologie de l'intoxication par le plomb inorganique. *Rev Med Interne*; 14: 163–170.
- **Kandra L., Guémant G., Zajacz A., Batta G.** (2004). Inhibitory effects of tannin on human salivary -amylase. *Biochemical and Biophysical Research Communication*, 319: 1265-1271.
- **Karaali A., Boyacio lu D., G nez G. et zçelik B.** (2004). Flavonoids in fruit and vegetables : their impact on food quality, nutrition and health–STREP or CA. European commision's the 6th framework programme for research. Istanbul technical university. Turkey.
- **Karabín M., Tereza Hudcová., Lukáš Jelínek., Pavel Dostálek.** (2015). Biotransformations and biological activities of hop flavonoids. Department of Biotechnology, Faculty of Food and Biochemical Technology, University of Chemistry and Technology, Prague, Technická 5, 166 28 Prague 6, Czech Republic.

- **Karumi Y., Onyeyili P.A., Oyugbuaja V.O.** (2004). Identification of active principals of *M. Balsamia* (Balsam Apple) leaf extract. *J.Med.Sci.*4 (3) ,179 -182.
- **Kasprzak .S.** (1985). hoover k.l., poirier l. A - Effects of dietary calcium ace tate on lead subacetate carcinogenicity in kidneys of male Sprague-Dawley rats. *Carcinogenesis.* 6, 2, pp. 279-282.
- **Khare CP** (1995) Zizyphus jujube In “ Encyclopedia of Indian Medicinal Plants”. Springer, New York.
- **Kim H. P., Son K. H., Chang H. W. et Kang S. S.** (2004). Anti-inflammatory plant flavonoids and cellular action mecanisms. *Journal of Pharmacological Sciences.*, 96 (3) : 229-245.
- **Kohen R., Nyska A.** (2002). Oxidation of biological systems: Oxidative stress phenomena antioxidants, redox reactions and methods for their quantification. *Toxicolo Pathol.*,30: 620-650.

-L-

- **Lahlou, M., ElMahi, M., and Hammouchi, J.** (2002). Evaluation of antifungal and molluscicidal activities of Moroccan Zizyphus lotus L. Desf, *Annales pharmaceutiques françaises*, 60:410-414.
- **Latte LP, Kolodziej H.** (2000). Antifungal effects of hydrolysable tannins and related compounds on dermatophytes, *mould fungi and yeasts.* *Naturforsch.*, 5 (5-6): 467-72.
- **Laurewys R.R.** (1983). - Biological monitoring of exposure to inorganic and organometallic substances. Lead. *Industrial Chemical Exposure Guidelines for Biological Monitoring.* Davis, Biomedica Publ, 27-38.
- **Lauwerys R.R.** (1990). *Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles*, Masson
- **Lauwerys R.** (1990). *Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles*, 3e éd. Paris, Masson, pp. 198-228.
- **Le Crouéour G ., Thèpenier P ., Richard B ., Petermann C ., Ghédira K ., Zéches-Hanrot M.**(2002). Lotusine G :a new cyclopeptide alkaloid from *Zizyphus lotus.**Fitoterapia*,73:63-68.
- **Leopoldini M., Russo N., Toscano M.** (2011). The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. *Food Chemistry.* 125:288–306.
- **Levin R.** (1986). *Reducing Lead in Drinking Water: A Benefit Analysis.* Washington, DC. US EPA.

- **Lievre K.** (2004). Modification de la composition en molécules pharmaceutiques (furanocoumarines) de la Rue officinale (*Ruta graveolens*) par transformation génétique. Thèse de doctorat, 197p.
- **Li K., Geng x., Simonsen J., Karchesy J.** (2004). Novel wood adhesives from condensed tannins and polyethylenimine. *Internationa Journal of Adhesion and Adhesives*, 24:327-333.
- **Lutge U., Kluge M and Bauer G.** (2002). Botanique 3ème Ed : Technique et documentation.Lavoisier .Paris. 211p.

-M-

- **Macheix J J., Fleuriet A. et Jay-Allemand C.** (2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed Presses *polytechnologiques et universitaires romandes* : 4-5.
- **Macheix J J.,fleuriet A and Billot J.** (1990).fruit phenolics.CRC press,Boca Raton.p1-28.
- **Maciuk A.,Lavaud C ., Thépentier P., Jacquier M-J ., Ghédira K .,Zèche-Hanrot.** (2004).Four New Dammarane Saponins from Zizyphus lotus .*Journal of Natural Products*,67 :1639-1643.
- **Mamadou B.** (2002).Actions pharmacologiques des tanins .Thèse de doctorat. Université cheikh Anta Diop de Dakar.53p.
- **Marfak A.** (2003). Radiolyse Gamma des Flavonoïdes. Etude de Leur Réactivité avec Les Radicaux issus des Alcools : Formation de depsides. Thèse de doctorat. Université de LIMOGES.187 p
- **Martin S., Andriantsitohaina R.** (2002) Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*. 51: 304-315.
- **Middleton, E., Kandaswami, C., Theoharides, T.C.** (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol Rev*, 52: 673-839
- **Milane, H.,** (2004) La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat. Strasbourg.
- **Misra DS., Maiti R., Ghosh D.** (2009). Protection of swimming-induced oxidative stress in some vital organs by the treatment of composite extract of *Withania Somnifera*, *Ocimum Sanctum* and *Zingiber Officinalis* in male rat. *Afr J Tradit Complement Altern*; 6(4) : 534 43.

- **Montenegro de Matta SS., Delle Monache F., Ferrari F., Marini-Bettolo GB.** (1976). Alkaloids and procyanidins of an *Uncaria sp.* from Peru. *Farmaco. Sci.*, 31: 5227-35.

-N-

- **Nagendran B., Kalyana S and samir S.** (2006). phenolic compounds in plants and agriindustrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *foodchemistry*; 99:191-203.
- **Narayana K. R., Reddy M. S., Chaluvadi M. R. et Krishna D. R.** (2001). Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian journal of pharmacology*, 33 : 2-16.
- **Nijveldt, R. J., Nood, E., Hoorn, D. E., Boelens, P. G., Norren, K., Leeuwen, P.** (2001). Flavonoids: A review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am. J. Clin Nutr*, 74 : 418–425.
- **Notomo H., Ligo M., Hamada H., Kojima S., Isuda H.** (2004). Chemoprevention of colorectal cancer by grape seed proanthocyanidin is accompanied by a decrease in proliferation and increase in apoptosis. *Nutr. Cancer*, 49 (1): 81-8.

-O-

- **Ohkawa H., Ohishi N., Yagi K.** (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* ; 95(2) : 351-8.

-P-

- **Paolini V., Dorchie Ph., Hoste H.** (2003). Effet des tanins condensés et des plantes à tanins sur les strongyloses gastro-intestinales chez le mouton et la chèvre. *Alter. Agri.*, 17 19.
- **Paris R et Dillemann G.** (1960). Les plantes médicinales des régions arides. *Unesco* (Ed). Paris.99p.
- **Parmar, N.S., Ghosh, M. N.** (1980) Current trends in flavonoid research. *Ind. J. Pharmac.*12: 213-228
- **Pascal P.** (1963). Nouveau traité de Chimie Minérale. Tome VIII, 3è fascicule, Masson et Cie, ed., Paris.
- **Peronny S.** (2005). La perception gustative et la consommation des tannins chez le MAKI (Lemur Catta).Thèse de Doctorat du Muséum national d’histoire naturelle, *Discipline Eco-Ethologie* .151p.

- **Picman A-K ., Schneider E –F ., Picman J.** (1995). Effect of flavonoids on mycelial growth of *verticillium albo-atrum*. *Biochemical Systematics and ecology*, 23:683-693.
- **Pietta, P.G.** (2000) Flavonoids as antioxidants. *Journal of natural products*. **63**: 1035-1042.
- **Piquemal G.** (2008). Les flavonoïdes (en ligne) http://www.detoursante.com/index.php?Option=com_content&view=article&id=166&Itemid=215.
- **Peronny S.** (2005). La perception gustative et la consommation des tannins chez le MAKI (Lemur Catta). These de Doctorat du Museum national d'histoire naturelle. *Discipline Eco- Ethologie*. 151p.
- **Prieto, P., Pineda, M., & Aguilar, M.** (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex : specific application to the determination of vitamin E. *Anal Biochem*, 269: 337–341.
- **Pottier P, Alapetite G.** (1981). “Flore de la Tunisie”. Programme Flore et Végétation Tunisiennes, *Publications Scientifiques Tunisiennes*, Tunis.

-Q-

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

-R-

- **Ramirez DC., Gomez-Mejiba SE., Corbett JT., Deterding LJ., Tomer KB., Mason RP.** (2008). Cu/Zn-Superoxide Dismutase-driven Free Radical Modifications: Copper- and Carbonate Radical Anion-initiated Protein Radical Chemistry. *Biochemical Society*. 10: 1-25.
- **Rekhila A.** (2003). Bilan toxicologie du plomb chez les ouvriers de l'entreprise nationale de production d'accumulation E. N. P. C, Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme universitaire appliquée (D. E. U. A).
- **Remsey C., Manach C.** (1996). Texier O. and Regerat F. Intérêt nutritionnel des flavonoïdes. *Med. Nutr*; 32: 17-27.
- **R. L. Boeckx.** (1986). *Anal. Chem*, 58, 275A.
- **Romaol., Tovar J., Fonseca SG., Moraes RH., Cruz AK., Hothersall JS., Noronha-Dutra AA., Ferreira SH., Cunha FQ.** (2006). Glutathione and the redox control system trypanothione/trypanothione reductase are involved in the protection of *Leishmania* spp. Against nitrosothiol-induced cytotoxicity *Braz J Med Biol Res*; 39(3) : 355-363.

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

-S-

- **Salvayre R, Auge N, and Nègre-Salvayre A.** (2003) Rôle de l'oxydation dans la genèse et la progression de l'athérosclérose. In *L'athérosclérose : Physiopathologie, Diagnostics, Thérapeutiques.*, J.-F. Toussaint, M.-P.
- **Sandhir R., Gill kd.** (1995). Effect of lead on lipid peroxidation in liver of rats. *Biol Trace Element Res* 48: 91-97.
- **Sarni-Manchado P., Cheynier V.** Les polyphénols en agroalimentaire, Ed. Lavoisier (Tec & Doc), Paris, 2006, 300-398.
- **Sazzad hossain., Nizam Uddin., A.F.M., Mahmudul Islam., A.H.M. Nazmul Hasan., Monir Hossain., Mohammad Raquibul Hasan. Md., Farhan Khalik., Md.**
- **Sohel Rana** (2015). evaluation of in vitro antioxidant and brine shrimp lethality activities of different stem extracts of *Zizyphus rugosa* Lam 9 :454-462.
- **Settle D., Patterson C.** (1980). Lead in albacore: Guide to lead pollution in Americans. *Science* 207: 1167-1176.
- **Schofield P., Mbugua D-M and Pell A N.** (2001). Analyses of condensed tannins: a review *Animal Food and Technology*, 91:21-40.
- **Shafiq-UR-Rehman S., Chandra ., Abdulla M.** (1995) Evaluation of malondialdehyde as an index of lead damage in rat brain homogenates. *Biometals* 8: 275-279.
- **Skoczynska A.** (1997). Lipid peroxidation as a toxic mode of action for lead and cadmium. *MedPr* 48: 197-203.
- **Sorge O.** (2004). Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality, *Comptes Rendus Biologies*, 327: 649-662.
- **Sposito G.** (1989). The chemistry of soils. Oxford University Press, New York.

-T-

- **Tapas A. R., Sakarkar D. M. et Kakde R. B.** (2008). Flavonoids as nutraceuticals. *Topical journal of pharmaceutical research.*, 7 (3) : 1089-1099.
- **Tiqwari, A. K.** (2001). Imbalance in antioxidant defence and human diseases : Multiple approach of natural antioxidants therapy. *Current science.*, 81 (9) : 1179-1181.
- **Tu Y.C., Lian T.W., Yen J.H., Chen Z.T., Wu M.J.** (2007) Antiatherogenic effects of kaempferol and rhamnocitrin. *J. Agric. Food Chem.*, 55(24), 9969-9976.

-U-

- **Ulanowska K., Traczyk A., Konopa G., Wegrzym G.** (2006). Differential antibacterial activity of genistein arising from global inhibition of DND, RNA and protein synthesis in some bacterial strains. *Arch. Microbiol.* 184 (5): 271-8.
- **Uno, K. and S.J. Nicholls.** (2010). "Biomarkers of inflammation and oxidative stress in atherosclerosis." *Biomark Med* 4: 361-373.

-V-

- **Vansant G.** (2004). Radicaux libres et antioxydants : principes de base. *Ed Institut Danone.*
- **Venugopal B., Luckey T.D.** (1974). - Toxicology of non-radioactive heavy metals and their salts. In : COULSTON F., KORTE F. (eds) - *Heavy metal toxicity safety and hormonology*, vol. 1, Stuttgart, suppl., pp. 4-74.
- **Voack C., Kayasseh L., Galeazzi R.L.** (1993): Bleivergiftung nach Anwendung von «Hausspezialitäten». *Schweiz Med Wochenschr* 123: 2198-2210

- W-

- **Weckbeker. G. and Cory, J.G.** (1988). Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathion-depleted mouse leukaemia L 1210 cells in vitro. *Cancer letters.* 40, 257-264.
- **W –Erdman J., Balentine J. D., Arab L., Beecher G., Dwyer J. T., Folts J., Harnly., Hollman J. P., L –Keen C., Mazza G., Messina M., Scalbert A., Vita J., Williamson G. et Burrowes J.** (2007). Flavonoids and heart health : Proceeding of the ILSI North America flavonoids workshop, may 31-june 1, 2005, Washington. *Journal of Nutrition.*, 137 (3 supp 1) : 718 s-737.
- **Winkel-Shirley B.** (2001). Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. *Plant Physiology.*, 126 : 485-493.
- **Wong S-P., Leong L-P and William Koh J-H.** (2006). Antioxidant activities of extracts of selected plants. *Food chemistry.* 99:775-783.

-Y-

- **Yiin SJ.** (1995). Lin TH. Lead-catalyzed peroxidation of essential unsaturated fatty acid. *Biol Trace Element Res* 50 : 167-172.
- **Yamanaka N., Samu O., Nagao S.** (1996). Green tea catechins such as (-) epicatechin and (-) epigallocatechin accelerate Cu²⁺ induced low density lipoprotein oxidation in propagation phase. *FEBS Lett* 401: 230-4

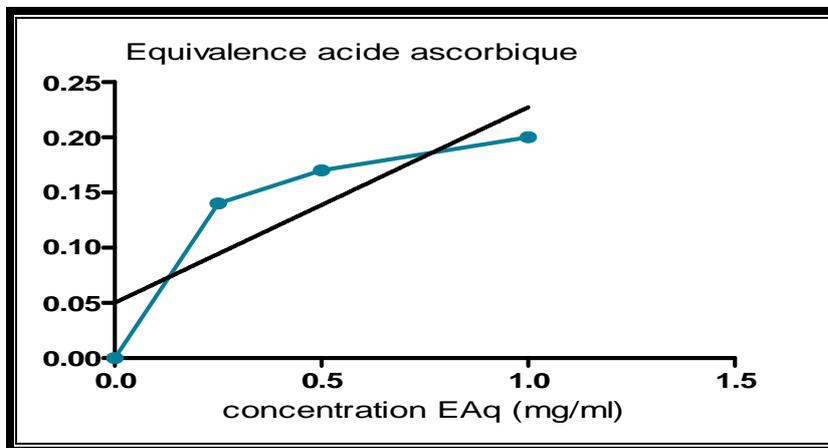
- **Yang L., Lee C-Y., Yen K-Y.** (2000). Induction of apoptosis by hydrolysable tannins from *Eugenia jambos* L. on human leukaemia cells. *Cancer Letters*, 157: 65-75
- **Yoon JI., Al-Reza SM., Kang SC.** (2010). Hair growth promoting effect of *Zizyphus jujuba* essential oil. *Food Chem Toxicol* 48: 1350-1354.

-Z-

- **Zakaria Boual., Abdellah Kemassi., Toufik Chouana., Philippe Michaud., Mohammed Didi Ould El Hadj.** (2015). *International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering* 9 (12) :1107-1110
- **Zhu BT., Liehr JG.** (1994). Quercetin increases the severity of estradiolinduced tumorigenesis in hamster kidney. *Toxicol Appl Pharmacol* 125: 149–158.

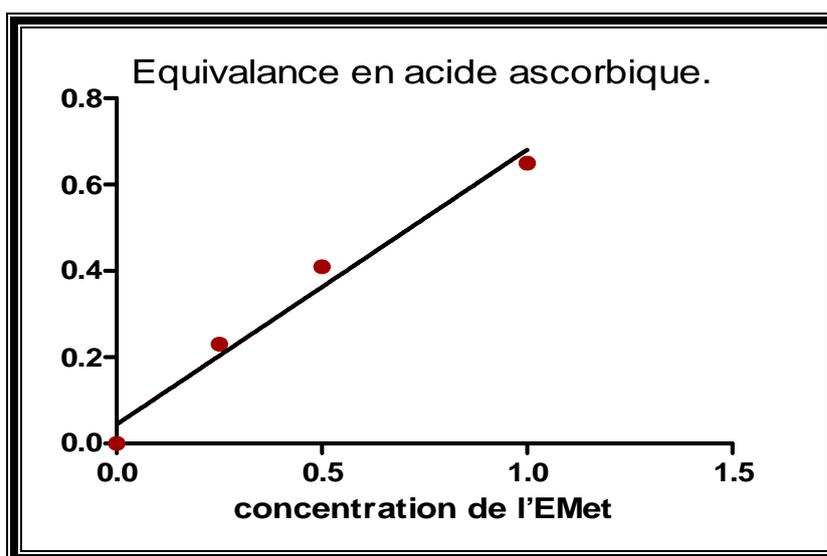
Annexe

Annexe 01: corrélation entre les différentes concentrations de l'EAq et l'activité antioxydante par équivalence en acide ascorbique.



Annexe 02: corrélation entre les différentes concentrations de l'EMet et l'activité antioxydante par équivalence en acide ascorbique.

concentration de l'extrait méthanolique (mg/ml)	0	0.25	0.5	1
l'équivalence en acide ascorbique	0	0.21	0.43	0.65



Annexe 03: Réalisation de la gamme d'étalonnage de l'acide ascorbique.

Concentration (mg/ml)	0.75	0.5	0.25	0.12
Absorbance	1.097	0.57	0.273	0.104

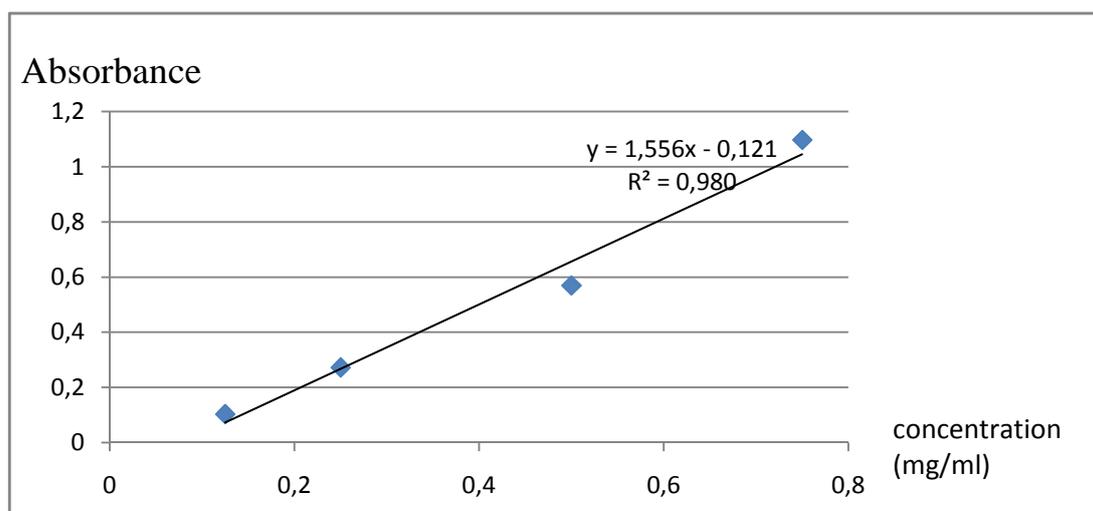


Tableau : Les valeurs sont la moyenne \pm écart type de l'ABS

Concentration (mg/ml)	Absorbance en 695 nm
0.75	1.59\pm1.12
0.5	0.57\pm0.00
0.25	0.29\pm0.04
0.12	0.14\pm0.05

Annexe 04: Les valeurs sont la moyenne \pm écart type comparaison de la capacité antioxydante totale des extraits des feuilles de *zizyphus lotus* étudiées.

Annexe 05: préparation des solutions

1. Dosage du glutathion (GSH)

Concentration (mg/ml)	Absorbance a 695 nm	
	Extrait Mét	Extrait Aq
1	0.90 \pm 0.08	0.20 \pm 0.0
0.5	0.52 \pm 0.04	0.15 \pm 0.04
0.25	0.24 \pm 0.08	0.09 \pm 0.02

Préparation de solution tampon

- Solution TBS, Tris (50 Mm), NaCl (150mM) et pH 7.4.

Dissoudre 8.775 de NaCl dans 1L d'eau distillée, puis poser 6.057 g de tris et compléter le volume à 1L par la solution NaCl (150mM) et ajusté le pH à 7.4 en ajoutant HCl ou NaCl.

- Solution DTNB (0.01M).

Dissoudre 200mg DTNB dans 50 ml de méthanol absolu.

- Solution d'acide salicylique.

Dissoudre 250 mg d'acide salicylique dans 100 ml d'eau distillé.

2. Dosage des protéines

- Solution BSA (1 mg/mL) :

Dissoudre 5 mg BSA dans 5 ml d'eau distillée.

- Réactif de Bradford :

Dissoudre 100 mg de bleu de Coomassie (G 250) dans 50 mL d'éthanol (95 %). Agiter par l'agitateur pendant 2 heures, puis ajouter 100 mL d'acide orthophosphorique (85 %) et 850 ml d'eau distillée (pour obtenir 1 L de solution).

Ce réactif doit être filtré puis conserver pendant 1 mois au maximum à une température de 4°C et à l'abri de la lumière.

3. Dosage du malondialdéhyde (MDA)

- Solution TCA (20 %)

Dissoudre 20 g de TCA dans 100 mL d'eau distillée

- Solution Tris

Dissoudre 0,15 g de tris dans 50 mL d'eau distillée

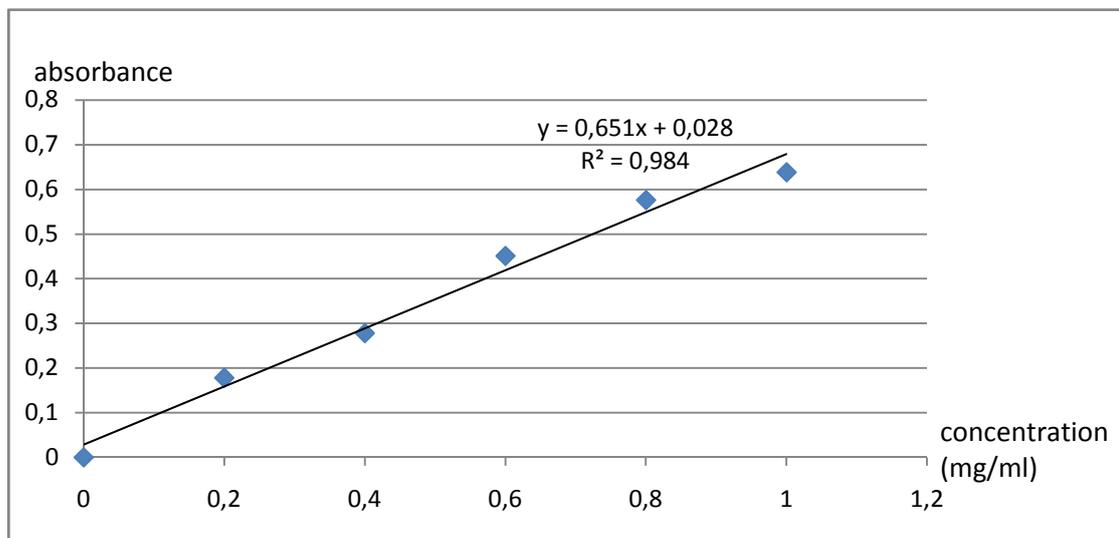
- Solution TBA (0,67 %)

Dissoudre 0,33 g de TBA dans 50 ml de la solution tris

Annexe 06 : Réalisation de la gamme d'étalonnage des protéines.

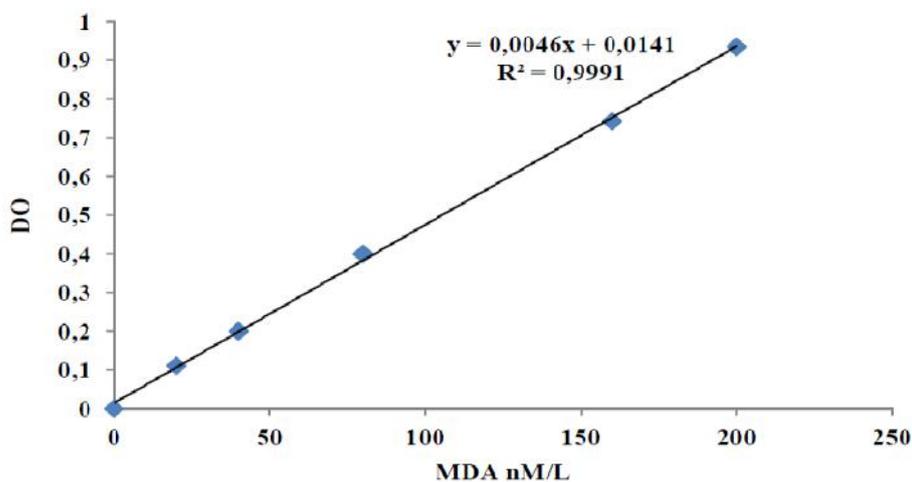
Tubes	1	2	3	4	5	6
Albumine (BSA) (µl)	0	20	40	60	80	100

Eau distillée (µl)	100	80	60	40	20	0
Réactif BBC	4	4	4	4	4	4
absorbance	/	0.178	0.278	0.451	0.576	0.638



Annexe 07 : Réalisation de la gamme d'étalonnage du MDA

1,1,3,3- tetraetoxypropane (mL)	0	20	40	80	160	200
DO à 530 nm	0	0.111	0.2	0.4	0.743	0.935



Annexe 08 : variation de poids corporel (g) des rattes témoins et traités (pb ; Emet/ Pb ;EMet) Après 8 jours de traitement.

	Temoin	plomb	Extrait + plomb	Extrait
Poids initiale (gramme)	175 ± 7.451	184.9 ± 23.92	183.3 ± 23.99	180.3 ± 15.06
Poids final	181.2 ± 7.535	179.0 ± 24.74	179.5 ± 25.65	187.9 ± 18.92

(gramme)				
Gaine de poids	+6.2	-5.9	-3.8	+7.6

Annexe 09 : variation concentration GSH tissulaire des rattes témoins et traités (Pb ; Emet / Pb; Emet) Après 8 jours de traitement.

	Temoin	plomb	Extrait + plomb	Extrait
GSH (nmol/mg) (Foie)	0.035 ± 0.033	0.020 ± 0.010	0.031 ± 0.013	0.032 ± 0.0097
6	-	- 42.45	- 12.25	-9.14
GSH (nmol/mg) (Reins)	0.032 ± 0.024	0.024 ± 0.016	0.028 ± 0.0041	0.034 ± 0.0018
6	-	- 23.05	-12.92	+5.67

Annexe 10 : variation concentration MDA tissulaire des rattes témoins et traités (Pb ; Emet/ Pb; Emet) Après 8 jours de traitement.

	Témoins	plomb	Extrait + plomb	Extrait
MDA (nmol/mg) (Foie)	11.03 ± 0.099	15.30 ± 8.768	12.58 ± 0.919	10.19 ± 0.0
6	-	+ 38.71	+ 14.05	-7.61
MDA (nmol/mg) (Reins)	8.813 ± 12.14	14.18 ± 2.518	12.31 ± 11.28	8.16 ± 3.51
6	-	+ 60.89	+ 39.68	-7.40

Année universitaire : 2015/2016

**présenté par : CHARIFI HASNA
DARDAR AMIRA**

Thème : L'étude de l'activité biologique in vitro et in vivo des extraits polaires des feuilles du *Zizyphus lotus* L.

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de master en biochimie moléculaire et santé.

Résumé :

Les extraits naturels des plantes contiennent une variété de composés phénoliques auxquels sont attribuées diverses activités biologiques. Dans la présente étude on a tenté d'évaluer l'activité antioxydante in vitro de l'extrait méthanolique et l'extrait aqueux préparés à partir des feuilles du *Zizyphus lotus* et d'étudier in vivo l'effet anti stress de l'extrait méthanoliques contre les effets nocifs du plomb.

L'analyse qualitative des ces extraits par les testes préliminaires et la CCM a révélé la présence des composés phénoliques, des tanins, des flavonoïdes ; ce ci est confirmé par une analyse quantitative basée sur le dosage, des composés phénoliques, des flavonoïdes et des tanins dont les valeurs sont : pour l'extrait méthanolique : les composés phénoliques(381.6 ± 13.11 ug EAG / mg d'extrait) , les flavonoïdes (34.91 ± 3.250 ug EQ / mg d'extrait) et les tanins (19.67 ± 1.155 ug ECT / mg d'extrait), et pour l'extrait aqueux : les composés phénoliques(63.91 ± 7.123 ug EAG / mg d'extrait) , les flavonoïdes (28.48 ± 1.29 ug EQ / mg d'extrait) et les tanins (0.34 ± 0.173 ug ECT / mg d'extrait).

L'étude de l'activité antioxydante par la méthode du Phosphomolybdène a révélé une grande activité antioxydante de l'extrait méthanolique par comparaison avec l'extrait aqueux

Cette activité est confirmée par une étude in vivo qui montre l'effet protecteur de l'extrait méthanolique de *Zizyphus lotus* et sa capacité de moduler les effets toxiques causés par le plomb qui est exprimés par les taux de glutathion et malondialdéhyde.

Mots clés: *Zizyphus lotus*, activité antioxydante, phosphomolybdene, glutathion, malondialdéhyde, composés Phénoliques, flavonoïdes, tannins.

Laboratoire de recherche : biochimie, enzymologie, immunologie. Animalerie de biologie animal.

Jury d'évaluation :

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

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

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

Date de soutenance : 01/06/2016

