

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université A. M. OULHADJ - Bouira
Faculté des Sciences et des Sciences Appliquées
Département de Génie des Procédés



Mémoire

Présenté par

TALHI Zahia

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER

Filière: Génie des Procédés

Spécialité : Génie Pharmaceutique

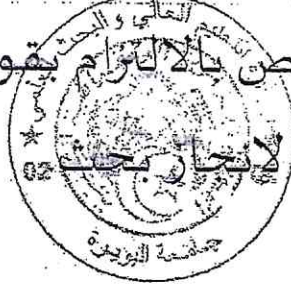
Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne
de Zizyphus Lotus L.

Soutenu le 06 /07 / 2024

Devant le jury:

M ^{me} ZAABAR	Aida	MCA	UAMOB	Présidente
M ^{me} TALBI	Ouarda	MAA	UAMOB	Encadrante
M ^{me} EL HANAFI	Nawel	MCB	UAMOB	Examinatrice

Année Universitaire : 2023/2024



التصريح الشرفي الخاص بالالتزام بقواعد النزاهة العلمية

انا الممضي اسفله،

السيد(ة)..... طالب(ة) (مستر / دكتوراه)

الحامل(ة) لبطاقة التعريف الوطنية: 113.48924.6..... والصادرة بتاريخ 14.10.21.2019

المسجل(ة) بكلية / معهد العلوم التطبيقية قسم هندسة الطرائق

تخصص: هندسة بيئية

والمكلف(ة) بإنجاز اعمال بحث (مذكرة، التخرج، مذكرة Master، مذكرة ماجستير، اطروحة دكتوراه).

عنوانها: Etude de l'activité anti-plante et antimicrobienne de


Zizyphus Lotus L.

أصرح بشرفي اني ألتم بمراعاة المعايير العلمية والمنهجية الاخلاقيات المهنية والنزاهة الاكاديمية المطلوبة في انجاز البحث المذكور أعلاه.

توقيع المعني (ة)

التاريخ: 04.07.2024


AKLI

البويرة في 04.07.2024	هيئة مراقبة السرقة العلمية:
	النسبة: 19 %

Mémoire zahia - TALBLOUARDA.pdf

RAPPORT DE SIMILITUDE

19%	19%	4%	2%
INDICE DE SIMILITUDE	SOURCES INTERNET	PUBLICATIONS	COPIES DE L'ÉTUDIANT

SOURCES PRINCIPALES

1	dl.ummto.dz Source Internet	4%
2	eprints.univ-batna2.dz Source Internet	4%
3	ummto.dz Source Internet	2%
4	www.scribd.com Source Internet	2%
5	www.humeau.com Source Internet	1%
6	dspace.univ-tiaret.dz Source Internet	1%
7	dspace.univ-bouira.dz:8080 Source Internet	1%
8	dspace.univ-batna.dz Source Internet	1%
9	repository.usthb.dz Source Internet	1%

REMERCIEMENTS

Au nom d'Allah, Le Clément, Le Miséricordieux

Louange et Gloire à Dieu, le Tout puissant, qui m'a permis de mener à bien ce modeste travail.

Prière et bénédictions d'Allah sur le prophète Mohamed

Paix et Salut sur lui.

Mes profonds remerciements s'adressent en premier lieu à ma promotrice Madame TALBI Ouarda pour avoir acceptée de m'encadrer avec bienveillance, pour son aide, ses précieux conseils, sa confiance, sa patience et ses encouragements, Vraiment merci pour une qualité d'encadrement si sérieuse et si consistante.

Mes remerciements les plus sincères s'adressent également au Monsieur BAIK Noureddine, maître de conférences au département de Biologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre, d'avoir accepté d'identifier la plante étudiée.

Mes sincères considérations et remerciements sont également exprimés aux membres de jury :

Madame ZAABAR Aida ; je me sens comblée d'un immense honneur que vous me faites en acceptant de présider le Jury de cette mémoire malgré vos nombreuses préoccupations. Je tiens à remercier Madame EL HANAFI Nawel d'avoir acceptée d'examiner ce travail, pour le temps qu'elle a consacrée à la lecture de ce document et pour ses précieux et constructifs conseils.

Mes remerciements spéciaux vont aussi à tous les ingénieurs et les techniciens des laboratoires du Département de Génie des Procédés et du Département de Chimie pour le bon accueil et de nous avoir fait bénéficier de leurs expériences et de leurs rigueurs scientifiques et professionnelles.

Finalement, je remercie ceux dont les noms n'apparaissent pas dans ces pages et qui m'ont aidé d'une manière ou d'une autre. Ils se reconnaîtront... Sans oublier tous ceux qui liront ce mémoire et le feront vivre.



Dédicace

Je dédie ce Mémoire ...

Aux personnes les plus chères au monde : mes parents

Pour tous les sacrifices que vous avez consentis à mon égard afin que je puisse mener à bien mes études. Vous avez su m'inculquer le sens du devoir, de la responsabilité, de la dignité, de l'honneur et de l'humilité. Je ne pourrais jamais vous rendre ce que vous avez fait pour moi, mais j'espère seulement que vous trouverez dans ce modeste travail, un réel motif de satisfaction.

À mes frères et mes sœurs

En signe de l'affection et du grand amour que je vous porte, les mots sont insuffisants pour exprimer ma profonde estime.

Je vous souhaite une vie pleine de joie et de bonheur au sein de vos petites familles.

Pour votre soutien permanent pendant mes longues années d'études



Zahia

Liste des abréviations

Abréviation	Désignation
Abs	Absorbance
CCM	Chromatographie sur couche mince
Da	Dalton
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DO	Densité optique
DPPH	2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl
EAG	Equivalent d'acide gallique
ES	Extrait sec
EtOH-eau	Hydroéthanolique
HPLC	Chromatographie Liquide à Haute Performance
IC50	Concentration inhibitrice 50
MeOH-eau	Hydrométhanolique
McFarland	Densitomètre
MH	Muller Hinton
Rf	Rapport frontal
RMN	Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire
TH	Taux d'humidité
UV-VIS	Ultra-Violet-Visible
Z.L	Zizyphus Lotus

Liste des figures

Figure 1: Plante de zizyphus lotus.	5
Figure 2: Tiges de Zizyphus lotus	6
Figure 3: Feuilles de Zizyphus lotus	6
Figure 4: Fleurs de Zizyphus lotus.....	7
Figure 5: Fruits de Zizyphus lotus.	7
Figure 6: Rameaux de Zizyphus lotus.....	8
Figure 7: Graines de Zizyphus lotus.	8
Figure 8: Aire de répartition de la famille des Rhamnacées dans le monde.	10
Figure 9: Répartition géographique de Zizyphus lotus en Algérie.	10
Figure 10: Structure de deux principaux constituants de zizyphus lotus.	13
Figure 11: Structure de base des polyphénols.	17
Figure 12: Structure de l'acide cinnamique.	18
Figure 13: Squelette moléculaire de base des flavonoïdes avec la numérotation classique ...	19
Figure 14: Structure des tanins hydrolysables (a) et condensés(b)	22
Figure 15: Structure chimique de morphine.	23
Figure 16: Structure de l'unité isoprénique	24
Figure 17: Structure de Camphène	25
Figure 18: Structure de Longifolène	25
Figure 19: Exemple de diterpènes (acide abiétique)	26
Figure 20: Structure de squalène.....	26
Figure 21: Structure du cortisol : un glucocorticoïde.....	27
Figure 22: Vue générale de la plante de zizyphus lotus prise à partir du site d'étude	30
Figure 23: Organigramme récapitulatif des étapes d'extraction.	35
Figure 24: Schéma des différentes étapes suivies lors de l'extraction des tanins.	40
Figure 25: Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH• entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (AH)	43
Figure 26: Teneur en eau et en matière sèche du Zizyphus lotus.	49
Figure 27: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	52
Figure 28: Rendement en tanins des feuilles de zizyphus lotus.....	54
Figure 29: Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH par l'extrait aqueux.....	55

Figure 30: Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH par l'extrait MeOH-eau.	56
Figure 31: Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH par l'extrait EtOH-eau.	56
Figure 32: Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH par l'acide ascorbique.	56
Figure 33: Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH par l'extrait tannique.	57

Liste des tableaux

Tableau 1: Pourcentage des compositions primaires du <i>Zizyphus lotus</i>	11
Tableau 2: Les composants chimiques majeurs et leur quantité dans les différents organes végétaux du <i>zizyphus lotus</i>	12
Tableau 3: les Principales classes des flavonoïdes	20
Tableau 4: Liste des produits utilisés.....	32
Tableau 5: Liste des équipements utilisés.....	33
Tableau 6: Gamme d'étalonnage de l'acide gallique.....	38
Tableau 7: Description des souches microbiennes testées.....	45
Tableau 8: degré de sensibilité des souches microbienne selon le diamètre de la zone d'inhibition.....	47
Tableau 9: Rendement des extraits secs des feuilles de <i>zizyphus lotus</i>	49
Tableau 10: Les Caractères organoleptiques des trois extraits aqueux, hydro-éthanolique et hydrométhanolique des feuilles de <i>Zizyphus lotus</i>	50
Tableau 11: Tableau récapitulatif des principaux composés du métabolisme secondaire de l'espèce <i>Zizyphus lotus</i>	51
Tableau 12: Teneur en polyphénol totaux.	53
Tableau 13: Rapports frontaux et couleur des tâches avant et après la révélation par le chlorure d'aluminium $AlCl_3$ de l'extrait tannique.....	55
Tableau 14: Valeurs d'IC50 de l'acide ascorbique et des différents extraits de <i>zizyphus lotus</i>	57
Tableau 15: Effet antibactérien et antifongique des extraits de <i>zizyphus lotus</i> exprimé en diamètres des zones d'inhibitions (en mm).....	59
Tableau 16: Effet antibactérien et antifongique des dilutions de l'extrait aqueux de <i>zizyphus lotus</i> exprimé en diamètres des zones d'inhibitions (en mm).	59
Tableau 17: Effet antibactérien et antifongique des dilutions de l'extrait EtOH-eau de <i>zizyphus lotus</i> exprimé en diamètres des zones d'inhibitions (en mm).	59
Tableau 18: Effet antibactérien et antifongique des dilutions de l'extrait MeOH-eau de <i>zizyphus lotus</i> exprimé en diamètres des zones d'inhibitions (en mm).	60
Tableau 19: Effet antibactérien et antifongique des dilutions de l'extrait tannique de <i>zizyphus lotus</i> exprimé en diamètres des zones d'inhibitions (en mm).	60

Sommaire

REMERCIEMENTS

Dédicace

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Sommaire

Introduction générale 1

Chapitre I : Aperçu bibliographique sur la plante étudiée : Zizyphus lotus

I.1	Introduction	4
I.2	Etymologie.....	4
I.3	Historique et origine	4
I.4	Nomenclature et synonymes.....	4
I.5	Description botanique du Zizyphus lotus	5
I.6	Classification botanique	9
I.7	Répartition géographique	9
I.7.1	Dans le monde.....	9
I.7.2	En Algérie	10
I.8	Composition biochimique du Zizyphus lotus	11
I.8.1	Composition en métabolites primaires.....	11
I.8.2	Composition en métabolites secondaires	11
I.9	Utilisation et effet thérapeutique de la plante	13
I.10	Travaux antérieurs	14

Chapitre II : Les Métabolites Secondaires

II.1	Introduction	16
II.2	Définition.....	16
II.3	Fonction	16
II.4	Principales classes de métabolites secondaires	17
II.4.1	Les composés phénoliques : Les Polyphénols	17
II.4.1.1	Structure chimique et classification.....	17
II.4.1.1.1	Les acides phénoliques	18

II.4.1.1.2 Les flavonoïdes	18
II.4.1.1.2.1 Structure chimique et classification.....	18
II.4.1.1.2.2 Localisation et distribution	21
II.4.1.1.2.3 Activités biologiques des flavonoïdes	21
II.4.1.1.3 Les tanins	21
II.4.1.1.3.1 Structure chimique et classification.....	21
II.4.1.1.3.2 Localisation et distribution	22
II.4.1.1.3.3 Activités biologiques et thérapeutiques des tanins	23
II.4.2 Composés Azotés : Les alcaloïdes	23
II.4.2.1 Structure chimique des alcaloïdes	23
II.4.3 Les terpènes.....	24
II.4.3.1 Structure chimique et classification.....	24
II.4.3.1.1 Les monoterpènes	24
II.4.3.1.2 Les sesquiterpènes	25
II.4.3.1.3 Les diterpènes ou les biterpénoïdes	25
II.4.3.1.4 Les triterpènes.....	26
II.4.3.2 Produits de dégradation des triterpènes	26
II.4.3.2.1 Les stéroïdes.....	26
II.4.3.2.2 Les saponines ou saponosides.....	27
II.4.3.2.3 Les polyterpènes	27
II.4.4 Les huiles essentielles	27

Chapitre III : Matériel et méthode

III.1 Objectif	30
III.2 Matériel végétal	30
III.2.1 Choix de la plante utilisée	30
III.2.2 Récolte.....	30
III.2.3 Séchage.....	31
III.2.4 Broyage	31
III.2.5 Identification de la plante	31
III.2.6 Evaluation du taux d'humidité du matériel végétal	31
III.2.7 Matériels et produits chimiques utilisés	32
III.3 Méthode utilisée	33
III.3.1 Choix de la méthode d'extraction	33

III.3.2	Principe de la macération à froid.....	33
III.3.3	Extraction des composés phénoliques	34
III.3.3.1	Mode opératoire	34
III.3.4	Rendement des extraits.....	35
III.3.5	Screening phytochimique	36
III.3.5.1	Détection de l'amidon	36
III.3.5.2	Détection des saponosides	36
III.3.5.3	Détection des tanins	36
III.3.5.4	Détection des flavonoïdes	36
III.3.5.5	Détection des alcaloïdes.....	37
III.3.5.6	Détection des stérols et triterpènes : La réaction de Lieberman Burchardt	37
III.3.5.7	Détection des terpénoïdes : Test de Slakowski.....	37
III.3.5.8	Détection des glycosides cardiaques.....	37
III.3.5.9	Détection des anthocyanes	37
III.3.5.10	Détection des stéroïdes	38
III.3.6	Détermination de la teneur en polyphénols.....	38
III.3.6.1	Dosage des composés phénoliques totaux	38
III.3.6.1.1	Principe	38
III.3.6.1.2	Réactifs et extraits utilisés.....	38
III.3.6.1.3	Mode opératoire	38
III.3.7	Extraction des tanins	40
III.3.8	Rendement de l'extrait tannique	40
III.3.9	Séparation des tanins par Chromatographie sur Couche Mince (CCM).....	41
III.3.9.1	Principe de la méthode.....	41
III.3.9.2	Principaux éléments de la CCM	41
III.3.9.3	Mode opératoire	41
III.3.10	Activités biologiques.....	42
III.3.10.1	Activité antioxydante	42
III.3.10.1.1	Principe du radical DPPH	42
III.3.10.1.2	Mode opératoire	43
III.3.10.2	Activité antimicrobienne.....	44
III.3.10.2.1	Souches microbiennes testées	44
III.3.10.2.2	Protocole d'évaluation de l'activité microbienne (test de sensibilité)....	45

Chapitre IV : Résultats et discussion

IV.1	Taux d'humidité de la plante	49
IV.2	Rendement des extraits	49
IV.3	Les Caractères organoleptiques des extraits	50
IV.4	Résultats de screening phytochimique	51
IV.5	Teneur en composés phénoliques	52
IV.5.1	Détermination de la teneur en polyphénols	52
IV.6	Rendement de l'extrait tannique	54
IV.7	Chromatographie sur Couche Mince (CCM)	54
IV.8	Activités biologiques	55
IV.8.1	Activité antioxydante	55
IV.8.1.1	Evaluation de l'activité antioxydante	55
IV.8.2	Activité antimicrobienne	58
<i>Conclusion</i>		64

Références bibliographiques

Glossaire

Annexe

Résumé

Introduction Générale

Introduction générale

Les plantes médicinales représentent une richesse inestimable pour l'humanité, et plus spécifiquement pour la plupart des communautés démunies des pays en développement qui en ont besoin pour leurs soins de santé essentiels et leur subsistance. [1]

Bien que les progrès de la pharmacologie et de l'industrie pharmaceutique aient permis à la médecine moderne de traiter de nombreuses maladies, l'utilisation des plantes médicinales est encore largement utilisée dans certains pays du monde, notamment dans les pays en voie de développement. En Afrique, ces végétaux représentent une variété et une source majeure de matières premières pour le secteur pharmaceutique et agroalimentaire. [2]

Parmi ces plantes médicinales, le *Zizyphus lotus*, également appelé jujubier sauvage [3], Il est mentionné dans de nombreuses légendes et évoqués dans le Coran, et considéré par les musulmans comme un arbre sacré ou arbre du paradis. [4]

قال الله تعالى "عِنْدَ سِدْرَةِ الْمُنْتَهَى (14) عِنْدَهَا جَنَّةُ الْمَأْوَى (15) إِذْ يَغْشَى السِّدْرَةَ مَا يَغْشَى (16) " (14-16 سورة النجم)

وقال أيضا "وَأَصْحَابُ الْيَمِينِ مَا أَصْحَابُ الْيَمِينِ (27) فِي سِدْرٍ مَّخْضُودٍ (28) وَطَلْحٍ مَّنْضُودٍ (29) وَظِلٍّ مَّمْدُودٍ " (27-30 سورة الواقعة)

ولقوله تعالى " لَقَدْ كَانَ لِسَبَإٍ فِي مَسْكَنِهِمْ آيَةٌ جَنَّتَانِ عَنْ يَمِينٍ وَشِمَالٍ كُلُوا مِنْ رِزْقِ رَبِّكُمْ وَاشْكُرُوا لَهُ بَلْدَةٌ طَيِّبَةٌ وَرَبُّ غَفُورٌ (15) فَأَعْرَضُوا فَأَرْسَلْنَا عَلَيْهِمْ سَيْلَ الْعَرْمِ يَذْلُلْنَاهُمْ بَجَنَّتَيْهِمْ جَنَّتَيْنِ ذَوَاتِي أُكُلٍ خَمْطٍ وَأَثْلٍ وَشَيْءٍ مِّن سِدْرٍ قَلِيلٍ (16-15 سورة سبأ) [5]

La plante sélectionnée est une dicotylédone [6] de la famille des angiospermes Rhamnacees [7], qui compte 900 espèces auprès de 58 genres différents. Il s'agit d'arbres, d'arbustes, des lianes ou des plantes herbacées [3]. Le choix de celle-ci a été guidé par les indications d'usage traditionnel mais aussi par le fait que cette plante fait partie d'une famille botanique riche en molécules ayant des activités biologiques variées [6]. D'où notre intérêt pour l'étude de cette plante afin de déterminer ses principaux métabolites secondaires et d'évaluer son activité antimicrobienne et antioxydante. [8]

Sur le plan méthodologique ; le présent manuscrit s'articule sur deux grandes parties : théorique et expérimentale.

Dans la partie théorique, une étude bibliographique est menée sur :

- Généralités sur le *Zizyphus lotus* (origine, description et classification botanique, répartition géographique, composition biochimique, usages et effets thérapeutiques les plus importants et les travaux antérieurs réalisés).
- Un rappel sur les métabolites secondaires et leurs activités biologiques.

Une partie abordant l'étude expérimentale qui a porté sur :

- Un screening phytochimique permettant l'identification des différents constituants de la plante étudiée.
- Extraction et dosage des composés phénoliques de l'espèce en question ainsi que leur séparation par CCM.
- Etude du pouvoir antioxydant des extraits actifs de la plante sélectionnée vis-à-vis du radical libre DPPH.
- Evaluation de l'activité antimicrobienne des différents extraits testés.
- Présentation des résultats obtenus lors de cette étude et leurs discussions en se référant aux études antérieures faites dans ce domaine.
- Ce travail a été achevé par une conclusion générale qui englobe les principaux résultats obtenus. A la lumière de ces résultats, différentes perspectives de recherche seront évoquées.

Chapitre I

**Aperçu bibliographique sur la
plante étudiée : Zizyphus Lotus**

I.1 Introduction

Il est crucial de comprendre les plantes et d'étudier leurs propriétés et leurs effets thérapeutiques afin de découvrir de nouveaux principes actifs susceptibles de révolutionner la médecine. [9]

Ces plantes constituent un vaste réservoir de composés potentiels liés aux métabolites secondaires, qui présentent l'avantage d'être d'une grande variété de structures chimiques et d'avoir une très grande variété d'activités biologiques. [10]

D'après les études actuelles, l'espèce Zizyphus lotus est perçue comme [11] une source de divers composés bioactifs qui possèdent des propriétés thérapeutiques pour la nutrition humaine, la promotion de la santé et la prévention [12] de plusieurs pathologies [13].

I.2 Etymologie

Le terme "Zizyphus" peut être dérivé de "zizouf", le nom arabe de Zizyphus lotus [4]. Le terme Zizyphus est originaire du latin et serait issu d'un mot arabe appelé "zizouf". [14,15]

Zizyphus : désignant l'arbre et son fruit.

Lotus : désigne des plantes de la famille des légumineuses. [16]

I.3 Historique et origine

Découvert en 1767, Le nom de Zizyphus provient de l'appellation berbère « Zuzaifo, Zizoufou ». Cette dénomination est associée à l'ancien nom persique « Zizafun ou Zizfum », tandis que les Grecs utilisent le terme « Ziziphon ». [17]

Depuis une période très ancienne, environ 2000 ans avant Jésus-Christ, le jujubier est introduit en Méditerranée depuis la Chine. Le jujubier est originaire de Chine. [18]

Par la suite, il a été répandu en Algérie, Tunisie, Espagne, Italie et dans tout le Sud, en France. Des cultures résiduelles sont localisées principalement en province. [15]

I.4 Nomenclature et synonymes

Les diverses appellations de l'arbuste du jujubier sont les suivantes : [19]

Nom scientifique : Zizyphus lotus (L). [20]

Il est couramment désigné au Maghreb et en Algérie sous le nom de « sedra », en arabe local, « azugwar » [21] ou « thazougouert » [22] ou encore « Tabakat » en berbère. [23]

En Arabe : Zizouf زيزوف, sidr سدر, sedra سدره, sidr barri سدر بري. [24]

En Français : Jujubier sauvage, jujubier de Berbérie, lotus des anciens, jujubier des Lotophages. [24]

En Anglais : Lotus tree, African jujube, lotus jujube, Lote fruit.[24]

Nom Allemand : Wilde Jujube. [24]

Nom Espagnol : Espina de Cristo, Azufaifo ibérico, Azufaifo africano, Arto, Arto blanco. [24]

Nom Portugais : Acufeifa-menor. [25]

En Chine : Da zao et Hongzao. [19]

I.5 Description botanique du Zizyphus lotus

Zizyphus lotus est un arbuste fruitier [25] très épineux à croissance lente (**Figure.01**), pouvant atteindre une hauteur de 10 mètres et un diamètre du tronc de 50 à 60 cm. Il présente un port arrondi, une ramure tortueuse, des branches vertes épineuses et une écorce fissurée. Les branches s'étendent en zigzag Avec des tiges ramifiées, grêles, effilées, flexueuses et épineuses. Deux types d'épines sont associés en paires, dont certaines sont longues de 2,5 cm et d'autres courtes et recourbées facilement. [26]



Figure 1: Plante de zizyphus lotus. [27]

Les tiges : flexueuses, grêles (**Figure.02**) très ramifiée [25] recourbés vers le bas, blanches grisâtre, à épines par paires droites ou recourbés. [4]



Figure 2: Tiges de Zizyphus lotus [28]

Les feuilles : feuilles caduques, vertes brillantes [29] obtuse, crénelées, alternes, à trois nervures, glabres, légèrement rigides (**Figure.03**), de 7 à 9 mm de large et de 9 à 13 mm de long, avec un pétiole court [4]. À la base de chaque feuille se trouvent deux stipules qui se sont transformées en épines inégales et vulnérables. [30]



Figure 3: Feuilles de Zizyphus lotus [31]

Les fleurs : Les fleurs peuvent être solitaires ou groupées, avec un pédicelle court, un calice en forme d'entonnoir, une corolle pentamère, cinq étamines épipétales, deux styles courts, et sont très visibles (**Figure.04**) de couleurs jaune pâle. [4]



Figure 4: Fleurs de *Zizyphus lotus*. [32]

Les fruits : sous forme de drupes [25], plus ou moins sphériques [33] de la taille d'un gros pois (**Figure.05**), rouges à maturité, avec une pulpe mince et épaisse, peut-être d'un blanc verdâtre et avoir une saveur à la fois douce et acidulée ou brun jaunâtre, riche en sucre, recouverte d'un gros noyau [25], nommé jujube [33], comestible. Les Touaregs les mangent frais ou les transforment en farine et les utilisent pour faire du pain appelé « oufers ». [34]



Figure 5: Fruits de *Zizyphus lotus*. [35]

Les rameaux : blanc grisâtre (**Figure.06**), flexueux, recourbés vers le bas à épines par paires droites ou recourbées. [4]



Figure 6: Rameaux de Zizyphus lotus. [36]

Les graines : Les noyaux sont ligneux [37], huileuses [38], de couleur crème-clair, dur, de forme arrondie ou allongée (**Figure.07**) enveloppé dans une pulpe blanchâtre plus ou moins farineuse. Il est généralement composé de deux loges, dont une seule contient une petite amande. Les noyaux, plus facilement détachables des pulpes, peuvent atteindre une longueur de 1,05 cm. [37]



Figure 7: Graines de Zizyphus lotus. [39]

I.6 Classification botanique

D'après Quezel et Santa (1962), Le *Zizyphus lotus* se classe comme ci-dessous : [25]

Règne	Végétal [40]
Sous-règne	Tracheobionta [40]
Division	Magnoliophyta [40]
Embranchement	Spermatophytes [40]
Sous-embranchement	Angiospermes [40]
Classe	Dicotylédones [40]
Sous-classe	Rosidae [40]
Ordre	Celastrales [40]
Famille	Rhamnaceae [40]
Sous-famille	Paliureae [40]
Série	Disciflores [41]
Sous série	Isosténones [41]
Tribu	Ziziphae [41]
Genre	<i>Zizyphus</i> [41]
Espèce	<i>Zizyphus lotus</i> L [41]

I.7 Répartition géographique

I.7.1 Dans le monde

Zizyphus est un genre d'espèces tropicales et subtropicales qui compte environ 50 espèces [18]. Il couvre une vaste zone de répartition (**Figure.08**) allant du continent asiatique au bassin méditerranéen jusqu'au continent américain. *Zizyphus Lotus* est une espèce méditerranéenne avec une faible pénétration dans le Sahara septentrional (Algérie, Tunisie, Maroc et Libye). Elle revient ensuite au Yémen, dans l'île de Socotra, au Moyen-Orient : en Syrie, en Palestine, en Turquie et à Chypre. Elle se rencontre enfin en Sicile, Grèce, Espagne méridionale et Corée du Sud. [42, 43]

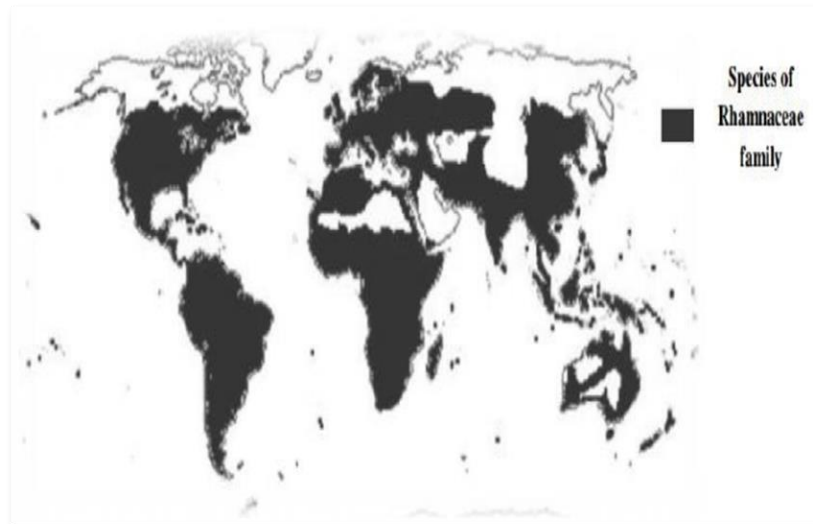


Figure 8: Aire de répartition de la famille des Rhamnacées dans le monde. [44]

I.7.2 En Algérie

La présence du *Zizyphus lotus* est commune dans toute l'Algérie, à l'exception du Tell Algéro-constantinois. Il est principalement présent dans les hautes plaines steppiques, l'Atlas saharien et jusqu'au Sahara septentrional (**Figure.09**) ; en Oran, il se trouve jusqu'au bord de la mer. Au Sahara septentrional, il se développe dans les lits d'oueds et les berges sableuses et graveleuses, et se développe également dans les ravins pierreux et les pentes rocheuses [40]. C'est une espèce très commune dans les régions arides d'Algérie du Sud, telles que Maessad et Ain Ouessara (wilayat de Djelfa) qui ont un climat aride, tandis que Taghit, dans la wilaya de Bechar, a un climat saharien.[45]

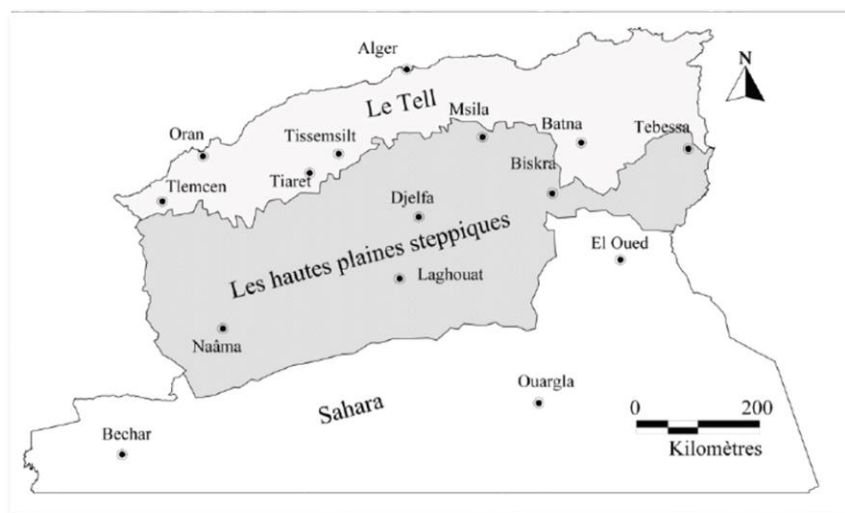


Figure 9: Répartition géographique de *Zizyphus lotus* en Algérie. [46]

I.8 Composition biochimique du Zizyphus lotus

Deux types de métabolites ont été identifiés dans le métabolisme des végétaux, selon leur fonction au sein de l'organisme : les métabolites primaires et les métabolites secondaires. [47]

I.8.1 Composition en métabolites primaires

Le métabolisme primaire englobe l'ensemble des constituants du végétal nécessaires à sa reproduction, à son développement et à son bon fonctionnement (métabolisme global). Parmi ces métabolites primaires (**Tableau.01**) : [47]

Tableau 1: Pourcentage des compositions primaires du Zizyphus lotus [48]

Métabolite	Pourcentage (%)
Vitamines	Vitamine A : Les vitamines sont impératives en période de croissance
Protéines	19,11%
Carbohydrates	40,87%
Lipides	32,92%
Sucres	20%

I.8.2 Composition en métabolites secondaires

La synthèse des métabolites secondaires par les plantes est perçue comme une capacité d'adaptation pour faire face aux contraintes stressantes dans un environnement de croissance difficile et changeant, ce qui peut entraîner la production de types chimiques complexes et des interactions dans la stabilisation structurelle et fonctionnelle grâce à des processus et des voies de signalisation.

Les cellules végétales accumulent de nombreuses molécules secondaires qui sont biosynthétisées à partir de métabolites primaires par différentes voies [49]. Les principales substances chimiques et leurs teneurs dans les divers organes végétaux du zizyphus lotus sont mentionnés dans le (**Tableau.02**) et la (**Figure.10**) :

Tableau 2: Les composants chimiques majeurs et leur quantité dans les différents organes végétaux du zizyphus lotus. [50]

Parties de Z. lotus	Composants majeur	Quantité en mg/100g
Ecorces des racines	Polyphénol	2009
	Flavonoïdes	120
	Saponines	219
	Pro-anthocyanidines	156
	Jujuboside A	6.73
	Jujuboside C	3.96
	Lotoside I	2.774
	Lotoside II	1.58
	Lotusine A	11.56
	Lotusine B	23.95
	Lotusine C	23.95
	Lotusine D	4.2-10
	Lotusine E	2.9-10
	Lotusine F	1.4-11.56
	Lotusine G	1.5
Feuilles	Polyphénols totaux	664
	Flavonoïdes	130-199
	Flavanols glycosides	3,00
	Saponines	340
	Tanins	39
	Monosaccharides (glucose, galactose, rhamnose, arabinose, et xylose)	8720
	Rutine	9.33
	Jujuboside B	2
Fruits	Polyphénols totaux	297- 4078,2
	Tanins	33
	Flavonoïdes	122
Graines	Protéine	144220
	Polyphénols	14.68
	Matière grasse	29730
	Carbohydrates	4087
	Sucres	4100
	Fibres	16570
	Pectine	1350
Pulpes	Protéines	1180
	Tanins	922
	Flavonoïdes	173
	Sucre soluble	10550
	Minéraux	3200
	Polyphénols totaux	325
	Graisses	790
	Fibres	4840
	Pectines	2070

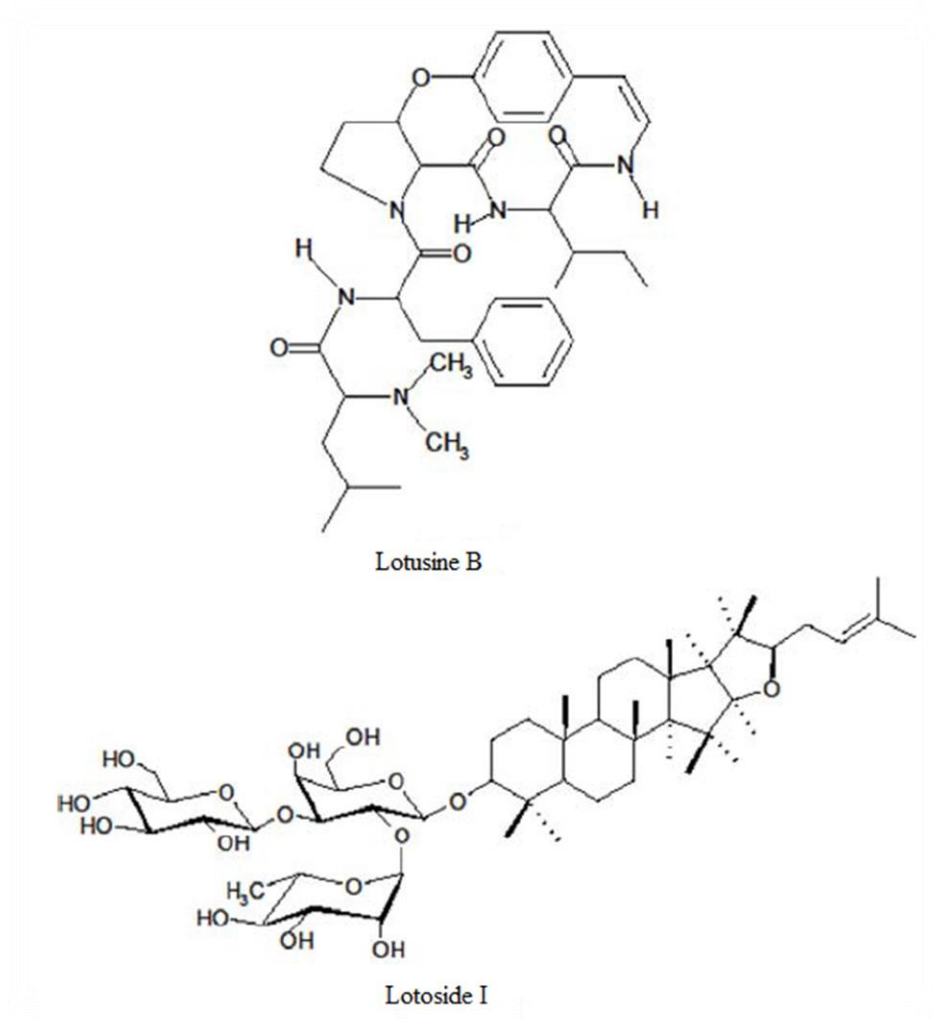


Figure 10: Structure de deux principaux constituants de zizyphus lotus. [4]

I.9 Utilisation et effet thérapeutique de la plante

Les diverses parties du zizyphus lotus, notamment les fruits, les racines, les graines, les pousses et l'écorce, sont employées dans la médecine populaire en raison de leur contenu en composés phytochimiques précieux tels que les polyphénols, les tanins, les flavonoïdes, les alcaloïdes et les saponosides qui seraient responsables de nombreuses activités biologiques. [51]

- ✓ Les feuilles de différentes espèces de Zizyphus sont consommées comme tisane ont une action hypoglycémique et antiseptique.
- ✓ L'infusion de fleurs est employée en tant que remède contre les infections et désinfectant pour les yeux.

✓ Le fruit est la principale source du jujubier, dont la pulpe est consommée fraîche ou sèche, en tant qu'additif alimentaire, arôme ou traitée (confiture, miel, pain, farine, gâteaux), il peut ainsi transformer en boissons rafraîchissantes. [52]

✓ Tandis que l'extrait de racines possède des propriétés analgésiques, anti-inflammatoires, antibactériennes et antifongiques. [22]

I.10 Travaux antérieurs

Des travaux antérieurs ont été menés sur la présence de diverses molécules biologiquement actives de *Z. lotus*, ce qui peut représenter un avantage potentiel considérable pour la nutrition et la santé humaine.

De nombreuses études *in vitro* ont démontré la capacité des différentes parties de *Z. lotus* pour éliminer les radicaux libres, par exemple, dans la peroxydation lipidique, entraînant la prévention des dommages cellulaires. [53]

En outre, de nombreuses recherches menées sur les métabolites secondaires de *Zizyphus lotus* ont révélé la présence de composés phénoliques ayant des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes, de flavonoïdes, de tanins hydrolysables, d'alcaloïdes, notamment les alcaloïdes cyclopeptidiques et de dammarane des saponines dans les feuilles. [54]

Les études microbiologiques ont examiné les conséquences des extraits de *Zizyphus Lotus* sur la prolifération de diverses bactéries et champignons. Les chercheurs ont prouvé que les extraits des feuilles de *Z. lotus* ont des propriétés bactéricides. [55]

Chapitre II

Les Métabolites Secondaires

II.1 Introduction

Les métabolites des plantes ont un impact important sur leur capacité à s'adapter à leur environnement. Ils jouent donc un rôle très efficace dans la capacité des végétaux à supporter des stress différents. De manière pratique, ces molécules sont souvent à l'origine des composés actifs des plantes médicinales. La valeur thérapeutique de ces métabolites est l'objet de nombreuses études et conduit à l'identification des principaux composés actifs de la plante. [56]

Le fait que de nombreux de ces composés ne se retrouvent pas chez toutes les espèces démontre qu'ils ne font pas partie du métabolisme général : ce sont des métabolites secondaires, qui n'ont aucune fonction directe dans les activités fondamentales de l'organisme végétal (reproduction croissance, développement...), mais peuvent jouer différents rôles pour la survie du végétal lui-même, rôle de défense ou de résistance. [57]

II.2 Définition

Outre les composés du métabolisme primaire (lipides, glucides, protides, acides nucléiques), les plantes ont la particularité de produire un grand nombre d'autres types de molécules, les métabolites secondaires. Ils sont extrêmement variés et leur fonction au sein de la plante n'est pas toujours connue, pour la plupart d'entre eux. Ils ne proviennent pas de la photosynthèse directement, mais sont le résultat de chaînes de réactions enzymatiques complexes. Ces composés représentent une source majeure de molécules employées par les êtres humains dans divers domaines, tels que la pharmacologie, l'agro-alimentaire et le cosmétique. [58]

II.3 Fonction

Le métabolisme secondaire génère des métabolites en petites quantités qui présentent des intérêts significatifs dans les domaines pharmaceutique, cosmétique et nutritionnel [59]. Au cours des dernières années, l'intérêt pour les métabolites secondaires a considérablement augmenté en raison de la variété de leurs effets tels que les antioxydants, les antibactériens, les anticancéreux et les antiviraux. [60]

La majorité des effets des métabolites secondaires se manifestent par interaction avec les enzymes ou les protéines. Alors que certaines de ces substances jouent le rôle de substrats au niveau des récepteurs et imitent les substances endogènes dans l'organisme visé, d'autres perturbent les interactions protéine-protéine indispensables à la fonction cellulaire normale. Ainsi, il est possible de conclure que cette capacité des métabolites secondaires à influencer la

physiologie des autres espèces les rend très prometteuses comme source potentielle de médicaments. [61, 62]

II.4 Principales classes de métabolites secondaires

Les métabolites secondaires peuvent être classés en fonction de la structure chimique (par exemple, ayant des cycles, contenant un sucre), de la composition (contenant de l'azote ou non), de leur solubilité dans divers solvants ou de la voie par laquelle ils sont synthétisés (par exemple, phénylpropanoïde, qui produit des tanins). Trois grandes familles de molécules sont généralement considérées : les composés phénoliques, les alcaloïdes et les terpènes.

II.4.1 Les composés phénoliques : Les Polyphénols

Les polyphénols, également connus sous le nom de composés phénoliques [63], sont des molécules organiques extrêmement précieux [64]. Ils forment un groupe de métabolites secondaires complexes, qui sont exclusivement synthétisés [65] par toutes les plantes. Ils jouent un rôle dans les réactions de défense contre divers stress biotiques (agents pathogènes, blessures, symbiose) ou abiotiques (lumière, faible température, carences, rayonnements UV). [66]

Ces molécules constituent la base des principes actifs trouvés au niveau des plantes médicinales [67], elles sont couramment employées dans le domaine médical en tant que vasoconstricteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et anti-radicalaires, ainsi que comme antimicrobiens.[68]

II.4.1.1 Structure chimique et classification

L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzénique (**Figure.11**) auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction, ester, éther, hétéroside. [69]

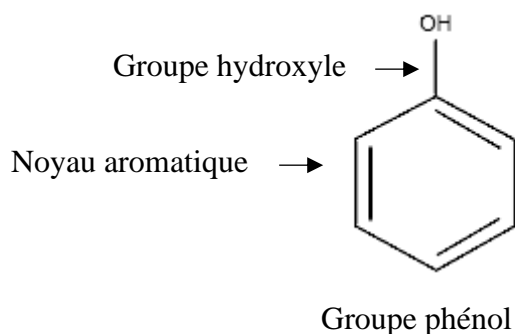


Figure 11: Structure de base des polyphénols. [70]

Plus de 8000 molécules ont été identifiées sous leurs différentes formes. Ces composés ont une structure qui peut varier, allant des simples molécules (acides phénoliques) aux molécules les plus complexes (tanins). [71]

II.4.1.1.1 Les acides phénoliques

Les acides phénoliques ou les phénols sont des petites molécules composées d'un noyau benzénique et d'au moins un groupe hydroxyle, elles peuvent être étherifiées, estérifiées et liées à des sucres sous forme d'hétérosides. Ces phénols sont solubles dans les solvants polaires et leur biosynthèse provient de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique (**Figure.12**). Les phénols ont des effets antiseptiques, analgésiques (aspirine, médicament dérivé de l'acide salicylique) et anti-inflammatoires. [63]

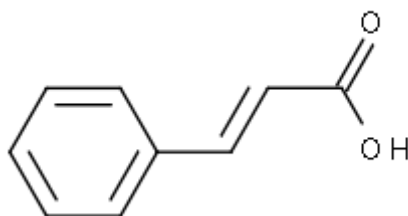


Figure 12: Structure de l'acide cinnamique. [72]

II.4.1.1.2 Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires polyphénoliques synthétisés exclusivement par les plantes [73], ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs [74], des fruits et parfois des feuilles [75]. Le plus souvent, ils se trouvent naturellement sous la forme d'hétérosides. [68]

II.4.1.1.2.1 Structure chimique et classification

Les flavonoïdes sont des dérivés benzo- γ -pyrène [76]. Leur structure de base (**Figure.13**) est celle d'un diphenylpropane à 15 atomes de carbone (C6-C3 -C6), Il est composé de deux noyaux aromatiques (ou anneaux) que désignent les lettres A et B, reliés par un hétérocycle oxygéné, qui désigne la lettre C. [77]

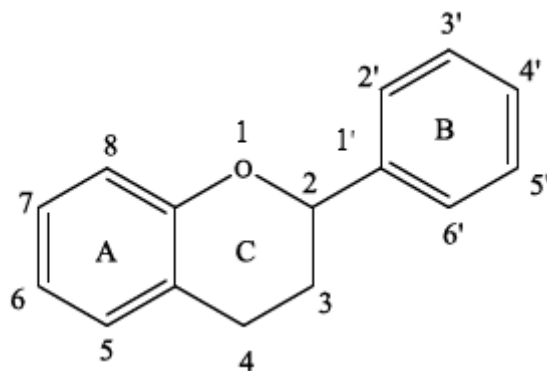


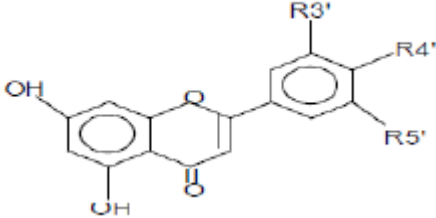
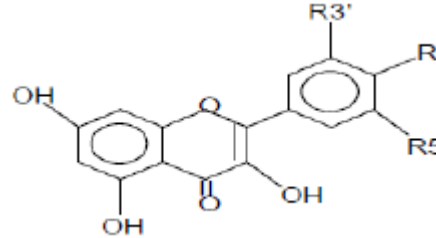
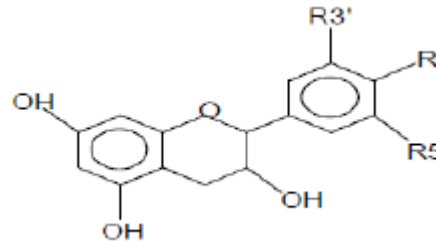
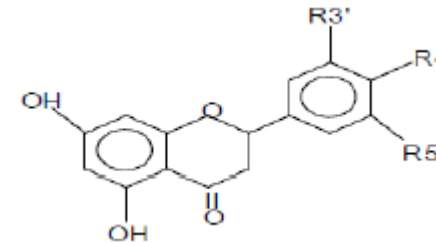
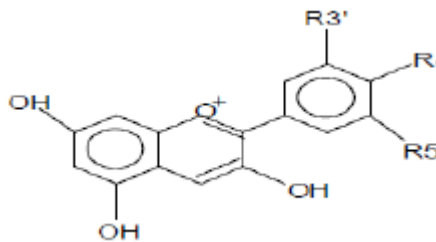
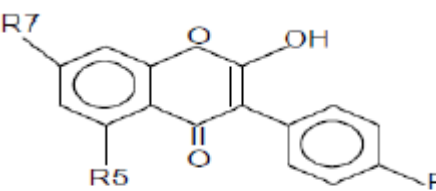
Figure 13: Squelette moléculaire de base des flavonoïdes avec la numérotation classique.[78]

Comme indique-le (**Tableau.03**) plusieurs classes de flavonoïdes apparaissent en fonction de [66] :

- La position de la liaison entre les cycles B et C ;
- Le degré de saturation du cycle C ;
- Le degré d'oxydation et d'hydroxylation [79] du noyau pyranique central.

Les principales classes de flavonoïdes comprennent : les flavones, les flavanols, les flavanones, les isoflavones, les flavanols et les anthocyanes. [66]

Tableau 3: les Principales classes des flavonoïdes [80]

Classes	Structures chimiques	R3'	R4'	R5'	Exemples
Flavones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH ₃	H	Diosmétine
Flavanols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myrecétine
Flavanols		OH	OH	H	Catéchine
Flavanones		OH	OH	OH	Naringénine
		OH	OH	OH	Eriodictyol
Anthocyanidines		OH	OH	OH	Pelargonidine
		OH	OH	OH	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine
Isoflavones		R5'	R7'	R4'	
		OH	OH	OH	Genisteine
		OH	OH	OH	Daidzeine

II.4.1.1.2.2 Localisation et distribution

Les flavonoïdes sont amplement répandus dans le règne végétal (feuilles, fleurs, fruits et graines). Ces espèces se rencontrent également chez les Psylotales, les Fougères, les Angiospermes, les Astéracées...etc.

Les flavonoïdes hétérosidiques hydrosolubles s'accumulent dans les vacuoles et, selon les espèces, se présentent dans l'épiderme des feuilles ou entre l'épiderme et le mésophile. En ce qui concerne les fleurs, ils se trouvent concentrés dans les cellules épidermiques. [33]

II.4.1.1.2.3 Activités biologiques des flavonoïdes

En général, les flavonoïdes ont des propriétés antibactériennes [81], mais ils ont également d'autres propriétés intéressantes telles que l'activité anti-inflammatoire, antifongique, [82], anticancéreux, antiulcéreux [74], anxiolytique [83], antidiabétique [84] et une forte activité antioxydante [85], allant jusqu'à 2,5 fois plus élevée que la vitamine C et E [82] qu'est le principe de plusieurs activités biologiques douées par ces molécules. [85]

II.4.1.1.3 Les tanins

Les tanins sont des composés naturels polyphénoliques, hydrosolubles, de masse moléculaire allant de 500 à 3000 Da, à saveur astringente de différentes structures [86]. Ils ont généralement la capacité de tanner la peau, c'est-à-dire de la rendre imputrescible. Effectivement, ces substances possèdent la capacité de se combiner avec les protéines, ce qui explique leur pouvoir tannant. [66]

II.4.1.1.3.1 Structure chimique et classification

Ils forment une vaste famille de molécules qui se caractérisent par la présence d'au moins un noyau aromatique associé à un ou plusieurs groupements phénoliques hydroxylés. Les tanins sont présents dans la nature sous forme libre, tandis que les autres sont présents sous forme d'esters de sucres ou de glycosides. Lorsqu'ils sont décomposés, ils génèrent des phénols tels que le pyrogallol ou le catéchol.

Du point de vue de la structure chimique, il existe actuellement plusieurs types de tanins, les tanins hydrolysables et les tanins condensés (**Figure.14**) étant les principales catégories. Les tanins comprennent également les labiataetanins, les caffetanins et les phlorotanins. Les deux premières catégories sont bien connues et étudiées, tandis que les travaux de recherche sur les autres catégories sont relativement récents. [87]

A. Tanins hydrolysables

Il s'agit de polyesters d'oses et d'acides phénols. Les oses présents dans ces tanins se manifestent principalement par le glucose, ces tanins se distinguent en deux catégories :

- Les **tanins galliques** correspondent aux esters d'oses (glucose) et d'acides galliques,
- Les **tanins ellagiques** qui sont des esters d'oses et d'acide ellagiques.

La fraction osidique est estérifiée dans les deux cas par plusieurs molécules d'acide ellagique

B. Tanins non hydrolysables ou tanins condensées

De structure plus complexe, ils sont également connus sous le nom de pro-anthocyanidines, fréquemment présents dans le règne végétal. Leur composition ne contient pas de sucres ; ils ne sont ni hydrolysés par les acides, ni par les tannasses, mais en présence d'acides forts ou d'agents d'oxydation, ils se transforment en substances rouges : les phlobaphènes (par exemple : rouge de cola). Ces polymères comprennent des catéchines, également connues sous le nom de flavan-3 ol, ainsi que des leuco-anthocyanidines, ou un mélange des deux. [74]

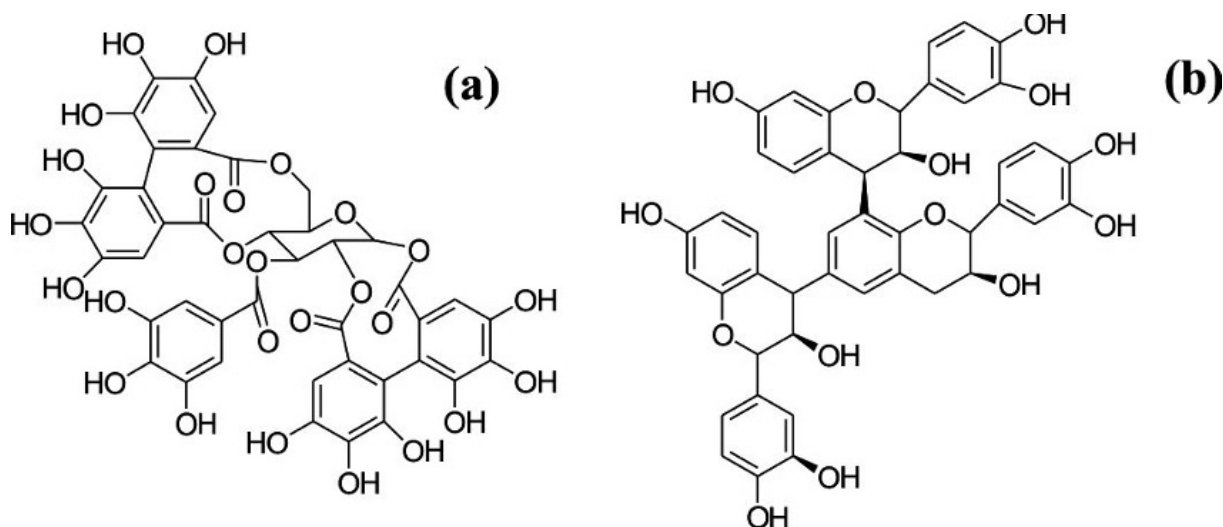


Figure 14: Structure des tanins hydrolysables (a) et condensés(b). [88]

II.4.1.1.3.2 Localisation et distribution

Les tanins sont très répandus dans le règne végétal [89], mais ils sont particulièrement abondants dans certaines familles telles que les fagacées, les rosacées et les conifères [90]. Ils se trouvent dans différents organes. Les concentrations les plus élevées se trouvent fréquemment dans les fruits, les fleurs et les feuilles. [86]

II.4.1.1.3.3 Activités biologiques et thérapeutiques des tanins

Dans la plante, les tanins jouent un rôle biologique important en protégeant sa propre plante contre les infections fongiques et bactériennes [91], les insectes et les animaux herbivores. [92]

Au plan thérapeutique, les tanins contribuent à la guérison des blessures et des muqueuses enflammées. Ils sont employés en usage externe pour soigner les ulcères variqueux, les hémorroïdes, les engelures et les brûlures, ainsi que comme bains de bouche pour traiter l'inflammation et les problèmes parodontaux. En usage interne, ils sont utilisés pour soigner la diarrhée et l'hypersécrétion des muqueuses intestinales. [93]

II.4.2 Composés Azotés : Les alcaloïdes

Il s'agit de composés organiques azotés d'origine végétale, alcalins et complexes (noyau hétérocyclique). Ils se trouvent dans différentes familles de plantes. La majorité des alcaloïdes sont solubles dans l'eau et l'alcool, avec un goût amer, et certains sont extrêmement toxiques. [81]

Les usages pharmaceutiques chez l'Homme comprennent des spasmolytiques (tubocurarine et papavérine), antalgiques (morphine, codéine) et des antitussifs (codéine). [58]

II.4.2.1 Structure chimique des alcaloïdes

Les alcaloïdes (**Figures 15**) sont principalement issus des acides aminés tels que la lysine, le tryptophane, l'ornithine, l'anthranilate, l'aspartate, la phénylalanine et la tyrosine. Ces acides aminés sont décarboxylés en amines et associés à d'autres squelettes carbonés. [94]

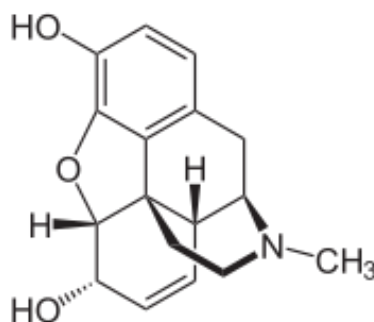


Figure 15: Structure chimique de morphine. [95]

II.4.3 Les terpènes

Les terpénoïdes représentent une grande variété de composés naturels, comprenant environ 15000 molécules différentes, généralement lipophiles. Leurs nombreuses variétés sont causées par le nombre de bases qui composent la chaîne principale de formule $(C_5H_8)_n$, en fonction de la variation de nombre n . Parmi ces composés, on retrouve des composés tels que les monoterpènes, les sesquiterpènes, les diterpènes et les triterpènes.

Ces molécules présentent en forme des huiles essentielles ; Les parfums et les saveurs des plantes, les hormones (acide abscissique), les stérols (cholestérol), les pigments (carotène). [81]

II.4.3.1 Structure chimique et classification

Les terpènes font partie d'un groupe d'hydrocarbures cycliques ou à chaînes ouvertes [96]. Leur formule brute est $(C_5H_x)_n$ (Figure.16) où le x varie en fonction du degré d'insaturation de la molécule et n peut varier (de 1 à 8) à l'exception des polyterpènes qui peuvent atteindre plus de 100 (comme le caoutchouc). L'isoprène est la molécule mère des terpénoïdes, avec la formule C_5H_8 . [97]

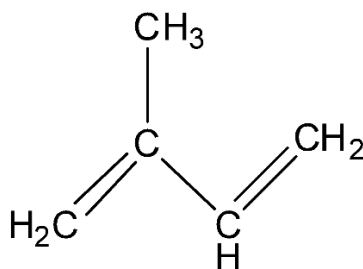


Figure 16: Structure de l'unité isoprénique [98]

En se basant sur le nombre entier d'unités pentacarbonées $(C_5H_8)_n$ ramifiées, dérivées des 2-méthylbutadiènes, on peut procéder à la classification suivante :

- Pour $n = 2$: les monoterpènes (C_{10})
- Pour $n = 3$: les sesquiterpènes (C_{15})
- Pour $n = 4$: les diterpènes (C_{20})
- Pour $n = 5$: les sesterpènes (C_{25})
- Pour $n = 6$: les triterpènes (C_{30})
- Pour $n = 8$: les polyterpènes. [96]

II.4.3.1.1 Les monoterpènes

Il s'agit d'hydrocarbures aliphatiques, saturés ou insaturés [99]. Ils correspondent généralement à la formule brute $C_{10}H_{16}$ [96]. Ils peuvent être acycliques tels que l'ocymène, les

Mycènes..., ou cycliques tels que le pinène, le camphène (**Figure.17**) et même aromatiques tels que le p-cymène. De plus, ils peuvent contenir des atomes d'oxygène. [99]



Figure 17: Structure de Camphène [96]

II.4.3.1.2 Les sesquiterpènes

C'est la classe des terpènes la plus variée [99]. Leur composition est composée de trois unités d'isoprène (**Figure.18**), dont la formule est $C_{15}H_{24}$. Il est possible que les sesquiterpènes soient aussi monoterpènes, acycliques (comme le farnésol), monocycliques (comme l'humulène, l' α -Zingibérène) ou polycycliques (comme le longifolène, la matricine, l'artémisinine). Ils contiennent également des propriétés telles que l'alcool, les esters et les aldéhydes. [96]

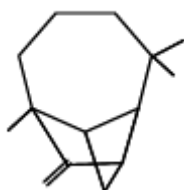


Figure 18: Structure de Longifolène [96]

II.4.3.1.3 Les diterpènes ou les biterpénoïdes

Il s'agit d'hydrocarbures dérivés de la formule ($C_{20}H_{32}$) qui contiennent quatre unités d'isoprènes (**Figure 19**). Les diterpènes sont nettement moins répandus que les mono et. Ils peuvent être acyclique (phytol), monocyclique (vitamine A, α -camphorène), dicyclique (acide agathique), ou tricyclique (acide abiétique). [96]

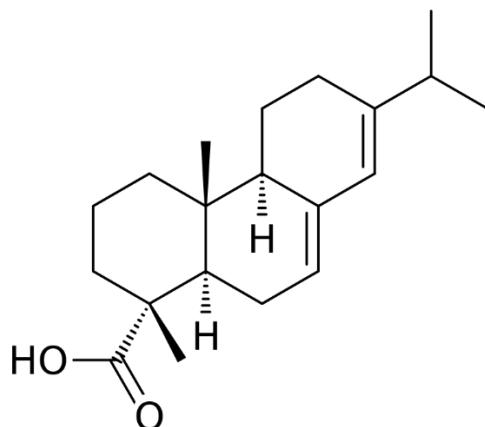


Figure 19: Exemple de diterpènes (acide abiétique). [100]

II.4.3.1.4 Les triterpènes

Les triterpènes ont un grand groupe diversifié d'origine naturelle [101] (plus de 1700 triterpènes) [97], qui contient 30 atomes de carbone (**Figure.20**) [101] issus de la cyclisation de l'époxysqualène ou du squalène [75]. Ils sont très répandus, notamment dans les résines, à l'état libre (triterpènes pentacycliques, phytostérols squalène), ou sous formes d'hétérosidiques (saponosides). Les triterpènes peuvent être sous forme acycliques, Tétracyclique, Pentacyclique. [96]

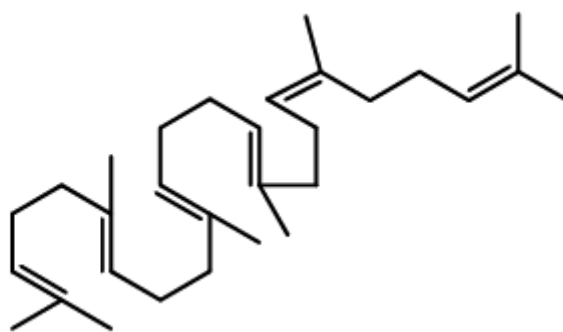


Figure 20: Structure de squalène. [96]

II.4.3.2 Produits de dégradation des triterpènes

II.4.3.2.1 Les stéroïdes

Les stéroïdes (**Figure.21**) ne sont pas des terpènes mais des composés de biodégradation de triterpènes [102], Ils ont moins de 30 atomes de carbone et sont synthétisés à partir d'un triterpène acyclique. [63]

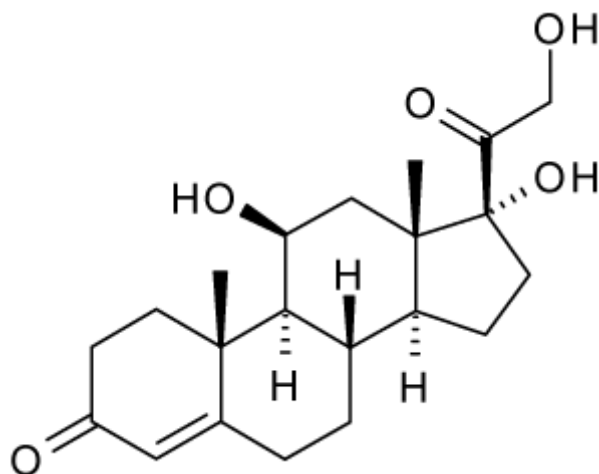


Figure 21: Structure du cortisol : un glucocorticoïde. [103]

II.4.3.2.2 Les saponines ou saponosides

Ils sont constitués d'aglycones non polaires associés à un ou à plusieurs sucres. L'association de composants structuraux polaires et non polaires explique leur aspect moussant en solution aqueuse. [104]

L'activité biologique des saponines est très diversifiée, incluant l'activité expectorante, anti-inflammatoire, analgésique, antidiabétique, chimio-préventive, antitumorale ainsi que des effets protecteurs du foie, neuroprotecteurs, antithrombotiques et antituberculeux. [105]

II.4.3.2.3 Les polyterpènes

Il s'agit de macromolécules, constituées d'un grand nombre d'unités d'isoprène. Ces polyisoprénoides ont une structure linéaire ; dans le règne végétal, tels que la gutta, le caoutchouc.... [96] L'agglomération des particules de polyterpène permet de refermer les lésions. [75]

II.4.4 Les huiles essentielles

Les végétaux sont capables de se défendre contre les éléments externes, que ce soit par leur composition chimique telle que les molécules toxiques ou repoussantes, ou par leur structure physique telle que les épines, les anguilles, etc., elles génèrent des huiles essentielles en tant que métabolites secondaires.

Une huile essentielle (HE) est un mélange extrêmement complexe de composés chimiques, qui se présente sous forme liquide à température ambiante. La volatilité de ses composants lui confère souvent un parfum très odorant [106]. Elle est produite à partir d'une

matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement par la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage. [102]

Les huiles essentielles possèdent des propriétés antitoxiques, antivenimeuses, antiparasitaires et antivirales ce qui explique leur large utilisation dans les secteurs pharmaceutique, cosmétique et alimentaire. Toutefois, une seule huile peut être utilisée à plusieurs reprises. [107]

Chapitre III

Matériels et méthodes

III.1 Objectif

L'objectif de cette étude est la détermination des principaux métabolites secondaires et l'évaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydante des différents extraits de la partie aérienne (feuilles) du *Ziziphus lotus*.

III.2 Matériel végétal

III.2.1 Choix de la plante utilisée

La sélection de la plante étudiée a principalement été effectuée en fonction de son intérêt et de sa fréquence d'utilisation en médecine populaire, ainsi que de sa richesse en métabolites primaires et secondaires. [108]

Les feuilles jouent un rôle essentiel en tant que lieu de réaction photochimique et de stockage des matières organiques qui en découlent. [109]

III.2.2 Récolte

L'espèce choisie a été recueillie dans son milieu naturel. Le *Zizyphus lotus* a été récolté en avril 2024 dans la région de Sour El Ghoulane, une ville située au nord de l'Algérie, dans la wilaya de Bouira. Cette région bénéficie d'un climat tempéré méditerranéen avec des étés chauds et secs. Elle est localisée aux coordonnées géographiques suivantes : Latitude : 36° 8' 50" Nord et longitude : 3° 41' 26" Est, à une altitude de 886 m.



Figure 22: Vue générale de la plante de zizyphus lotus prise à partir du site d'étude

III.2.3 Séchage

Le processus de séchage implique la déshydratation du végétal, cette étape cruciale permet la conservation des principes actifs de la plante et sa protection contre toute dépréciation ou pourriture. L'objectif principal du séchage est de faire disparaître l'eau des plantes pour permettre leur stockage.

Le matériel végétal collecté a été mis dans un endroit aéré sur du papier cartonné, à l'abri du soleil et à température ambiante.

III.2.4 Broyage

Après avoir complètement séché l'humidité et retiré les feuilles, les échantillons de plantes sont réduits séparément en poudre pour une analyse ultérieure à l'aide d'un broyeur électrique, jusqu'à ce qu'ils soient fins et homogènes. La poudre est conservée ensuite dans des bocaux en verre à l'abri de la lumière jusqu'à l'utilisation afin d'éviter la photo-oxydation des substances actives. Le broyage permet d'améliorer l'efficacité de l'extraction en augmentant la surface des plantes. [82]

III.2.5 Identification de la plante

Cette plante a été identifiée par Monsieur BAIK Nouredine (MCA), de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre, Département de Biologie, Université Akli Mohand Oulhadj de Bouira.

III.2.6 Evaluation du taux d'humidité du matériel végétal

La teneur en eau de Zizyphus Lotus a été mesurée en séchant 3 g de la plante (feuilles) fraîche dans une étuve isotherme à $103^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$ et à la pression atmosphérique, jusqu'à ce que la masse se stabilise (environ 6 heures). [110]

La teneur en eau est la différence entre le poids de l'échantillon avant et après le séchage lorsque leur poids soit constant. [111]

Le Calcul du pourcentage du taux d'humidité TH est donné selon la formule :

$$\text{TH}\% = \frac{(M_1 - M_2)}{M_1} \times 100$$

Où :

M₁ : Masse initiale d'échantillon (en g) ;

M₂ : Masse après séchage (en g) ;

TH : Taux d'Humidité (en %). [110]

La teneur en matière sèche est calculée selon la relation :

$$\text{MS \%} = 100 - \text{TH \%}.$$

III.2.7 Matériels et produits chimiques utilisés

Les produits chimiques et les équipements qui ont été utilisés sont présentés dans les tableaux suivants :

Tableau 4: Liste des produits utilisés.

Produits	Formule chimique	Produits	Formule chimique
Acide ascorbique	C ₆ H ₈ O ₆	Eau physiologique	
Acide chlorhydrique	HCl	Ethanol	C ₂ H ₅ OH
Acétate d'éthyle	C ₄ H ₈ O ₂	Ether de pétrole	CH ₃ -(CH ₂) n-CH ₃
Acide gallique	C ₇ H ₆ O ₅	Gélose Mueller Hinton	
Acide sulfurique	H ₂ SO ₄	Gélose Nutritive	
Anhydride acétique	C ₄ H ₆ O ₃	Hydroxyde d'ammonium ou ammoniacque	NH ₄ OH
Carbonate de sodium	Na ₂ CO ₃	Hypochlorite de sodium (Eaux de javel)	NaClO
Chloroforme	CHCl ₃	Iode	I ₂
Chlorure de mercure	HgCl ₂	Iodure de potassium	KI
Chlorure de sodium	Na Cl	Méthanol	CH ₃ OH
Chlorure de zinc	Zn Cl ₂	Réactif de Folin Ciocalteu	
DMSO	C ₂ H ₆ OS	Trichlorure d'aluminium	AlCl ₃
DPPH	C ₁₈ H ₁₂ N ₅ O ₆		
Eau distillé stérile	H ₂ O	Zinc métallique	Zn

Tableau 5: Liste des équipements utilisés

Equipements	
Nom	Marque
Agitateur magnétique	VELP
Bain marie	MEMMERT
Balance magnétique	OHAUS
Balance de précision	OHAUS
Broyeur électrique	BOMANN
Etuve	BINDER
Incubateur	MEMMERT
Lampe UV	
Rota vapeur	HEIDOLPH
Spectrophotomètre UV-VISIBLE	SHIMADZU UV-1280
Vortex	VELP

III.3 Méthode utilisée

III.3.1 Choix de la méthode d'extraction

Les composés phénoliques peuvent être présents en quantités différentes dans les matières végétales. La grande variabilité des propriétés physico-chimiques qui influencent l'extraction de ces derniers est due à cette diversité structurale.

La solubilité des composés phénoliques est principalement influencée par la polarité du solvant employé. Ainsi, la recherche d'un procédé d'extraction adapté à l'extraction de tous les composés phénoliques de la plante est extrêmement complexe.

Cette étude a été axée sur les composés phénoliques et la macération à froid a été utilisée comme la méthode la plus adaptée à leur extraction. [112]

III.3.2 Principe de la macération à froid

Elle consiste en la mise en contact du matériel végétal avec un solvant approprié, avec ou sans agitation [113], pendant une période de 30 minutes à 48 heures [114]. Son principe repose sur la capacité des composés bioactifs à se dissoudre dans un solvant d'extraction. En général, l'intérêt de la macération réside dans la préservation des principes actifs tout au long du processus [113], en particulier ceux qui sont thermolabiles [114]. On l'emploie fréquemment pour extraire les alcaloïdes, les flavonoïdes, les tanins et les terpènes... [115]

III.3.3 Extraction des composés phénoliques

III.3.3.1 Mode opératoire

Il est essentiel que le volume du solvant d'extraction soit adéquat afin de maintenir la matrice immergée tout au long de l'extraction. Dans la littérature scientifique, les ratios optimums liquide/solide les plus fréquemment mentionnés se situent entre 1/10 et 1/50. [116]

Le ratio 1/10 (5g dans 50ml) a été sélectionné pour toutes les extractions réalisées.

Par conséquent, pour l'extrait aqueux, on a mis à macérer 5g de matière végétale (broyat) obtenue auparavant avec 50ml d'eau distillée pendant 24h, en agitation pendant une heure.

Il est nécessaire de répéter cette opération trois fois avec un renouvellement de solvant après chaque filtration, et ce, toutes les 24 heures, en agitation d'une heure à chaque fois, afin d'extraire le maximum de substances actives.

Les trois filtrats obtenus sont mélangés et évaporés à l'aide d'un évaporateur rotatif.

On procède de la même façon aux extraits hydroalcooliques (hydro-éthanolique et hydrométhanolique) en substituant l'eau distillée par un mélange alcool-eau (méthanol-eau ; éthanol-eau) à 70% d'alcool. [117]

Les étapes à suivre pour effectuer les extractions sont résumées dans l'organigramme présenté dans la (**figure 23**).

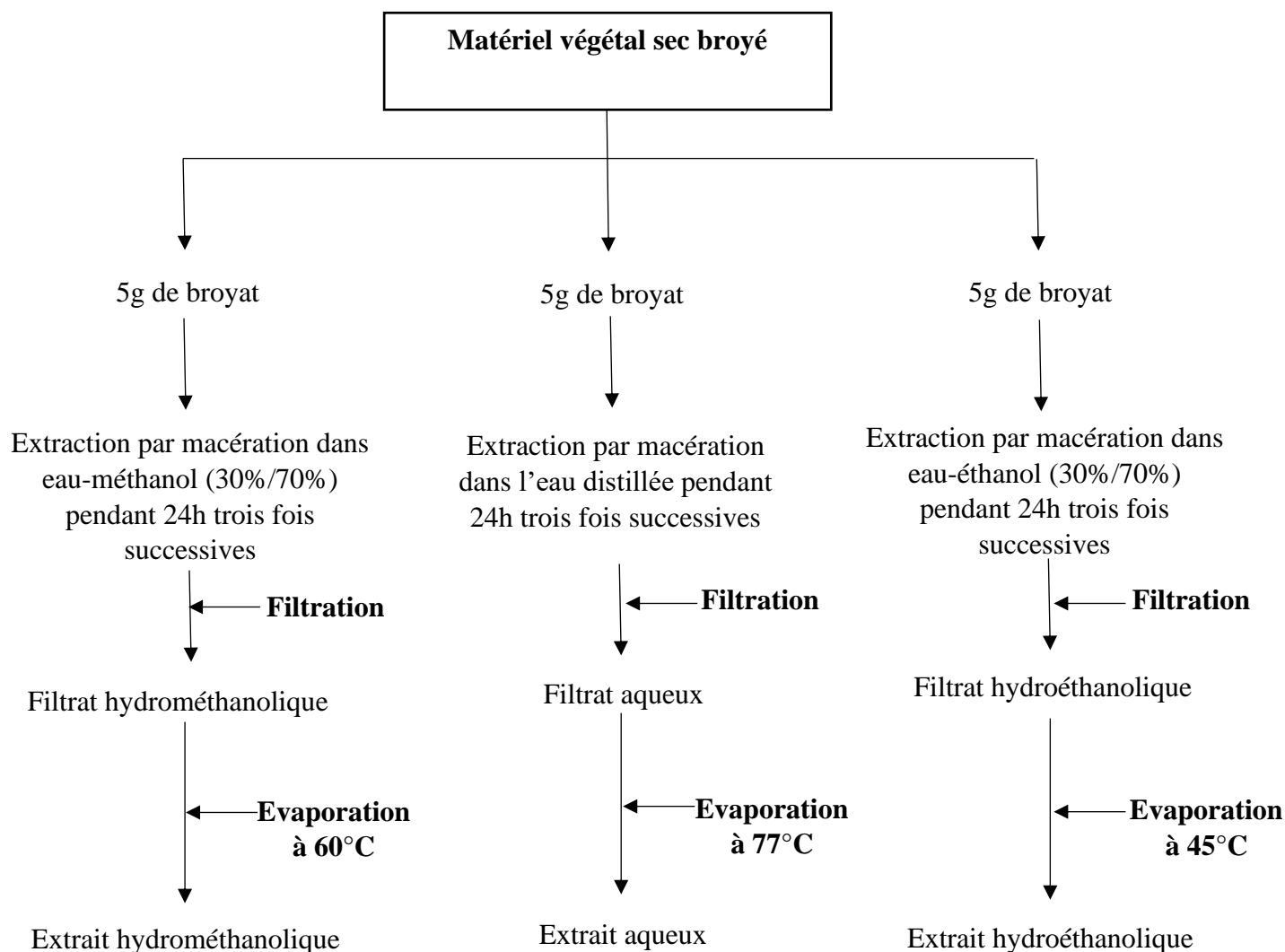


Figure 23: Organigramme récapitulatif des étapes d'extraction.

III.3.4 Rendement des extraits

Le rendement en pourcentage (%), correspond à la proportion entre la masse d'extrait sec obtenue après évaporation et celle de la plante sèche (broyat).

Ainsi, on calcule le rendement en extrait sec en utilisant le rapport suivant :

$$R\% = (M_{\text{ext}} / M_{\text{ech}}) \times 100$$

Où :

R : Rendement d'extraction en pourcentage (%) ;

M_{ext} : Masse de l'extrait après évaporation du solvant en gramme ;

M_{ech} : Masse sèche de l'échantillon végétal en gramme. [117]

III.3.5 Screening phytochimique

Il s'agit de techniques qualitatives utilisées pour repérer les divers groupes chimiques présents dans un organe végétal. Les résultats de ces tests reposent sur des réactions de précipitation et de complexation, ce qui entraîne la formation de complexes insolubles et colorés. [118]

Les trois extraits : aqueux, MeOH-eau et EtOH-eau ont été soumis à ces tests.

III.3.5.1 Détection de l'amidon

Le test a été réalisé en chauffant 5 ml de l'extrait (aqueux, hydro-éthanolique, hydrométhanolique) avec 10 ml d'une solution de Na Cl saturée dans un bain marie jusqu'à l'ébullition, ensuite, on ajoute le réactif d'amidon. On constate un test positif par l'apparition d'une couleur bleu violacé. [119]

III.3.5.2 Détection des saponosides

Les saponosides se distinguent par leur indice de mousse. Elles sont détectées en ajoutant un peu d'eau à 2 ml de l'extrait (aqueux, hydro-éthanolique, hydrométhanolique) après l'agitation, le mélange reposant pendant 20 minutes, et la teneur en saponosides est évaluée :

Pas de mousse = test négatif

Mousse moins de 1cm = test faiblement positif

Mousse de 1-2cm = test positif

Mousse plus de 2cm = test très positif. [102]

III.3.5.3 Détection des tanins

On peut détecter la présence de tanins en ajoutant 1 ml d'extrait (aqueux, hydro-éthanolique, hydrométhanolique) à 1 ml d'eau et 1 à 2 gouttes de solution de FeCl_3 diluée 10 fois. Le développement d'une coloration vert foncé ou bleu-vert indique la présence de tanins. [120]

III.3.5.4 Détection des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont détectés en traitant 5 ml de l'extrait (aqueux, hydro-éthanolique, hydro hydrométhanolique) avec 1 ml d'HCl concentré et 0,5g de zinc métallique. On constate la présence de flavonoïdes lorsque la couleur rose ou orange se manifeste après 3 minutes. [102]

L'apparition d'une couleur rouge après quelques minutes d'ajout d'un mélange de zinc et d'acide chlorhydrique concentré à la solution a été considéré comme positive pour les flavonoïdes. [121]

III.3.5.5 Détection des alcaloïdes

Introduire 1 ml de l'extrait à analyser dans deux tubes à essai (aqueux, hydro-éthanolique, hydrométhanolique). Ajouter quelques gouttes de HCl à l'acidité du milieu, puis ajouter quelques gouttes de réactif de Mayer dans le premier tube, puis quelques gouttes de réactif de Wagner dans le second. La présence d'un précipité de couleur blanche ou brune, respectivement, indique la présence d'alcaloïdes. [120]

III.3.5.6 Détection des stérols et triterpènes : La réaction de Lieberman

Burchardt

Dans un tube à essai, introduire 5 ml de l'extrait à analyser (aqueux, hydro-éthanolique, hydrométhanolique), ajouter 5ml d'anhydride acétique, 5ml de chloroforme et 1 ml d'acide sulfurique (H_2SO_4) concentré dans la paroi du tube sans agitation. Laisser reposer 20 min.

La présence de stérols et triterpènes est révélée par la formation d'un anneau rouge brunâtre à la zone de contact des deux liquides et par la coloration violette de la couche surnageant. [122]

III.3.5.7 Détection des terpénoïdes : Test de Slakowski

Ajouter 0,4 ml de chloroforme et 0,6 ml d'acide sulfurique concentré à 2,5 ml d'extrait (aqueux, hydro-éthanolique, hydrométhanolique) dans un tube à essai. Un anneau marron-rouge se forme à l'interphase indique la présence des terpénoïdes. [123]

III.3.5.8 Détection des glycosides cardiaques

Chaque extrait (aqueux, hydro-éthanolique, hydrométhanolique) a été dissous avec 2 ml de chloroforme, l'acide sulfurique concentré a été ajoutée avec précaution afin de créer une couche rougeâtre foncée à l'interface de l'anneau stéroïde, ce qui suggère la présence de glycosides cardiaques.

III.3.5.9 Détection des anthocyanes

L'ajout de 1 ml d'extrait (aqueux, hydro-éthanolique, hydrométhanolique), 3 ml de H_2SO_4 concentré et 1 ml de NH_4OH permet de détecter la présence d'anthocyanes. Si la coloration s'intensifie par acidification puis se transforme en bleu en milieu basique, on peut conclure à la présence d'anthocyanes. [102]

III.3.5.10 Détection des stéroïdes

On ajoute 5 ml d'anhydride acétique à 5 ml de chaque extrait dans un tube à essai, puis on ajoute 0,5 ml de H_2SO_4 concentré. La présence d'une coloration violette qui se transforme en bleu puis en vert témoigne d'une réaction positive. [102]

III.3.6 Détermination de la teneur en polyphénols

III.3.6.1 Dosage des composés phénoliques totaux

La quantité totale de composés phénoliques a été estimée à l'aide de la méthode de Folin-Ciocalteu.

III.3.6.1.1 Principe

Folin-Ciocalteu est un réactif composé d'un mélange d'acide phosphotungstique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$). Il se transforme, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}).

La présence d'une coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle aux taux de composés phénoliques dans le milieu entraîne une absorption maximale à 760 nm.

III.3.6.1.2 Réactifs et extraits utilisés

- Un polyphénol témoins : l'acide gallique pour la réalisation de la gamme d'étalonnage en milieu aqueux.
- Réactif de Folin-Ciocalteu 10 fois dilué.
- Bicarbonate de sodium à 7.5 %. [124]

III.3.6.1.3 Mode opératoire

a. Préparation de la gamme d'étalonnage de l'acide gallique

À partir d'une solution mère de 1 mg/ml de concentration, une gamme de 8 concentrations d'acide gallique a été préparée.

Tableau 6: Gamme d'étalonnage de l'acide gallique.

N° des tubes	1	2	3	4	5	6	7	8
Concentration finale de l'acide gallique en mg/ml	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05	0.06	0.07	0.08

b. Analyse du standard et des extraits

- Introduire 200 μl de la solution d'acide gallique à différentes concentrations dans les tubes d'une première série et 200 μl de chaque échantillon à analyser dans les tubes d'une deuxième série ;

- Dans chaque tube, on ajoute 1000 µl du réactif Folin Ciocalteu, suivi de 800 µl de la solution de bicarbonate de sodium ;
- Agitation suivie d'une incubation dans l'obscurité pendant une demi-heure ;
- Lecture des absorbances à une longueur d'onde de 760 nm ;
- Le blanc est donc constitué de 1000 µl de Folin Ciocalteu, ajouté à 800 µl de carbonate de sodium à une teneur de 7,5 %.

c. Expression des résultats

La concentration en composés phénoliques totaux est calculée en utilisant la courbe d'étalonnage de l'acide gallique. [124]

Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g d'ES) selon la formule suivante :

$$Tp = \frac{C_0 \times V_0 \times F}{M_{ext}}$$

Où :

Tp : la teneur en polyphénols en mg EAG/g d'ES ;

C₀ : la concentration de l'extrait obtenue à partir de la courbe d'étalonnage en mg EAG/ml ;

V₀ : le volume final de la solution (volume des réactifs + volume de la solution fille) ;

F : le facteur de dilution ($F=V_m/V_f$) dont V_m est le volume de la solution mère en ml et V_f est le volume de la solution fille prélevé en ml ;

M_{ext} : la masse d'extrait solubilisée pour préparer la solution mère en g. [125]

III.3.7 Extraction des tanins

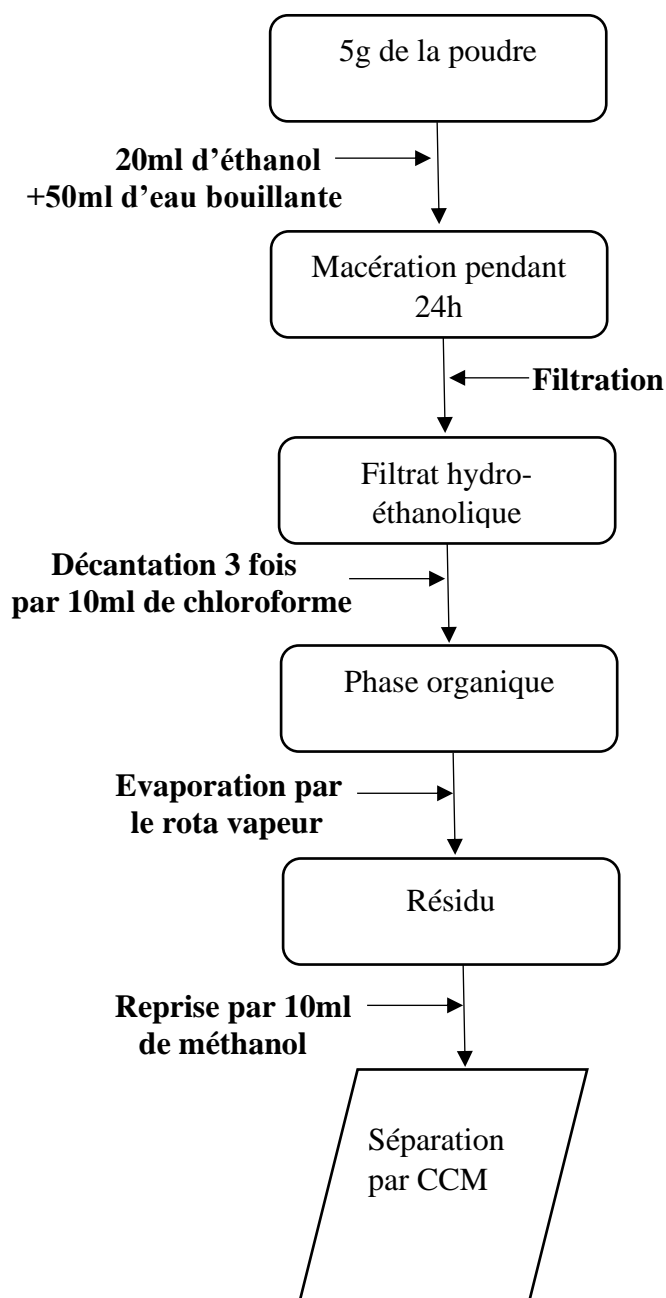


Figure 24: schéma des différentes étapes suivies lors de l'extraction des tanins.

III.3.8 Rendement de l'extrait tannique

Le rendement de l'extrait brut est défini comme la proportion entre la masse de l'extrait sec obtenu et la masse du matériel végétal traité. Ce rendement est calculé via l'équation :

$$R\% = (M_e / M_s) \times 100$$

Où :

R % : Rendement en % ;

M_e : Masse de l'extrait après l'évaporation du solvant ;

M_s : Masse de la plante sèche. [126]

III.3.9 Séparation des tanins par Chromatographie sur Couche Mince (CCM)

III.3.9.1 Principe de la méthode

La chromatographie sur couche mince (CCM) consiste principalement à effectuer une chromatographie liquide sur une couche de particules d'une substance polymérisée fixées sur un support planaire.

Il s'agit d'une méthode d'analyse rapide, facile et peu coûteuse, employée lors de la séparation et de l'identification des métabolites secondaires. Elle est principalement basée sur des processus d'adsorption : la phase mobile est un solvant ou un mélange de solvant qui se déplace le long d'une phase stationnaire fixée sur une phase de verre ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou d'aluminium. Une fois l'échantillon placé sur la phase stationnaire, les substances se déplacent à une vitesse qui varie en fonction de leur nature et de celle du solvant.

III.3.9.2 Principaux éléments de la CCM

Les principaux éléments d'une séparation chromatographique sur couche mince sont :

1. **Une cuve chromatographique** : Il s'agit d'un récipient en verre, de différentes formes, avec un couvercle imperméable.
2. **Une phase stationnaire** : Il s'agit d'une couche d'adsorbant qui est étendue de manière homogène sur un support en aluminium ou en verre de dimensions différentes. Le gel de silice est un adsorbant couramment employé qui permet de séparer les substances lipophiles et hydrophiles d'un mélange.
3. **Une phase mobile** : Il s'agit de l'éluant, qui est un solvant pur ou un mélange qui se déplace lentement le long de la plaque en entraînant les composants de l'échantillon déposé.
4. **L'échantillon** : Il est fréquemment solubilisé dans un solvant volatil qui n'est pas nécessairement identique à l'éluant. [96]

III.3.9.3 Mode opératoire

- Après avoir placé l'échantillon et le standard sur la plaque de gel de silice, la plaque est ensuite introduite dans la chambre de migration préalablement saturée par la phase mobile.

- Le mélange d'éther de pétrole/acétate d'éthyle (8 : 2 v/v) est utilisé comme système de migration.
- La plaque a été séchée à l'aide d'un sèche-cheveux après avoir été exposée à la lampe UV à 254 nm, puis a été pulvérisée avec du chlorure d'aluminium (AlCl_3) à 2% préparé dans du méthanol à 98%.
- Une fois la plaque CCM développée et séchée sans être vaporisée, elle est ensuite observée à la lampe UV à 254 nm afin de détecter les spots provenant de la séparation.
- Après avoir repéré et délimité les spots, on détermine le rapport frontal (R_F) de chaque constituant de la manière suivante :

$$R_F = h / H$$

R_F : Rapport frontal ;

h : Distance parcourue par le constituant ;

H : Distance parcourue par le solvant. [58]

III.3.10 Activités biologiques

III.3.10.1 Activité antioxydante

Le développement des moyens de protection antioxydante contre les effets potentiellement destructeurs des radicaux libres régule la production de radicaux libres. Il est possible de définir un antioxydant comme toute substance qui, à une concentration relativement faible, peut rivaliser avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher leur oxydation. Le test au DPPH est l'une des méthodes utilisées pour évaluer l'activité antioxydante. [93]

III.3.10.1.1 Principe du radical DPPH

Le DPPH (2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl) est un radical libre stable de couleur violacée qui absorbe à 517 nm. Le radical DPPH est diminué en présence de composés antiradicalaires et se transforme en jaune. Les absorbances mesurées permettent de déterminer le taux d'inhibition du radical DPPH, qui est lié au pouvoir antiradicalaire de l'échantillon.

Sur le plan méthodologique, on recommande l'utilisation du test du radical libre DPPH pour les composés contenant des groupements SH, NH et OH. Le processus est réalisé à température ambiante, ce qui évite tout risque de dégradation thermique des molécules thermolabiles. Le test est couramment employé dans le processus d'évolution des extraits hydrophiles très riches en composés phénoliques. Cette méthode repose sur l'évaluation de la capacité des antioxydants à piéger le radical libre de DPPH. [127]

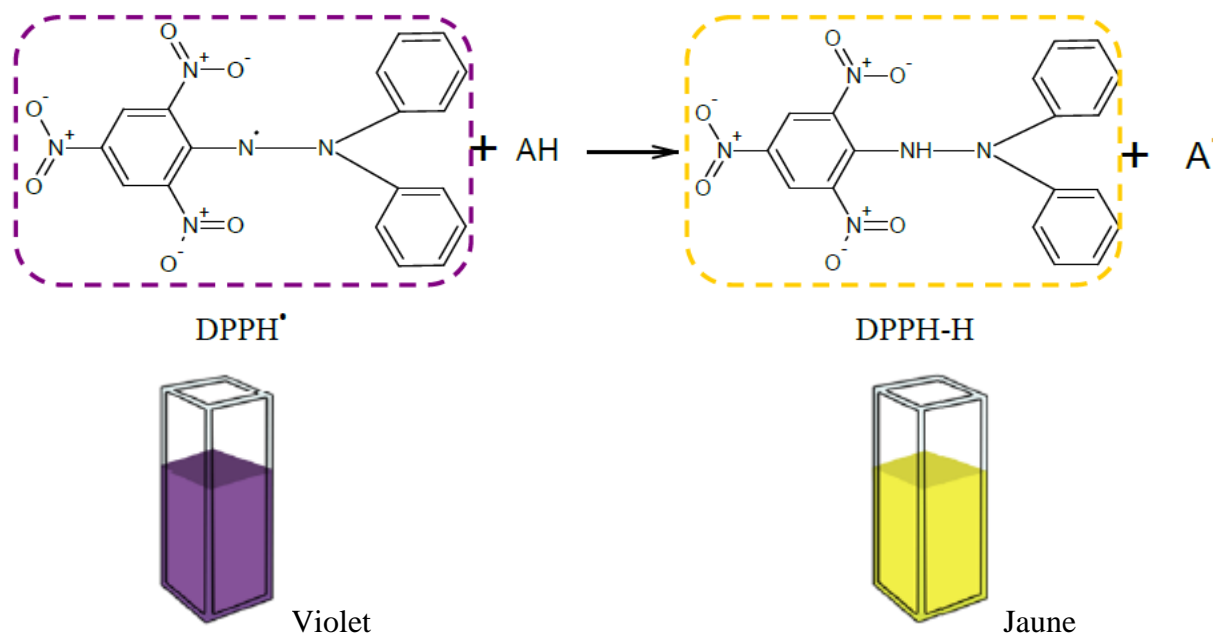


Figure 25: Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH^\bullet entre l'espèce radicalaire DPPH^\bullet et un antioxydant (AH). [58]

III.3.10.1.2 Mode opératoire

La méthode suivante permet d'évaluer l'effet piègeur ou le pouvoir antiradicalaire des extraits (aqueux, MeOH-eau et EtOH-eau) des feuilles de zizyphus lotus vis-à-vis du radical DPPH :

Chaque extrait a été dilué avec du méthanol pour obtenir trois concentrations différentes (0.5, 1, 2, 4 mg/ml). En revanche la solution de DPPH est préparée en dissolvant 1 mg de DPPH dans 50 ml de méthanol.

Ajouter un volume de 50 μl de chaque solution d'extrait de chacune des trois concentrations à 950 μl de la solution de DPPH. Le mélange est vigoureusement secoué et laissé pendant 30 minutes à température ambiante et à l'abri de la lumière. L'absorbance du DPPH est mesurée par spectrophotométrie visible à 517nm.

La solution d'un antioxydant standard, l'acide ascorbique, est utilisée comme contrôle positif (plusieurs concentrations de solution d'acide ascorbique ont été expérimentées), avec une mesure de l'absorbance dans les mêmes conditions que les extraits. Le contrôle négatif est constitué du méthanol. [128]

Les résultats sont exprimés en termes de pourcentage d'inhibition (I%)

$$\text{PI}\% = (\text{Abs contrôle} - \text{Abs test}) / \text{Abs contrôle} \times 100$$

Avec :

PI% : Pourcentage d'inhibition ;

Abs contrôle : Absorbance du contrôle négatif ;

Abs test : Absorbance de l'échantillon testé.

Les concentrations inhibitrices requises pour piéger et réduire 50% de moles du radical libre DPPH (IC50) sont représentées graphiquement grâce aux régressions exponentielles des graphes tracés : pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations des fractions testées.

Plus la valeur d'IC50 est faible, plus l'activité de l'extrait testé est élevée. [129]

III.3.10.2 Activité antimicrobienne

Au cours des dernières années, de nombreux microorganismes ont développé une résistance aux antibiotiques, ce qui a conduit les chercheurs à orienter leurs recherches vers de nouvelles voies qui sont à l'origine de nouveaux médicaments à base de plantes, sous forme de métabolites secondaires. Les polyphénols, notamment les flavonoïdes et les tanins, sont connus pour leur toxicité envers les microorganismes. Il est possible que le mécanisme de toxicité soit associé à l'inhibition des enzymes hydrolytiques ou à d'autres interactions visant à inactiver les microbes, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire. [93]

III.3.10.2.1 Souches microbiennes testées

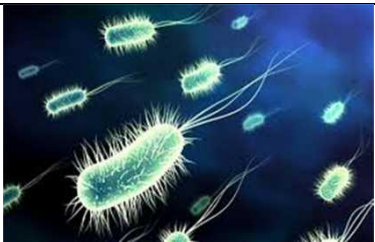


Les souches bactériennes employées lors de notre étude sont constituées par :

- *Escherichia coli* (ATCC 25922) (*E coli*) ;
- *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) (*S aureus*) ;

La souche fongique testée est le champignon :

- *Candida albicans* (ATCC 14053). [74]

Tableau 7: Description des souches microbiennes testées.

Espèce microbienne	<i>Escherichia coli</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Structure			
Références	ATCC 25922	ATCC 14053	ATCC 25983
Caractères Principaux	Bacille, Gram négatif, mobile (à ciliature péritriche) aéro-anaérobie facultatif, température optimale : 37°C. [130]	Champignon polymorphe qui a la capacité d'alterner rapidement entre les formes de cellules rondes (levures) et de filaments pseudo mycéliens ou hyphes. [74]	Cocci à gram positif, immobile, pigmenté à jaune, non sporulé, grouper en amas « grappes de raisin », température optimale à 37°C. [130]

III.3.10.2.2 Protocole d'évaluation de l'activité microbienne (test de sensibilité)

L'activité antimicrobienne a été évaluée en utilisant la méthode de diffusion en gélose, également appelée méthode de diffusion par disques. [124]

❖ Principe

Le principe de cette méthode consiste à utiliser des disques de papier Wattman n°1 de 9 mm de diamètre. Les disques ont été immergés dans diverses solutions contenant des extraits dissous dans du DMSO (diméthylsulfoxyde). Par la suite, ces disques sont placés à la surface d'un milieu écouvillonné avec une suspension microbienne ayant une densité optique de 0,5 McFarland. Le milieu Muller Hinton a été utilisé pour les souches microbiennes. À la fin de la période d'incubation (18-24 heures) pour les souches bactériennes et 48 heures pour la levure à une température de 37°C, les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés.

a. Repiquage des souches microbiennes (Préparation des précultures) :

Avant de procéder aux tests antimicrobiens, un repiquage est réalisé sur un milieu solide. La méthode des stries a été utilisée pour repiquer les différents germes (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans*) dans des boîtes de pétri contenant de la gélose nutritive, puis incubée à 37°C pendant 24 heures pour obtenir des cultures jeunes qui seront utilisées pour préparer l'inoculum. [131]

b. Préparation des disques

- Découper les disques de papier filtre d'un diamètre de 9mm (wattman n°1) ;

- Placer les disques dans l'étuve à une température de 120°C pendant 24 heures et les conserver jusqu'à leur utilisation.

c. Préparation des inoculums

• Dans la zone septique du bec bunsen et à partir d'une culture pure de 18 h sur milieu d'isolement gélose nutritive, ensemercer avec une pipette pasteur quelques colonies bien isolées et identiques de chaque souche bactérienne à tester ;

- Diluer dans 10 ml d'eau physiologique stérile ;
- Effectuer une homogénéisation optimale de la suspension bactérienne, avec une opacité équivalente à 0,5 McFarland ;
- Pour ajuster l'inoculum, il est possible d'ajouter soit de la culture s'il est trop faible, soit de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort ;
- La préparation de l'inoculum doit être effectuée dans les 15 minutes qui suivent l'ensemencement.

d. Préparation des milieux de culture

- Faire liquéfier le milieu de culture Muller Hinton (**Annexe 2**) afin de favoriser la prolifération des bactéries dans un bain marie ;
- Verser aseptiquement le milieu de culture gélosé dans les boîtes de Pétri, à hauteur d'environ 4 mm, à raison de 20 ml par boîte ;
- Fermer et laisser refroidir et solidifier à température ambiante, et conserver dans des conditions à l'abri de toute contamination ou modification de leur composition. [132]

e. Ensemencement et dépôt des disques

- Il suffit de tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne ;
- En le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube, il est possible de l'essorer ;
- En stries serrées, frotter l'écouvillon sur toute la surface gélosée, de haut en bas, Il est nécessaire de répéter l'opération deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois. En terminant l'ensemencement, il convient de passer l'écouvillon sur la périphérie de la gélose ;
- À chaque fois, il est nécessaire de recharger l'écouvillon si plusieurs boîtes de Pétri sont ensemencées avec la même souche ;
- Par la suite, des disques de papier Wattman n°1 de 9 mm de diamètre sont remplis d'une petite quantité d'extraits (plus de 20 µl par disque) et placés sur la surface de la gélose inoculée.

f. Lecture des antibiogrammes

- La lecture des antibiogrammes (**Tableau.08**) a été effectuée en utilisant un pied à coulisse ou une règle, elle a été réalisée en dehors de la boîte.
- Une zone d'inhibition autour du disque d'un diamètre supérieur à 9 mm est considérée comme active lorsqu'on n'observe aucune croissance bactérienne à l'intérieur de celle-ci.

Tableau 8: degré de sensibilité des souches microbiennes selon le diamètre de la zone d'inhibition. [132]

Echelle de sensibilité des souches	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)
Non sensible / résistante (-)	$\varnothing < 8$ mm
Sensible (+)	$9 < \varnothing < 14$ mm
Très sensible (++)	$15 < \varnothing < 19$ mm
Extrêmement sensible (+++)	$\varnothing > 20$ mm

Chapitre IV

Résultats et discussion

IV.1 Taux d'humidité de la plante

TH=54.47%

Le taux d'humidité estimé pour les feuilles de *Zizyphus lotus* est de 54,47 %. Cela implique que plus de la moitié du poids de la plante que nous avons utilisée est composée d'eau. La (Figure.26) illustre le résultat.

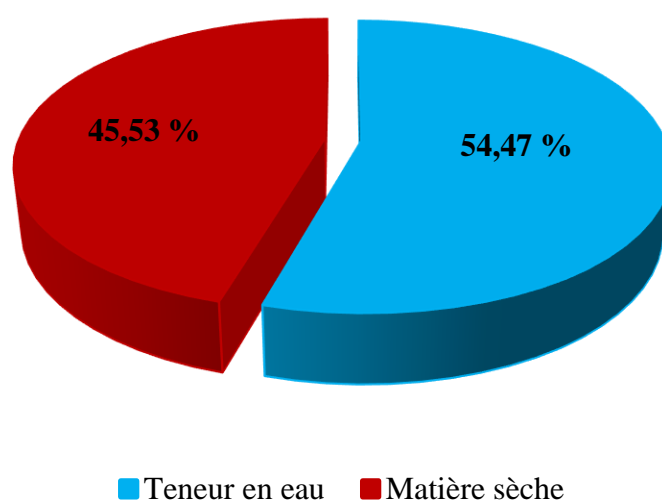


Figure 26: Teneur en eau et en matière sèche du *Zizyphus lotus*.

La teneur en eau que nous avons obtenue pour *Zizyphus lotus* est très élevée par rapport aux teneurs observées chez d'autres variétés du même genre d'occurrence.

Il est probable que cela soit dû à la variabilité des conditions climatiques et à la répartition géographique. [68]

IV.2 Rendement des extraits

Les rendements des extraits aqueux, EtOH-eau et MeOH-eau sont représentés dans le (Tableau.09).

Tableau 9: Rendement des extraits secs des feuilles de *zizyphus lotus*.

Extraits bruts	Masse de l'extrait sec (g)	Rendement (%)
Extrait aqueux	4.02±0.228	80.47±4.571
Extrait EtOH-eau	2.91±0.255	58.6±5.113
Extrait MeOH-eau	2.63±0.24	52.6±4.8

Il ressort de ces résultats que parmi les trois extraits, l'extrait aqueux offre clairement le meilleur rendement (**80.47±4.571%**), suivi par l'extrait EtOH-eau et l'extrait MeOH-eau, avec des rendements respectifs de (**58.6±5.113%**) et (**52.6±4.8**).

Une étude faite par Guidoum et al., indique que les rendements des extraits aqueux et hydro-éthanolique respectivement par rapport aux 50 g du broyat est de (13,24% et 21,8%) pour les Feuilles de Tissemsiltet et (3,6% et 10%) pour les Feuilles de Ami Moussa.

D'autre part et en se référant aux travaux de Laadjali et al., L'extrait hydro-éthanolique offre un rendement de 20%, ce qui est nettement inférieur à celui observé dans l'extrait EtOH-eau de notre espèce, avec une valeur de $(58,6 \pm 5.113) \%$.

Selon Baba ouyoub, une étude menée sur *Zizyphus lotus* a révélé une grande variation dans le rendement d'extraction en fonction de la méthode d'extraction utilisée, qu'elle soit continue ou discontinue, ainsi que du solvant utilisé. [108]

Plusieurs méthodes d'extractions ont été utilisées sur différentes parties de cette espèce. Toutefois, il est difficile de comparer les résultats du rendement avec ceux de la bibliographie, car le rendement n'est que relatif et semble être lié à l'origine géographique, aux conditions et à la durée de la récolte et de stockage ainsi qu'aux méthodes d'extraction utilisées [133]. Selon Macheix et al., d'autres éléments peuvent impacter le rendement d'extraction, tels que le pH, la température, le rapport solide/liquide, ainsi que le nombre et l'intervalle de temps des différentes étapes d'extraction.

En général, les rendements obtenus sont élevés. Ceci peut être dû au fait que les feuilles renferment des molécules bioactives qui se solubilisent facilement dans le solvant d'extraction sélectionné. [108]

IV.3 Les Caractères organoleptiques des extraits

Les caractères organoleptiques des trois extraits de *Zizyphus lotus* sont donnés par le (Tableau.10).

Tableau 10: Les Caractères organoleptiques des trois extraits aqueux, hydro-éthanolique et hydrométhanolique des feuilles de *Zizyphus lotus*.

Caractère organoleptique	Extrait aqueux	Extrait hydro-éthanolique	Extrait hydrométhanolique
Aspect	Visqueux	Visqueux	Visqueux
Couleur	Marron foncé	Vert foncé	Vert foncé
Odeur	Odeur douce herbacé	Odeur douce herbacé	Odeur douce herbacé

Les trois extraits obtenus présentent un aspect visqueux et une odeur douce herbacé avec des couleurs différentes (Marron foncé et vert foncé). La disparité de la couleur entre les extraits est généralement causée par la présence de pigments de diverses natures. Ils peuvent être des

chlorophylles, des caroténoïdes, des anthocyanes, des flavones, des flavanols, des lycopènes, des flavoxanthines et des lutéines. [108]

IV.4 Résultats de screening phytochimique

Les résultats expérimentaux des tests phytochimiques effectués sur les trois extraits (aqueux, hydro-éthanolique et hydrométhanolique) des feuilles de *Zizyphus lotus* sont présentées dans le (Tableau.11).

Tableau 11: Tableau récapitulatif des principaux composés du métabolisme secondaire de l'espèce *Zizyphus lotus*.

Les tests phytochimiques		Partie aérienne <i>Zizyphus lotus</i>		
Métabolites secondaires	Réactifs	Extrait aqueux	Extrait hydro-éthanolique	Extrait hydro-méthanolique
Alcaloïdes	Mayer	+	++	+++
	Wagner	++	+++	++
Amidon	Na Cl	-	+++	++
Anthocyanes	H ₂ SO ₄ + NH ₄ OH	+++	+++	+++
Flavonoïdes	Zn Cl ₂	++	++	++
Flavonoïdes	Zn + HCl	-	-	+++
Glycosides cardiaques	Chloroforme + H ₂ SO ₄	+	++	++
Saponosides	Test de mousse	+++	+++	+++
Stéroïdes	Anhydride acétique + H ₂ SO ₄	+	+++	++
Tanins	FeCl ₃	++	+++	+++
Terpènoïdes	Test de Slakowski	-	+++	+++
Stérols et triterpènes	Réaction de lieberman	+	+++	+++
	et Burchardt	-	+++	++

Les résultats obtenus ont été évalués comme suit :

- : Négatif ;

+ : Faiblement Positif ;

++ : Moyennement positif ;

+++ : Fortement positif.

Ces substances chimiques sont détectées en utilisant des tests de solubilité des composants, des réactions de précipitation et un changement de couleur.

Les résultats des tests biochimiques préliminaires des principaux composés du métabolisme secondaire de l'espèce *Zizyphus lotus*, nous ont permis d'évaluer la qualité biochimique supérieure de cette espèce végétale. Autrement dit, Ces tests ont pu mettre en évidence la présence de tous les composés du métabolisme secondaire (alcaloïdes, amidon, anthocyanes, flavonoïdes, glycosides cardiaques, saponosides, Stéroïdes tanins, terpénoïdes, Stérols et triterpènes).

Cette richesse en métabolites secondaires, en particulier de composés phénoliques, pourrait expliquer [127] pourquoi elles sont le lieu des réactions photochimiques et des réservoirs de matières organiques qui en découlent. [109]

En comparant les résultats obtenus avec des travaux récemment publiés, ils sont supérieurs à ceux obtenus par Hadj Kouider et al. (2020).

IV.5 Teneur en composés phénoliques

IV.5.1 Détermination de la teneur en polyphénols

La teneur en polyphénols a été exprimé en milligrammes d'acide gallique équivalent par grammes de poids d'extrait sec (mg éq AG/g ES), Les résultats obtenus sont illustrés dans la courbe d'étalonnage (**figure.27**) et le (**Tableau.12**) ci-dessous.

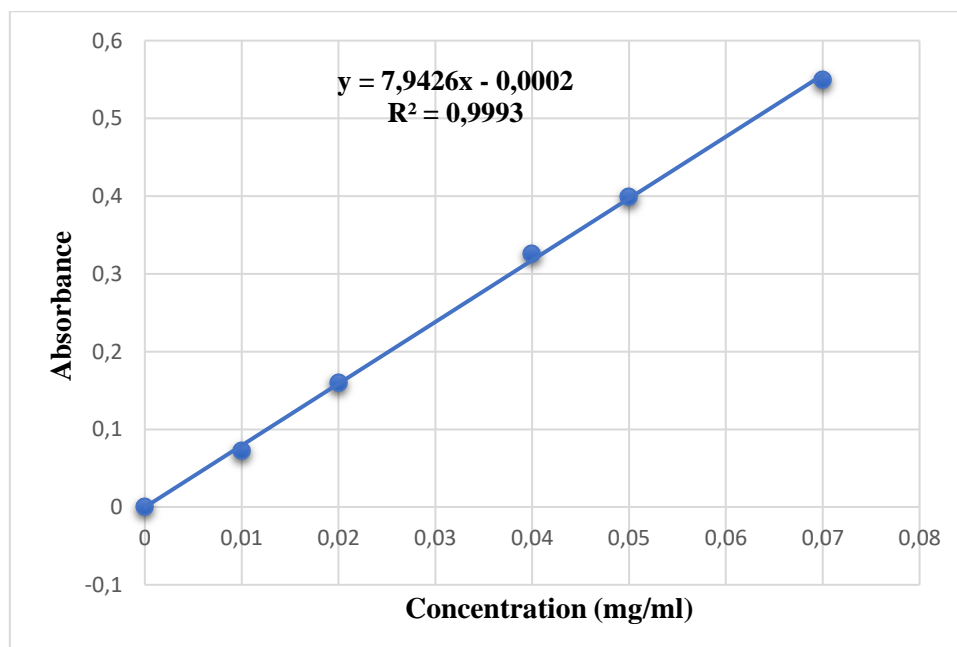


Figure 27: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Tableau 12: Teneur en polyphénol totaux.

Extrait sec (feuilles de <i>Zizyphus lotus</i>)	Teneur en polyphénol totaux (mg éq AG/g ES)
Extrait aqueux	81.67±2.309
Extrait MeOH-eau	89.33±6.351
Extrait EtOH-eau	112.67±2.517

La teneur en composés phénoliques dans l'extrait EtOH-eau est très élevée, atteignant (112.67 ± 2.517 mg EAG / g ES), suivi par l'extrait MeOH-eau et l'extrait aqueux avec des teneurs respectifs de (89.33 ± 6.351) et (81.67 ± 2.309).

Dans une recherche rédigée par Mouloued et al., La teneur en polyphénols totaux de l'extrait aqueux de *zizyphus lotus* est de $0.658 \pm 266,759$ mg EAG/ g ES valeur négligeable à celle de nos résultats 81.67 ± 2.309 mg EAG/ g ES.

Généralement, ces résultats obtenus ont révélé que les teneurs en polyphénol totaux sont très importantes que celles observées pour d'autres espèces. Il est donc possible de conclure que les feuilles de *Zizyphus lotus* contiennent une quantité relativement élevée de composés phénoliques, en comparaison avec les teneurs obtenus dans les plantes de la famille des Astéracées, qui est très réputée pour sa richesse en composés phénoliques. [108]

De plus, la présence élevée de composés phénoliques dans la partie des feuilles peut être expliquée par le fait que ces composés jouent un rôle dans la protection de cette partie contre divers types de stress (hydrique, salin, lumineux, thermique...etc.), car cette partie est le lieu de la photosynthèse. [134]

En outre, des recherches récentes ont démontré que le contenu en composés phénoliques est fortement influencé par divers facteurs tels que les conditions géographiques et climatiques, la sécheresse, la pollution et la nature du sol. De plus, les facteurs génétiques, ainsi que le degré de maturation de la plante et la durée de stockage [108]. Et d'autres facteurs tels que la solubilité des polyphénols dans le solvant d'extraction, le type de solvant, le degré de polymérisation des phénols, l'interaction des phénols avec d'autres composants végétaux et le développement de composés insolubles. [135]

D'autre part, nos résultats sont pour la plupart meilleurs que ceux obtenus par Raies et al., sur différents extraits de la même espèce végétale de la région de Fez Zouagha-Moulay Yaâcoub au Maroc, dont les teneurs en polyphénols totaux sont de 23.54 ± 0.44 à 50.67 ± 1.44 mg EAG/ g ES. De même et par comparaison avec des résultats publiés par Donatien, (2008) où les teneurs en polyphénols totaux sont de l'ordre de $19.27 \pm 0,64$ mg EAG/ g ES dans l'extrait

brut des feuilles de l'espèce *Ziziphus mucronata* de la région de Bamako, nos résultats s'avèrent meilleurs avec des valeurs plus élevées. [136]

Ces résultats sont meilleurs par rapport à ceux obtenus dans l'étude de Guidoum et al., (2023).

IV.6 Rendement de l'extrait tannique

Le rendement calculé semble extrêmement élevé (**Figure.28**), il est de l'ordre de **81.2%**. L'espèce de *zizyphus lotus* étudiée renferme des quantités assez importantes en tanins.

$$R\% = 81.2\%$$

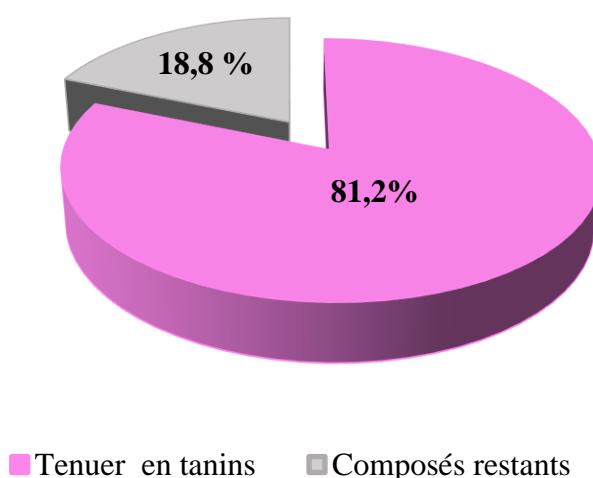


Figure 28: Rendement en tanins des feuilles de *zizyphus lotus*.

À partir d'une étude expérimentale réalisée par Zerfaoui et al., a montré que l'extraction des tanins diffèrent des deux autres métabolites secondaires (Polyphénols et Flavonoïdes) où son rendement lors d'extraction alcoolique est supérieur par rapport à l'extraction aqueux, Ces résultats sont cohérents avec ceux de la présente étude.

Selon Tepe et al., La présence des tanins suggère la capacité de notre plante à jouer un rôle majeur en tant Qu'agent antimicrobien et antioxydant. [137]

IV.7 Chromatographie sur Couche Mince (CCM)

Pour une caractérisation partielle de l'extrait tannique du *Zizyphus lotus*, une chromatographie sur couche mince (CCM) a été réalisée. Les résultats sont représentés ci-dessous :

Tableau 13: Rapports frontaux et couleur des tâches avant et après la révélation par le chlorure d'aluminium AlCl_3 de l'extrait tannique.

	Tâches	Rapports frontaux (Rf)	Couleur	
			Avant ajout d' AlCl_3	Après ajout d' AlCl_3
Tanins	Tâche 1	0.30	Invisible	Jaune vif
	Tâche 2	0.64	Invisible	Jaune vif

Au regard de ce tableau, La séparation par CCM de l'extrait tannique a révélé la présence de deux tâches avec des rapports frontaux différents de 0,30 et 0,64.

La présence de tanins est confirmée par l'ajout de chlorure d'aluminium (AlCl_3) à 2 % dilué dans du méthanol à 98%. Ce dernier entraîne une modification de la couleur des tâches vers le jaune [8]. Cette couleur indique la présence de tanins catéchiques (ou condensés).

IV.8 Activités biologiques

IV.8.1 Activité antioxydante

IV.8.1.1 Evaluation de l'activité antioxydante

L'activité anti-radicalaire des différents extraits de zizyphus lotus a été évaluée par leur activité inhibitrice sur une solution méthanolique de DPPH mesuré à 517nm. Le standard utilisé est l'acide ascorbique. Les résultats obtenus sont illustrés dans les **figures 29, 30, 31,32 et 33**.

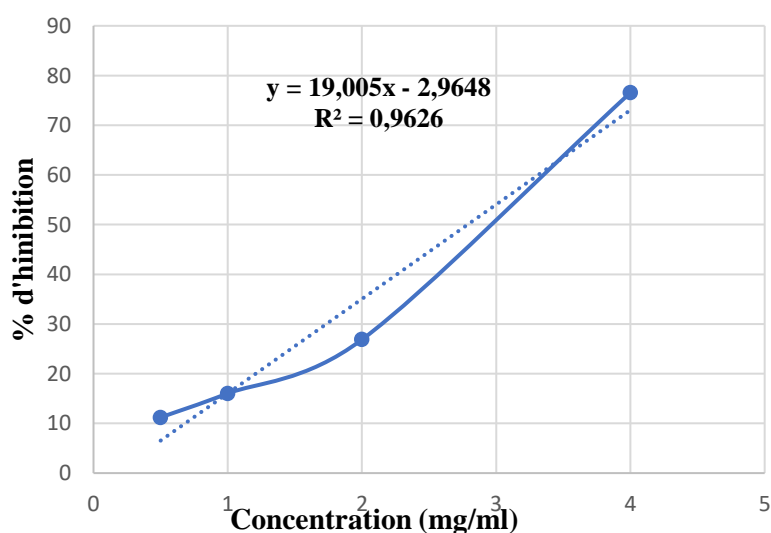


Figure 29: Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH par l'extrait aqueux.

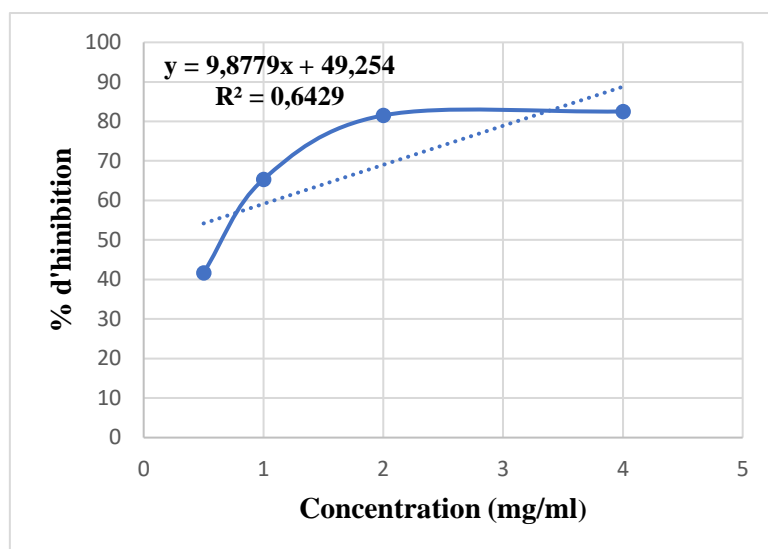


Figure 30: Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH par l'extrait MeOH-eau.

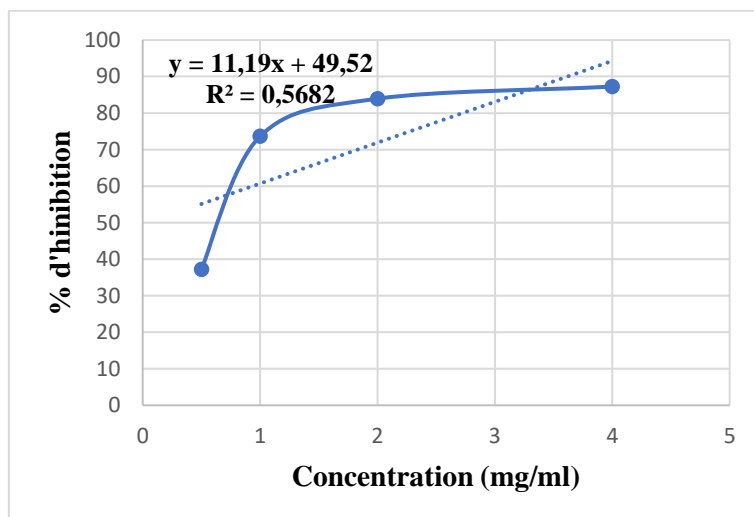


Figure 31: Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH par l'extrait EtOH-eau.

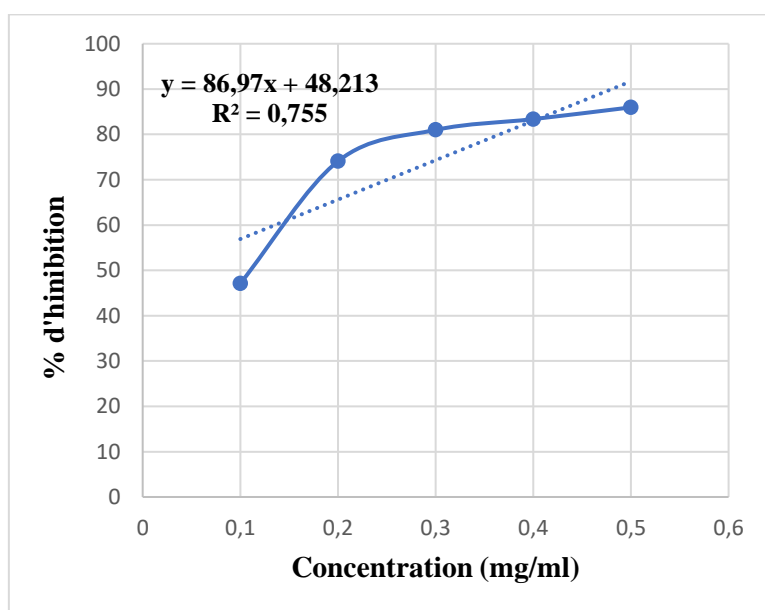


Figure 32: Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH par l'acide ascorbique.

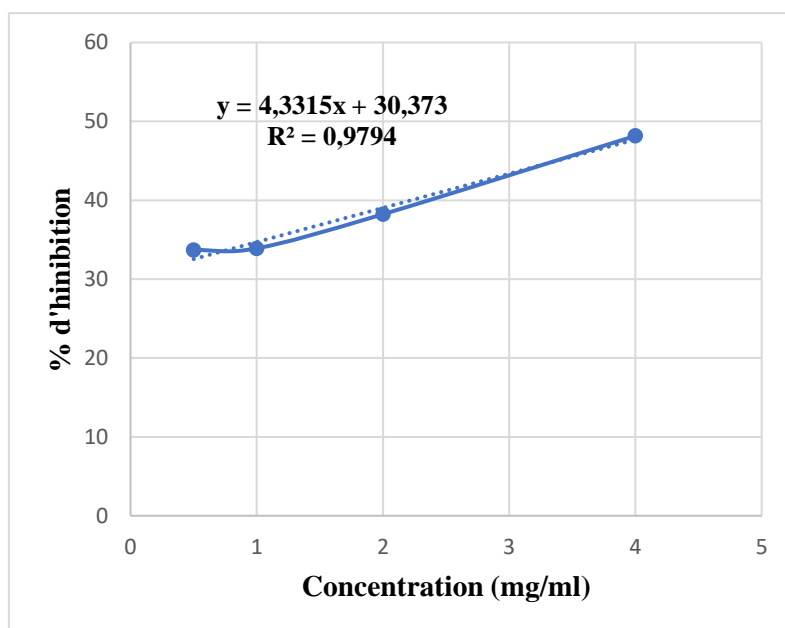


Figure 33: Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH par l'extrait tannique.

L'IC₅₀, la quantité d'un antioxydant (extraits) nécessaire pour diminuer de 50% la concentration initiale de DPPH, est utilisée comme indicateur pour comparer la capacité antioxydante des échantillons. L'échantillon ayant le plus fort pouvoir antioxydant présente des valeurs plus faibles de l'IC₅₀ par rapport à une référence, l'acide ascorbique.

La courbe de régression linéaire des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des échantillons testés a été utilisée pour estimer les valeurs d'IC₅₀ de chaque extrait (**Tableau.14**). [79]

Tableau 14: Valeurs d'IC₅₀ de l'acide ascorbique et des différents extraits de zizyphus lotus.

Extraits	IC ₅₀ (mg/ml)
Extrait tannique	4.53
Extrait aqueux	2.79
Extrait MeOH-eau	0.075
Extrait EtOH-eau	0.043
Acide ascorbique	0.02

En bref, et à partir des résultats obtenus, l'extrait brut EtOH-eau présente le meilleur pouvoir antioxydant vis-à-vis du radical libre DPPH avec une IC₅₀ égale à **0.043mg/ml**.

Il est évident que la forte activité des extraits EtOH-eau et MeOH-eau est attribuée à leur richesse en composés phénoliques, flavonoïdes et tanins, dont l'extrait ETOH-eau possède la

plus forte teneur en composés polyphénols (**112.67±2.517 mg éq AG/g ES**), suivi par l'extrait MeOH-eau (**89.33±6.351 mg éq AG/g ES**).

Dans une recherche menée par Kang et al., il a été suggéré que les composés polaires présents dans les extraits végétaux favorisent l'accroissement de l'activité anti-radicalaire.

Selon une recherche réalisée par Bahtita et al., il a été démontré que la concentration d'inhibition de la moitié du radical DPPH• est de 0,016 mg/ml pour l'acide ascorbique, ce qui est similaire à nos résultats (IC₅₀ = 0,02mg/ml).

Les deux extraits aqueux et tanniques s'avèrent moins actifs avec des concentrations d'inhibition de la moitié du radical DPPH• respectivement de (**2.79 mg/ml**) et (**4.53mg/ml**).

En revanche, le problème de l'instabilité du radical DPPH est qu'il diminue son absorbance à 517 nm sans l'intervention d'un antioxydant. C'est la raison pour laquelle il est impératif de réaliser les tests avec le DPPH à l'obscurité. Ce même désavantage pourrait expliquer la légère différence entre les valeurs d'IC₅₀ obtenues à partir des différents extraits. [108]

Néanmoins, Il est difficile de faire une comparaison entre l'activité antioxydant de nos extraits et celle mentionnée dans la bibliographie. Plusieurs facteurs entrent en jeu comme ceux cités auparavant pour la teneur en composés phénoliques.

Après avoir examiné les résultats obtenus en fonction du dosage des composés phénoliques et de l'activité antioxydante, il est évident qu'il existe une corrélation étroite entre les concentrations en composés phénoliques des différents extraits et leur activité antioxydante. Effectivement, les composés les plus riches en composés phénoliques ont la plus forte capacité antioxydante. Cette observation concorde avec les affirmations de plusieurs auteurs dans la littérature, selon lesquelles le potentiel antioxydant d'un extrait dépendrait de sa concentration en composés phénoliques. [113]

IV.8.2 Activité antimicrobienne

Les extraits préparés des feuilles du zizyphus lotus ont été évalués pour leur activité antimicrobienne en fonction du diamètre de la zone d'inhibition autour des disques en ce qui concerne les bactéries Gram (+) : Staphylococcus aureus, Gram (-) : Escherichia coli et le champignon Candida albicans. Les résultats obtenus sont présentés dans les tableaux suivants : [138]

Tableau 15: Effet antibactérien et antifongique des extraits de zizyphus lotus exprimé en diamètres des zones d'inhibitions (en mm).

Souches microbiennes testées	Diamètres des zones d'inhibition en mm			
	Extrait aqueux	Extrait EtOH-eau	Extrait MeOH-eau	Extrait tannique
<i>Escherichia coli</i>	13.00	-	-	10.00
<i>Candida albicans</i>	20.00	22.00	26.00	13.00
<i>Staphylococcus aureus</i>	21.00	-	10.00	10.00

(-) Non inhibiteur

Tableau 16: Effet antibactérien et antifongique des dilutions de l'extrait aqueux de zizyphus lotus exprimé en diamètres des zones d'inhibitions (en mm).

Souches microbiennes testées	Diamètres des zones d'inhibition en mm		
	Extrait aqueux		
	0.05mg/ml	0.07mg/ml	0.08mg/ml
<i>Escherichia coli</i>	11	10	10
<i>Candida albicans</i>	12	11	10
<i>Staphylococcus aureus</i>	13	13	12

Tableau 17: Effet antibactérien et antifongique des dilutions de l'extrait EtOH-eau de zizyphus lotus exprimé en diamètres des zones d'inhibitions (en mm).

Souches microbiennes testées	Diamètres des zones d'inhibition en mm		
	Extrait EtOH-eau		
	0.05mg/ml	0.07mg/ml	0.08mg/ml
<i>Escherichia coli</i>	12	11	10
<i>Candida albicans</i>	20	20	17
<i>Staphylococcus aureus</i>	25	17	16

Tableau 18: Effet antibactérien et antifongique des dilutions de l'extrait MeOH-eau de *zizyphus lotus* exprimé en diamètres des zones d'inhibitions (en mm).

Souches microbiennes testées	Diamètres des zones d'inhibition en mm		
	Extrait MeOH-eau		
	0.05mg/ml	0.07mg/ml	0.08mg/ml
<i>Escherichia coli</i>	12	10	9
<i>Candida albicans</i>	12	11	10
<i>Staphylococcus aureus</i>	14	12	10

Tableau 19: Effet antibactérien et antifongique des dilutions de l'extrait tannique de *zizyphus lotus* exprimé en diamètres des zones d'inhibitions (en mm).

Souches microbiennes testées	Diamètres des zones d'inhibition en mm		
	Extrait tannique		
	0.05mg/ml	0.07mg/ml	0.08mg/ml
<i>Escherichia coli</i>	10	10	10
<i>Candida albicans</i>	20	16	12
<i>Staphylococcus aureus</i>	10	10	10

Les résultats obtenus révèlent que toutes les souches microbiennes testées (bactéries et levure) sont inhibées au moins par l'un des extraits, et tous les extraits du *Zizyphus lotus* ont montré une activité antimicrobienne à un degré différent, en fonction du contenu des extraits en substances à activité antimicrobienne, ce qui confirme le large spectre de l'activité antimicrobienne de cette plante.

Selon Ghedira, il a été démontré que l'un des alcaloïdes de cette espèce possède une activité antibactérienne significative, sans oublier l'effet synergique des autres molécules agissant comme antimicrobiens.

Il ressort de ces résultats que les quatre extraits examinés pour leur capacité antimicrobienne ont un effet plus marqué contre la levure *Candida albicans* que les bactéries Gram positives (*Staphylococcus aureus*) et Gram négatives (*Escherichia coli*). La comparaison des zones d'inhibition les plus grandes données par les différents extraits révèle que l'extrait MeOH-eau a obtenu la zone d'inhibition la plus étendue avec *Candida albicans*, avec un diamètre de 26 mm (**Tableau.15**).

L'extrait aqueux de *Zizyphus lotus* a démontré une activité antimicrobienne avec toutes les souches microbiennes, en particulier contre *Staphylococcus aureus*. Ce résultat correspond bien aux travaux de Harzallah et al., qui ont constaté que la souche de référence *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 était la plus sensible parmi toutes les souches testées, avec un diamètre de la zone d'inhibition d'environ 16,66 mm.

Selon les tableaux précédents, il est observé que le diamètre des zones d'inhibition des souches testées augmente en fonction de la concentration des extraits de *Z. Lotus*. L'effet antimicrobien des extraits de *Z. Lotus* est lié à leur concentration, plus la concentration est élevée, plus le pouvoir antimicrobien est élevé.

Il est démontré par ces résultats que même à des doses très faibles, les extraits de *Z. Lotus* peuvent avoir un effet antimicrobien significatif qui diffère d'une souche à l'autre. Selon les recherches menées par Rsaissi et al., le pouvoir antimicrobien de *Zizyphus Lotus* varie en fonction du type d'extrait et de l'espèce microbienne. [139]

Dans leur étude de 1992, Chabot et al., ont confirmé que certains microorganismes ne sont pas sensibles à la toxicité des tanins et peuvent même se développer en utilisant ces composés comme source unique de carbone. On peut citer parmi ces microorganismes : *Aspergillus Niger*, *Candida tropicalis*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas fluorescens*. C'est le cas d'*Escherichia coli*, qui montre une sensibilité faible à nos extraits, car le diamètre de la plus grande zone d'inhibition obtenue avec ce germe est de 13 mm.

Les microorganismes peuvent avoir une réponse différente à un même extrait en raison de la structure différente de leurs parois. La structure de la paroi cellulaire des bactéries Gram positif est composée d'une seule couche, comprenant 35-60 % de polysaccharides et seulement 0-2 % de lipides, tandis que celle des bactéries Gram négatif est composée d'une structure multicouche liée par une membrane externe contenant 15-20% de polysaccharides et 10-20% de lipides. Les parois des levures se constituent principalement de polysaccharides. Les polysaccharides et les lipides présents dans la paroi ont un impact sur la perméabilité des différents composants des extraits, ce qui a un impact sur la réponse de chaque type de microorganisme à ces extraits végétaux. [131]

Par ailleurs, les diverses recherches sur les feuilles de *zizyphus Lotus* montrent que la sensibilité des micro-organismes aux différents extraits de cette plante est étroitement liée à la technique d'extraction et/ou au solvant employé, la quantité de poudre utilisée, la concentration d'extraits et l'extrait utilisé [138]. Selon Tangara et al. (2000), il a été mis en évidence que

l'activité d'une substance végétale était influencée par divers facteurs, tels que le processus d'extraction et la concentration des principes actifs.

De plus, des recherches similaires ont également prouvé que le pouvoir antimicrobien de *Ziziphus lotus* diffère en fonction du type d'extrait et de l'espèce de microbienne testée.

Ainsi, Rojas et al., confirment que *Z lotus* est une espèce végétale qui renferme de nombreux composés qui ont une action antimicrobienne, tels que les composés phénoliques.

Effectivement, il est également connu que les polyphénols possèdent des propriétés antimicrobiennes. Cette activité a été démontrée par plusieurs études, ce qui a permis de formuler des hypothèses sur les mécanismes d'action des polyphénols sur les microorganismes, tels que :

- ✓ L'inhibition des enzymes extracellulaires microbiennes ;
- ✓ La séquestration de substrats nécessaires à la croissance microbienne ou la chélation de métaux tels que le fer.
- ✓ L'arrêt du métabolisme des microbes. **[140]**

Conclusion
Générale

Conclusion générale

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Notre étude porte sur l'étude des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes de *Zizyphus lotus* ; une plante appartenant à la famille des Rhamnacees, employée en Algérie grâce à ses propriétés thérapeutiques.

A la fin de cette étude, il semble essentiel de mentionner les principaux résultats que nous avons obtenus.

Après calcul des rendements d'extraction des feuilles de *Zizyphus lotus*, il ressort que parmi les trois extraits, l'extrait aqueux offre clairement le meilleur rendement ($80.47 \pm 4.571\%$), suivi par l'extrait EtOH-eau et l'extrait MeOH-eau, avec des rendements respectifs de ($58.6 \pm 5.113\%$) et (52.6 ± 4.8).

L'analyse qualitative effectuée par des tests biochimiques préliminaires a permis de mettre en évidence la présence de tous les composés du métabolisme secondaire, Cela nous a donné une vision de la qualité biochimique exceptionnelle de cette espèce.

Quantitativement, l'évaluation du contenu des polyphénols totaux en adoptant la méthode de Folin-Ciocalteu a révélé la présence de quantités importantes de polyphénols dans les trois extraits. L'extrait EtOH-eau a présenté une teneur très élevée, atteignant (112.67 ± 2.517 mg EAG / g ES), suivi par l'extrait MeOH-eau et l'extrait aqueux avec des teneurs respectifs de (89.33 ± 6.351) et (81.67 ± 2.309).

L'estimation du pouvoir de piègeur du radical DPPH• par les trois extraits testés a révélé que les extraits EtOH-eau et MeOH-eau manifestent une très forte activité antioxydante comparable à celle déterminée par l'antioxydant standard (acide ascorbique), dont la valeur d'IC₅₀ est égale 0,02 mg/ml. Ainsi, une forte activité anti-radicalaire a été constatée avec l'extrait EtOH-eau où la valeur d'IC₅₀ est égale 0,043mg/ml, alors que les extraits aqueux et tannique ont montré une activité antiradicalaire moins importante.

D'après les résultats de l'activité antimicrobienne, il apparaît que toutes les souches microbiennes testées (bactéries et levure) sont inhibées au moins par l'un des extraits, et tous les extraits de *Zizyphus lotus* se sont révélés actifs avec un degré différent, lié au contenu des extraits en substances à activité antimicrobienne ce qui confirme le spectre large de l'activité antimicrobienne de cette plante.

L'étude des propriétés microbiologiques et antioxydantes de l'extrait tannique suggère la capacité de ces métabolites à jouer un rôle majeur en tant qu'agent antimicrobien mieux qu'antioxydant.

En bref, ces résultats indiquent que les extraits bruts de l'espèce *Zizyphus lotus* sont très prometteurs quant à leur pouvoir antioxydant et antimicrobien. En perspective, Il sera captivant à l'avenir :

- ✓ Étudier des nouveaux solvants d'extraction et leurs impacts sur le rendement en composés phénoliques, ainsi que sur la composition chimique des extraits de la plante.
- ✓ Approfondir les études concernant la séparation, purification, identification et la caractérisation de ces principes actifs du point de vue qualitatif et quantitatif.
- ✓ Identifier leurs hémotypes précis et complets à l'aide de HPLC/RMN.
- ✓ Evaluer in vitro d'autres activités biologiques de sa partie aérienne et même souterraine telles que l'activité antidiabétique, anti-inflammatoire, anticancéreux ...etc.
- ✓ Envisager des expériences in situ en testant ces principes actifs sur des cas pathologiques.
- ✓ Il serait également intéressant d'extraire les autres principes actifs de la plante et de tester leur pouvoir antioxydant et antimicrobien.
- ✓ Mener des investigations visant à développer des médicaments issus de plantes en réalisant des études phytochimiques, pharmaco-toxicologiques et cliniques pour la mise au point de médicaments traditionnels améliorés.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- [1] SALHI, S, et al. Etudes floristique et ethnobotanique des plantes médicinales de la ville de Kénitra (Maroc). LAZAROA. 2010, 31 : 133-146.
- [2] TABUTI J.R.S., LYE K. A., DHILLION S.S. Traditional herbal drugs of Bulamogi Uganda : plants, use and administration, Journal of Ethnopharmacology.2003, 88 : 19-44.
- [3] BENAMMAR, C. E. Effets antioxydants et immunomodulateurs d'une plante médicinale nord-africaine, zizyphus lotus l. (sedra) : étude des différents extraits. Thèse de doctorat. Université Abou Bakr BELKAID de Tlemcen, 2011,120p.
- [4] GHEDIRA, K. Zizyphus lotus (L.) Desf (Rhamnacees) : jujubier sauvage. Phytothérapie.2013, 11 : 149-153.
- [6] WASTON, L., and DALLWITZD, M.J. The families of flowering plants, Heart Disease Risk Factor Study. Am J Clin Nutr.1992, 77 : 133-8.
- [7] MARAGHANI, M. G. M. N. M., GORAI, M., &NEFFATI, M. Seed germination at different temperatures and water stress levels, and seedling emergence from different depths of Zizyphus lotus. South African Journal of Botany.2010, 76(3), 453-459.
- [8] HOUAZENE, M. ALEM, O. Etude de l'activité antibactérienne des flavonoïdes et des tanins du marrube blanc et l'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait tannique. Mémoire de Master. Université Mouloud Mammeri de TIZI-OUZOU,2017, 1p.
- [9] CHEBAIBI, A. MAROUF, Z. RHAZI FILALI, F. FAHIM, M. ED-DRA, A. Évaluation du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de sept plantes médicinales récoltées au Maroc. Journal of ResearchGate. 2016, (11201) :1- 8.
- [10] ABERKANE M. C. Etude phytochimique de la plante Publicaria laciniata. Thèse de Doctorat, Université EL-HADJ LAKHDAR de Batna,2006, 166p.
- [11] MAHAJAN, R. and CHOPDA, M. Phyto-Pharmacology of Ziziphus jujuba Mill-A plant review, Pharmacogn. Rev.2009, vol. 3, no. 6, pp. 320.
- [12] GHALI, A. BOULOUSA, R. Zizyphus lotus : Propriétés bioactives et utilisations. Mémoire de Master. Université Akli Mohand Oulhadj de Bouira,2020, 18p.
- [13] ZERDOUMI, I. BRAKNI, D. Effet du gradient climatique sur les composants phénoliques et l'activité antioxydante du fruit de Zizyphus lotus (L.) Lam. Dans la région de Tébessa. Mémoire de Master, Université Echahid chikh Larbi Tébessi de Tébessa,2022, 8p.
- [14] BELOUAD, A. Etymologie des noms de plantes du Bassin Méditerranéen. OPU (Ed). Alger,1998, 91p.

- [15] CATOIRE, C., ZWANG, H. et BOUET, C. Les jujubiers ou le *Ziziphus*. Fruits oubliés, 1999.
- [16] COUPLAN, F. Dictionnaire Etymologique de Botanique. Delachaux et Nestlé.2010.
- [17] TAMAGUEL, O., & AMAZAL, H. Optimisation d'extraction assistée aux ultrasons de composés phénoliques et l'activité antioxydante des différentes parties de *Ziziphus jujuba* (feuilles, pulpe et graines).2016.
- [18] BROSSE, J. Larousse des arbres et des arbustes. Larousse (Ed). Canada, 2000. 576p.
- [19] AL-SAEEDI, A. H., AL-GHAFRI, M. T. H., and M. A. Hossain. Comparative evaluation of total phenols, flavonoids content and antioxidant potential of leaf and fruit extracts of Omani *Ziziphus jujuba* L. Pacific Sci. Rev. A Nat. Sci. Eng.2016, vol. 18, n°. 1, pp. 78–83.
- [20] BABBA, A.F. Encyclopédie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb. Substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. Ed. Librairie Moderne Rouiba, EDAS, Alger, 1999.368.
- [21] BORGI, W, BOURAOUI, A, et CHOUCANE, N. Antiulcerogenic activity of *Ziziphus lotus* (L) extracts. Journal of Ethnopharmacology. 2007, 12 : 228-231.
- [22] BLANGUERNON, C. Hoggar. Arthaud-SNE, Algérie.1955.102p.
- [23] BELHADJ, S. Etude Ecobotanique de *Pistacia atlantica* Desf (Anacardiaceae) en Algérie, préalable à la conservation des ressources génétiques de l'espèce et à sa valorisation. Thèse de Doctorat d'Etat. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, 2007,140p.
- [24] YOUNES, R., ZERFAOUI, Y. Etude de l'effet du gradient climatique de la wilaya de Tébessa sur les principes actifs *Zizyphus lotus* (L.) Lam. Mémoire de Master. Université de Larbi Tébessi de Tébessa,2022, 2p.
- [25] CHEVALIER, A. Les Jujubiers ou *Ziziphus* de l'Ancien monde et l'utilisation de leurs fruits.,” J. d'agriculture Tradit. Bot. appliquée,1947, vol. 27, no. 301, pp. 470– 483.
- [26] MENGJUN, L. Chinese jujube : botany and orticulture. Horticultural Reviews, 2006, 32,229- 298.
- [27] <https://static.teline.fr/cache/1280/rhamnaceae/ziziphus-lotus-subsp.-lotus/150127211843/ziziphus-lotus-subsp.-lotus-photo8.jpg>
- [28] FILALI, T. Conditions optimales de la germination des graines de *Ziziphus lotus* à différentes températures et durées de trempage (Provenance : Boussaâda, M'sila). Master Ecologie. Université de Tlemcen, 2017, 56p.
- [29] LAOUEDJ, M. Les plantes médicinales du Sahara. Les bienfaits du jujubier sauvage (Sidr) en arabe.2018.

- [30] K, M.R. Efficient extraction of polyphenolics from the bark of tropical tree species. Journal of Tropical Forest Science.2009.
- [31]https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fwww.teojooguan.com%2Fshop%2Fjujube%2F&psig=AOvVaw1wTernNdWJC143_UHT5LpX&ust=1719129863321000&source=images&cd=vfe&opi=89978449&ved=0CBEQjRxqGAoTCJi00Pjf7oYDFQAAAAAdAAAAABCiAQ
- [32] <https://www.boutique-vegetale.com/wp-content/uploads/2024/02/Ziziphus-mauritiana-Flours-de-Jujubier-tropical-CC-BY-SA-2.0-QG-de-%E9%98%BF%E6%A9%8B.jpg>
- [33] DJILLALI, F., KOUCHIH, A., SALAH, M. Analyse du pouvoir réducteur des extraits aqueux des fruits de quelques populations de jujubier sauvage (*Zizyphus lotus* L. Desf.) vis-à-vis de *Erwinia carotovora* et *Pseudomonas aeruginosa*. Mémoire de Master. Université Ibn Khaldoun de Tiaret, 2018, 3-7p.
- [34] ABDEDDAIM, M. Etude de la composition biochimique des fruits de cinq espèces végétales présentes dans la région des Aurès en vue de leur utilisation alimentaire ou pharmacologique. (*Celtis australis* L, *Crataegus azarolus* L, *Crataegus monogyna* J, *Elaeagnus angustifolia* L, et *Zizyphus lotus* L). Thèse de Doctorat. Université Ferhat Abbas Sétif 1 de Sétif, 2016, 2p.
- [35] <https://olharfeliz.typepad.com/.a/6a00d8341d1d7953ef0133f5f53cd4970b-pi>
- [36]<https://www.google.com/url?sa=i&url=http%3A%2F%2Fatlas-sahara.org%2FRhamnaceae%2FZiziphus%2520lotus%2FZiziphus%2520lotus.html%3Fcat%3DRhamnaceae&psig=AOvVaw2Msvko2ObGHHZ6BzAmEXmS&ust=1719046642861000&source=images&cd=vfe&opi=89978449&ved=0CBEQjRxqFwoTCODtluOq7IYDFQAAAAdAAAAABA8>
- [37] EL ALOUI, M., LAAMOURI, A., ALBOUCHI, A. et HASNAOUI, B. Variabilité morphologique de quatre écotypes de *Ziziphus zizyphus* (L.) H. Karst en Tunisie (poster). 1er colloque International sur les Ressources Sylvopastorales et Développement Durable en Méditerranée, Tabarka.2010.
- [38] EL HACHIMI, F., ALFAIZ, C., BENDRISS, A., CHERRAB, Y and ALAOUI, K. Activité antiinflammatoire de l'huile des graines de *Zizyphus lotus* (L.) Desf.,” *Phytothérapie*, 2017, vol. 15, no. 3, pp. 147–154.
- [39]<https://www.shutterstock.com/image-photo/chinese-herbal-medicine-wild-jujube-260nw-2131697919.jpg>

- [40] QUEZEL P et SANTA S. Nouvelle flore de l'Algérie et régions désertiques méridionales. Tome 2. Centre national de la recherche, Paris, 1992 ,565p.
- [41] I. V APG. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants : APG IV. Â Botanical Journal of the Linnean SocietyÂ. 2016, 181 : 1â€“20.
- [42] GORAI, M., MARAGHNI, M., NEFFATI, M. Relationship between phenological traits and water potential patterns of the Wild jujube *Ziziphus lotus* (L.) Lam. In southern Tunisia. Plant Ecologyand Diversity.2010 ,3 : 273–280.
- [43] RICHARDSON, J-E., CHATROU, L-W., MOLS, J-B., ERKENS H-J., PIRIE M-D. Historicalbiogeography of two cosmopolitan families of flowering plants : Annonaceae and Rhamnaceae. Philosophical Transactions of the Royal Society B.2004, 359(1450) : 1495–1508.
- [44] DUPONT, F., & GUIGNARD, J. L. Botanique : les familles de plantes. Elsevier Masson.2015.
- [45] BOUDRAA, S., HAMBABA, L., ZIDANI, S., BOUDRAA, H. Composition minérale et vitaminique des fruits de cinq espèces sous exploitées en Algérie : *Celtis australis* L., *Crataegus azarolus* L., *Crataegus monogyna* Jacq., *Elaeagnus angustifolia* L. et *Zizyphus lotus* L.2010, vol. 65, p. 75–84, © 2010 Cirad/EDP Sciences All rights reserved.
- [46] AMARA M. & BENABDELI K. A geobotanical and phenological study of *Zizyphus lotus* in the Naama Region (Southwestern of Algeria). Journal of Applied Environment and Biological Sciences.2017, 7(11) : 1-8.
- [47] FERNANDEZ, X. Développement de méthodologies analytiques innovantes dans le domaine des compléments alimentaires à base de plantes Séparation, purification et caractérisation de marqueurs spécifiques. Thèse de doctorat. Université Côte d’Azu,2019, 51 52p.
- [48] BAKHTI, H., BOUCHARBA, N. Étude phytochimique et activité antioxydante de différents extraits de *Zizyphus lotus* L. Mémoire de Master. Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem,2020, 8p.
- [49] MOLLAVI, M., HENRIKE, P., SASCHA, R., PEER, R., FRANZISHA, S., Hanschen et Dietmar Schwarz. Nitrogen form and mycorrhizal inoculation amount and timing affect flavonol biosynthesis in onion (*Allium cepa* L.). Journal of Mycorrhiza.2018, 28(1): 59–70.
- [50] ABDOUL-AZIZE, S. Potential benefits of jujube (*Zizyphus Lotus* L.) bioactive compounds for nutrition and health. J. Nutr. Metab.2016, vol.

- [51] ABDERRAHIM, L. A., TAIBI, K., and ABDERRAHIM, C. A. Assessment of the antimicrobial and antioxidant activities of *Ziziphus lotus* and *Peganum harmala*. Iran. J. Sci. Technol. Trans. A Sci.2019, vol. 43, no. 2, pp. 409–414.
- [52] SEGUENI, A., AZAZ. L'activité antioxydants, anti-inflammatoire et anti-lithiasique de *Ziziphus lotus*. Mémoire de Master. Université Mohamed Khider de Biskra.2020,4p.
- [53] ADELI, M., & SAMAVATI, V. Studies on the steady shear flow behavior and chemical properties of water-soluble polysaccharide from *Ziziphus lotus* fruit. International journal of biological macromolecules.2015, 72, 580-587.
- [54] GHAZGHAZI, H., AOUDADI, C., RIAHLI, L., MAAROUFI, A., & HASNAOUI, B. Fatty acids composition of Tunisian *Ziziphus lotus* L. (Desf.) fruits and variation in biological activities between leaf and fruit extracts. Natural product research.2014, 28(14), 1106-1110.
- [55] RSAISSI, N., EL KAMILI, B., BENCHARKI, L., HILLALI, and BOUHACHE, M. Antimicrobial activity of fruits extracts of the Wild jujube '*Ziziphus Lotus* (L.) Desf. International Journal of Scientific & Engineering Research. 2013, vol. 4, pp. 1521–1528, 2013.
- [56] CHUKWUEBUKA, Egbuna., SHASHANK, Kumar., JONATHAN, Chinenye Ifemeje, JAYA Vikas Kurhekar. PHYTOCHEMISTRY, Volume 2, Pharmacognosy, Nanomedicine, and Contemporary Issues. CRC Press, a member of Taylor & Francis Group, 2019. P23, 152. Direction Des Services Agricole Ghardaia, 2019.
- [57] MERGHEM, R. Elément de biochimie végétale. Bahaeddine. Constantine, Algérie.2009, p. 171.
- [58] OUDJEDI, K. Teneur en composés phénoliques et activité antioxydante d'extraits bruts d'extrait bruts *Salvia officinalis* L. et de *Laurus nobilis* L. Mémoire de Magister. Université Abderrahmane MIRA de Béjaia. 2014, p.
- [59] HARBORNE J.B., and W. C. A. Advances in flavonoid research since 1992 Phytochemistry. 2000, 55 : 481-504.
- [60] MAKKAR H. P. S., S. P. et B. K. Plant Secondary Metabolites. Humana Press Inc.2007, p.130.
- [61] BAHAR M., DENG Y., F. J. N. et K. A. D. Plant Derived Natural Products in Drug Discovery and Development: An overview. In: Selected Topics in the Chemistry of Natural Products. World Scientific Publishing Co. Ltd.2008, 11–48.
- [62] DUKE S. O., RIMANDO A. M., SCHRADER K. K., CANTRELL Ch., MEEPAGALA K. M., WEDGE D. E., T. N. et D. F. E. Natural Products for Pest Management. In: Selected Topics in the Chemistry of Natural Products. World Scientific Publishing Co. Ltd. Ltd., 2008, 209–251.

- [63] BOUDJEMA Nassima. Etude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans la région de Biskra. Mémoire de Master. Université Mohamed Khider de Biskra, 2019,5p.
- [64] FERRIER, M. Les polyphénols contenus dans le vin rouge : leurs propriétés pharmacologiques, 2018.
- [65] N. Boizot and J.-P. Charpentier, Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier," Cah. des Tech. l'INRA, pp. 79–82, 2006
- [66] ABCHA, I. Etude du potentiel biopharmaceutique et nutraceutique de deux plantes médicinales et comestibles de la Tunisie : *Rhus tripartita* L. et *Ziziphus lotus* L. Thèse de doctorat. Université de Carthage, 2020, 22p.
- [67] MACHEIX, j j., FLEURIET, A., JAY-ALLEMAND, C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux (un exemple de métabolites secondaires d'importance économiques).Edition techniques et documentation Lavoisier.
- [68] DJEMAI ZOUGHLACHE, S. Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de *Zizyphus lotus* L. Mémoire de Magister. Université -EL HADJ LAKHDER, BATNA,2009, 7p.
- [69] OBAME ENGONGA L. C. Etude Phytochimique, Activités Antimicrobiennes et Antioxydantes de Quelques Plantes Aromatiques et Médicinales Africaines. Thèse de doctorat. Université d'Ouagadougou,2009, 34p.
- [70] https://encrypted-tbn0.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcSHIqRZ9bBpNPA-6lGgJAdDEYDWWWDTabVvl_ludTMQUmA86VEWtoO0vwcjAuUI232fbA&usqp=CAU
- [71] BATRA, P. et SHARMA, A. K. Anti-cancer potential of flavonoids: recent trends and future perspectives. 2013, 3(6) : 439-459.
- [72]<https://encryptedtbn0.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcT9DvVjEzM2wGTgz8nRjATPLrw7CERIF7bCEQ&usqp=CAU>
- [73] BOUAZIZ A. L. Identification de métabolites secondaires des plantes, protecteurs des photorécepteurs à cônes pour le traitement de la rétinopathie pigmentaire. Thèse de doctorat, Université pierre et marie curie. PARIS 6,1992, 21p.
- [74] BOUDJELLAL, K. Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de l'*Elaeagnus angustifolia* L. Mémoire de Magister. Université EL HADJ LAKHDER, BATNA,2009, 10-16p.
- [75] KRIEF, S. Métabolites secondaires des plantes et comportement animal : surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. Thèse de doctorat. Paris, 2003, 21p.

- [76] SKERGET M., KOTNIK P., HADOLIN M., HRAS A-R., SIMONIC M ., KNEZ Z. Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities . Food chemistry, 2005, 89 : 191-198.
- [77] Dacosta Y. (2003). Les phytonutriments bioactifs. Yves Dacosta (Ed). Paris. 317 p.
- [78] ATOUB, N., ALALTA, H. Corrélation entre la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante du miel de différentes origines botaniques. Mémoire de Master. Université Mohammed Sedik Ben Yahia-Jijel, 2021, p.
- [79] EMERAUX, E. Propriétés biologiques des flavonoïdes : étude bibliographique et évaluation de l'activité antioxydante. Thèse de doctorat. Université de Lorraine, Paris, 2019, p.
- [80] BELKADI, N. AND I. HADJ-AL, I. Etude morphométrique et essai de germination des graines de jujubier (*Zizyphus lotus*) provenant du sud Algérien. Extraction et dosage de 3 classes de flavonoïdes et estimation de l'effet de la poudre des fruits vis-à-vis de *Tribolium castaneum* Herbst (Col.) Université Mouloud Mammeri, 2016.
- [81] WICHTL M., ANTON R. Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Édition LAVOISIR, Paris, 2009 : 38, 41.
- [82] GUIDOUM, D., SALAH, C. Étude phytochimique et évaluation in-vitro de l'activité biologique des extraits de *Zizyphus lotus*. Mémoire de Master. Université Ibn Khaldoun, Tiaret, 2022, 5-12p.
- [83] CABRERA M., SIMOENS M., FALCHI G., LAURALAVAGGI M., Piro O –E., CASTELLANO E –E., VIDAL A., AZQUETA A., MONGE A., LOPEZ DE CERAIN A., SAGRERA G I ., SEOANE G ., CERECETTO H ., GONZALEZ M. (2007). Synthetic chalcones, flavanones, and flavones as antitumoral biological evaluation and structure activity relationships. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 15:3356-3367.
- [84] MARFAK A. Radiolyse Gamma des Flavonoïdes. Etude de Leur Réactivité avec Les Radicaux issus des Alcools : Formation de depsides. Thèse de doctorat. Université de LIMOGES, 2003, 187p.
- [85] SAIJA A., SCALESE M ., LANZA M ., MARZULLO D ., BONINA F ., CASTELLI F. (1995). Flavonoids as antioxidant agents importance of their interaction with biomembranes. *Free radical biology & medicine* , 19 :481-486.
- [86] RIRA, M. Les tanins hydrolysables et condensés : une piste pour la réduction de la production du méthane entérique par les ruminants en milieu tropical. Thèse de doctorat. Université de Clermont Auvergne, Clermont-Ferrand, 2019, 15p.

- [87] DADDA, M., GHRAB, N., HAMMOUYA, O. Etude phytochimique de l'extrait des tanins à partir de *Pergularia tomentosa* L. issue de région d'El-Oued. Université Echahid Hamma Lakdhar, EL OUED, 2022, 12p.
- [88] <https://www.researchgate.net/publication/336603986/figure/fig20/AS:814899735302146@1571298645205/28-Structure-chimique-des-tanins-a-hydrolysables-b-condenses-97-Les-principales.ppm>
- [89] Rira M. Effet des polyphénols et des tanins sur l'activité métabolique du microbiote ruminal d'ovins. Mémoire de Magister en : biochimie et microbiologie appliquées. Université Mentouri, Constantine, 2006, 87p.
- [90] GHESTEM A., SEGUIN E., PARIS M., AND ORECCHIONI A.M. Le préparateur en pharmacie dossier. 2ème Ed TEC&DOC. Paris. 2001. pp275.
- [91] PERONNY, S. La perception gustative et la consommation des tannins chez le MAKI (Lemur Catta). Thèse. Doctorat. Museum. nat. histoire. naturelle. Discipline. EcoEthologie, Paris, 2005, 151p.
- [92] KHANBABAEE K ET VAN REE T. Tannins : Classification and Definition. Nat. Prod. Rep, 2001, 18, 641–649.
- [93] BELHADJ, S., CHETTAB, S., DJAOUI, N. Activités antioxydants et antibactériennes des extraits et des huiles essentielles de deux plantes médicinales : *Laurus nobilis* et *Eucalyptus globulus*. Mémoire de master. Université Mohammed-Seddik Ben yahia-Jijel, 2020, 5-32p.
- [94] CYRIL, T. Etude des métabolismes primaires et secondaires de racines transformées de *Catharanthus Roseusen*, vue du développement d'un modèle cinétique, université de Montréal. 2001 : 28.
- [95] https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/3/33/Morphin_-_Morphine.svg/langfr-180px-Morphin_-_Morphine.svg.png
- [96] BEHIH, A., BOUSSAFI, S., LAHOVAZI, KAMAR. Evaluation de l'activité antioxydante de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba*. Mémoire de master. Université Ibn Khaldoun–Tiaret, 2020, 5-7p.
- [97] LOOMIS, D., CROTEAU, R. Biochemistry of terpenoids : A Comprehensive Treatise. In: P. K. Stumpf and E. E. Conn (eds). The Biochemistry of Plants. Lipids: Structure and Function No. 4. Academic Press, San Francisco. 1980, P : 364-410.
- [98] <https://www.vedantu.com/question-sets/ac77959f-7090-4475-983b-50a9566f247b453682720553712523.png>

- [99] TOUIL, S. Variation de la composition chimique et la bioactivité des huiles essentielles et des polyphénols d'*artemisia herba alba* et d'*artemisia campestris* de la région de djelfa. Thèse de doctorat. Université saad dahlab, blida, 2018, 64-65p.
- [100] https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/4/4e/Abietic_acid.svg/800px-Abietic_acid.svg.png
- [101] AICHAOUI, S. Extraction, Séparation et identification des Métabolites Secondaires d'une Plante médicinale. Mémoire de Master. Université Kasdi Merbah, Ouargla, 2022, 22p.
- [102] BRUNETON, J. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Technique et documentation Lavoisier (Paris), 1993, 915p.
- [103] <https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/5/5f/Cortisol.png>
- [104] KONE, D. Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes extraction, identification d'alcaloïdes-caractérisation, quantification de polyphénols. Etude de leur activité antioxydante. Thèse de doctorat., France, 2009, 189p.
- [105] HANIS, L., HEDIR, I. Extraction et caractérisation d'un tensioactif naturel : les Saponines végétales. Mémoire de Master. Université de mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou, 2014, 5-6p.
- [106] R. MOUHAMMED, D. ACHARYA, AND P. WADEGAONKAR, "Plant-derived antimycotics: potential of Asteraceous plants," Plant-derived antimycotics Curr. trends Futur. Prospect., 2003, 165p.
- [107] DOMART, A., BOURNEUF, J. Nouveau Larousse des plantes médicinales. Librairie Larousse (Paris). 1988.
- [108] BAHTITA, S., KIHOU, K. Étude phytochimique et activité antioxydant des extraits de L'espèce *Zizyphus lotus* de la région de Metlili- Ghardaïa. Mémoire de Master. Université de Ghardaïa, 2021, 12p.
- [109] OULD EL HADJ M. D., HADJ-MAHAMMED M., ZABEIROU H., CHEHMA A., Importance des plantes spontanées médicinales dans la pharmacopée traditionnelle de la région de Ouargla (Sahara septentrional-Est Algérien). J. Sciences & Technologie. 2003, 20 : 73-78.
- [110] BOUZOURENE, S., BOURKACHE, S. Etude phytochimique du marrube blanc (*marrubium vulgare*.l). Mémoire de master. Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou, 2016, p17.
- [111] PINTA M., BOURDOU B., ROUSSELET F. Spectrophotométrie d'absorption atomique. Masson et Arston (Eds). Paris ,1980, 478p.

- [112] S.B. KAHUMBA., T. KAHAMBWE., T.MBAYO., M.KALONDA., M.MWAMBA., O.PENGE, Contribution à l'étude de quelques plantes médicinales anti diarrhéiques en usage dans la ville de Lubumbashi et ses environs, Annales de Pharmacie 3, 75-86, 2005.
- [113] BEN KOUMAR, D., BEN HAMMOUDA, Y. Valorisation phytochimique des extraits aqueux et méthanoliques de noyaux de trois plantes (Abricots, Olivier et Seder) de la région de Metlili. Mémoire de Master. Université de Ghardaia, 2020, 34p.
- [114] MAHMOUDI, S. Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*CynaeascolymustL.*). Nature & technologie.2012, vol.1,0°9,pp.35-40.
- [115] KALLA, A. Etude e tvalorisation des principes actifs de quelques plantes du sud algérien : *Pituranthosscoparius*, *Rantheriumadpressum*et *Traganumnudatum*.Thèse de doctorat. Phytochimie. Constantine : Université mentouri, 2012,137p.
- [116] MICHEL, T. Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification : Application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophaerhamnoides*). Thèse de doctorat. Phytochimie.Orléans : Université d'Orléans, 2011, 285p.
- [117] BOUCHOUKA, E. Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes Sahariennes. Thèse de doctorat. Phytochimie.Annaba : Université Badji Mokhtar, 2016, 114p.
- [118] MEZOUARD, D. Evaluation de l'activité antioxydante de *Berberis vulgaris L.* Phytothérapie.2014, vol.12, n°5, pp.297-301.
- [119] GUIGNARD, J-L. Abrégé de biochimie végétale.2° ed. Paris : Masson,1979,263p.
- [120] BENTABET-LASGAA, N. Etude phytochimique et évaluation des activités biologiques de deux plantes *Frédoliaaretioidestechium* vulgare de l'ouest algérien. Thèse de doctorat. Biologie cellulaire et biochimie. Tlemcen : Université Aboubakr Belkaid,2015,113p.
- [121] Senguttuvan J, Paulsamy S, Karthika K, Phytochemical analysis and evaluation of leaf and root parts of the medicinal herb. *Hypochaeris radicata L.* for in vitro antioxydant activities. Asian J Trop Biomed 2014 ;4 : S359-67.
- [122] AMARI, N. Etude phytochimique, Potentiel Antioxydant et activité antifongique de *thymelaeaeahirsuta* (Cas des dermatophytes). Thèse de doctorat. Biotechnologie végétale. Mostaganem : Université Abedlhamid Ben Badis, 2015, 134p.
- [123] BENDIF, H. Caractérisation phytochimique et détermination des activités bilogiques in vitro des extraits actifs de quelques Lamiaceae. Thèse de doctorat. Biotechnologie végétale. Alger : L'école normale supérieure de Kouba-Alger, 2017,143p.

- [124] DAASAMIOUR S. Etude quantitative des composés phénoliques des extraits de trois variétés de dattes (*Phoenix dactylifera* L.) et évaluation in vitro de leur activité biologique. Mémoire de Magister. Université Batna.2009, p.
- [125] HEBI, M. Evaluation de l'activité antioxydante de *Stevia rebaudiana*. *Phytothérapie*.2016, vol.14, n°, pp13-21.
- [126] AMAROWICZ R., TROSZYNSKA A., SHAHIDI, F. (2005). Antioxidant activity of almond seed extract and its fractions. *J food lipids*, 12 : 344-358.
- [127] HADJ KOUIDER, Youssra., OULED SIDI OMAR, O. Investigation phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante de l'espèce *Ziziphus lotus* de la région de Ghardaïa. Mémoire de master. Université de Ghardaïa.2020, 13-14p.
- [128] HADDOUCHI, F et al., Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. *Phytothérapie*.2016, vol, n°, pp1-9.
- [129] SAFFIDINE, K. Etude analytique et biologique des flavonoïdes extraits de *Carthamus caeruleus* L. et de *Pantago major* L. Thèse de doctorat. Microbiologie.Sétif : Université Ferhat Abbas,2015,132p.
- [130] TONY H. ET PAUL S., 2014.polyphenols in the prevention and treatment of vascular andcardiac disease,and cancer.polyphenols in human health ,disease.,2: 1191-1198.
- [131] SAOUAG, H., SALHI, F., NACEF, A. Analyse du pouvoir antibactérien des extraits aqueux des fruits de *Zizyphus lotus* L. Desf. vis-à-vis des bactéries pathogènes humaines. Mémoire de Master. Université Ibn Khaldoun,Tiaret, 2018, 26-39p.
- [132] OUKINA, L., MELBOUS, D. Activité antibactérienne et antioxydante des extraits de graines de nigelle ; *Nigella sativa* L. Mémoire de master. Université Saad Dahlab de Blida 1.2019, 23-24p.
- [133] MOHAMMEDI Z. Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et des flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse magistère, Université Abou Bakr Belkaïd Tlemcen, 2006,155p.
- [134] TELLI, A. Contribution à l'optimisation de l'extraction des polyphenols des dattes (variété Ghars) au cours de différents stades phenologiques et étude de leur activité Biologique. Mémoire de Magister en Biologie. Université Kasdi Merbah -Ouargla, 209, 42-68p.
- [135] FALLEH H., KSOURI R., CHAIEB K., KARRY-BOURAOUI N., TRABLSI N., BOULAABA M. ET ABDELLY C. Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Compt. Rend. Biol*,2007, 331 : 372-379.

- [136] GHEDADBA N., HAMBABA L., ABERKANE M. C., OUELD-MOKHTAR S. M., FERCHA N., BOUSSELSA H. Évaluation de l'activité hémostatique in vitro de l'extrait aqueux des feuilles de Marrubium vulgare L. Algerian Journal of Natural Products. 2014 ; 2 : 64-74
- [137] TEPE, B., SOKMEN, M., AKPULAT, HA., SOKMEN. A. "Screening of the antioxidant potentials of six Salvia species from Turkey" Food Chem. 2006, Vol. (95), 200p.
- [138] LAADJALI, M., TCHANTCHANE, I. Evaluation des activités antioxydant et antimicrobienne des métabolites secondaires de zizyphus lotus. 2022, pp.31-33.
- [139] MALKI, S., MERMAT, Y. Etude de quelques activités biologiques de Zizyphus lotus issues des régions arides. Mémoire de Master. Université M'Hamed Bougara, Boumerdès, 2021, 36p.
- [140] MILANE, H. La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère peroxydant ou thérapeutiques. Thèse de doctorat. Université Louis Pasteur Strasbourg I, 2004, 155p.

Glossaire

Lexique des termes botaniques

Angiospermes : Plante à graines dont l'ovule, fécondé par l'intermédiaire d'un tube pollinique, se transforme en un fruit clos. Les angiospermes portent généralement des fleurs typiques, elles forment un sous-embanchement, s'opposant aux gymnospermes.

Astéracées : Sont une grande famille de plantes dicotylédones, appelées aussi « composées », caractérisées par leurs fleurs minuscules réunies en capitules, regroupant plus de 13000 espèces.

Dicotylédone : Plante angiosperme dont la graine possède deux cotylédons, généralement égaux.

Écorce : Ensemble de couches cellulaires de l'axe des végétaux vasculaires, entourant le cylindre central, séparé de celui-ci par un endoderme et recouvert extérieurement par un épiderme.

Fougères : Plante vasculaire sans fleurs ni graines, portant à la face inférieure des feuilles des organes sporifères, ou sporanges.

Herbacé : Qui est de la nature de l'herbe. Se dit d'une plante non ligneuse (dont la tige n'a pas la consistance du bois), le terme de plantes herbacées désignant pour sa part des plantes non ligneuses dont la partie aérienne meurt après la fructification.

Pharmacologie : Etymologiquement le mot pharmacologie vient du grec : Pharmakon signifiant « drogue ou médicament » et logia signifiant « science », donc c'est la science du médicament.

Phytothérapie : La phytothérapie provient du mot grec, « phyton » signifiant « plante » et « thérapie » signifiant « traitement », c'est-à-dire traitement ou prévention des maladies par l'usage des plantes.

Rhamnacées : Famille de plante dialypétales, les Rhamnacées sont des arbres ou des arbustes, parfois grimpants, portant des feuilles simples, alternes ou opposées, caduques ou persistantes, pauvres de stipules souvent épineuses, croissant dans les zones tempérées, subtropicales (parmi lesquels, notamment le nerprun et le jujubier).

Lexique des termes médicaux

Analgésique : Substance capable de supprimer ou atténuer la sensibilité à la douleur.

Antibactérienne : Substance qui permet soit d'empêcher la multiplication des bactéries soit de détruire les bactéries.

Anticancéreux : Substance destinée à bloquer la prolifération des cellules cancéreuses.

Antidiabétique : Substance capable de diminuer le taux de sucre dans le sang.

Antifongique : Substance possède la capacité de traiter les mycoses, c'est-à-dire des infections causées par des champignons microscopiques et levures.

Anti-inflammatoire : Substance destinée à combattre l'inflammation.

Antimicrobien : Substance qui tue (microbicide) ou ralentie (microbiostatique) la croissance des microbes tels les bactéries (antibactérien), les mycètes (antimycosique), les virus (antiviral), ou les parasites (antiparasitaire).

Antioxydant : Toute composé capable de réduire ou d'inhiber l'oxydation en neutralisant des radicaux libres.

Antiparasitaires : Substance destinée à apporter une protection contre les parasites.

Antiseptique : Antiseptique ou désinfectant, c'est une substance capable d'inhiber la croissance des microorganismes (bactériostase, fongistase, Virustase) ou d'avoir une action létale (bactéricide, fongicide, virucide). Certains antiseptiques présentent ces deux actions en fonction des concentrations.

Antitumoraux : Désigne ce qui a la capacité de lutter contre une tumeur, qui peut faire stagner l'évolution d'une tumeur ou détruire la tumeur.

Antitussif : Est une substance ayant pour vocation d'arrêter la toux.

Anti-ulcérogènes : Utilisé dans le traitement des ulcères gastriques et duodénaux ou dans la prévention de leur récurrence.

Antivenimeuses : Qui combat l'action des venins.

Antiviraux : Sont des molécules perturbant le cycle de réplication d'un ou plusieurs virus, permettant ainsi de ralentir mais rarement d'arrêter une infection virale.

Astringente : L'astringence est une propriété de certaines substances de produire une crispation des muqueuses. Se dit d'une substance qui resserre et assèche les tissus, et peut faciliter leur cicatrisation.

Fébrifuge : Appelé aussi antipyrétique, toute substance qui a la propriété de combattre et guérit la fièvre.

Hypoglycémiant : Les hypoglycémiants sont des produits diminuant la glycémie (concentration de sucre sanguin). Il existe des hypoglycémiants naturels comme le nopal (plante médicinale).

Immunosuppresseurs : Utilisés principalement dans le traitement immunosuppresseurs pour inhiber ou prévenir l'activité du système immunitaire. On les utilise pour prévenir le rejet de greffe d'organes et de transplantés.

Insomnie : Est une maladie qui perturbe le sommeil et qui aboutit à la détérioration des fonctions cognitives et à une perte de la coordination.

Spasmolytiques : Substance qui atténue ou supprime les spasmes.

Tanner la peau : Préparer les peaux avec du tan ou diverses substances tannantes pour les rendre imputrescibles et en faire du cuir. Donner un aspect brun hâlé à la peau : Le soleil et l'air marin lui ont tanné le visage.

Vasoconstricteurs : Substance qui diminue le calibre des vaisseaux en provoquant la contraction de leurs fibres musculaires.

ANNEXE

Annexe

Annexe 1 : Réactifs de caractérisation

Réactif d'amidon : La préparation du réactif d'amidon s'effectue comme suit :

- Dissoudre 1,2 g d'iode (I_2) dans 25ml d'eau distillée contenant 2,5g d'iodure de Potassium (KI)
- Chauffer jusqu'à l'ébullition pendant 1 ou 2 minutes
- Diluer jusqu'à 250ml ou 500 ml.

Réactif de Mayer : La préparation de ce réactif s'effectue comme suit :

- Dissoudre 1,358g de $HgCl_2$ dans 60ml d'eau distillée
- Dissoudre 5g de KI dans 10ml d'eau distillée
- Mélanger les deux solutions
- Ajuster le volume total à 100ml d'eau distillée.

Réactif de Wagner : Ce réactif a été préparé comme suit :

- Dissoudre 2g de KI et 1,27g I_2 dans 25ml d'eau distillée
- Chauffer jusqu'à l'ébullition pendant 1 ou 2 minutes
- Ajuster le volume total à 100ml d'eau distillée.

Solution de $FeCl_3$ a 1% : Cette solution a été préparée comme suit :

- Dissoudre 1g de $FeCl_3$ dans 99 ml d'eau distillée.

Solution d' $AlCl_3$ a 2% :

- Dissoudre 2g d' $AlCl_3$ dans 98 ml de méthanol.

Annexe 2 : Milieux de culture

- **Gélose Mueller-Hinton :** Est une gélose riche pour la réalisation de l'antibiogramme standard. Cette gélose standardisée est la gélose permettant de tester l'action des antibiotiques sur les bactéries. Elle doit être coulée en boîte de façon à obtenir une épaisseur de 4 mm.

a) Composition

Infusion de viande de bœuf :300,0 ml
Peptone de caséine :17,5 g
Amidon de maïs :1,5 g
Agar :17,0 g
pH.....7,4

b) Principe

Sa faible teneur en thymine-thymidine (élément inhibiteur de l'activité des sulfamides) diminue les phénomènes de repousse autour des disques et permet une meilleure détermination des diamètres d'inhibitions.

c) Préparation

- ✓ Mettre en suspension 38,0 g de milieu déshydraté (BK048) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
 - ✓ Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution complète.
 - ✓ Répartir en tubes ou en flacons.
 - ✓ Stériliser à l'autoclave à 115 °C pendant 15 minutes.
 - ✓ Refroidir et maintenir le milieu à 44-47 °C.
 - ✓ Couler en boîtes de Petri stériles et laisser solidifier sur une surface froide.
 - ✓ L'épaisseur de la gélose doit être impérativement de 4 mm.
 - ✓ Laisser solidifier sur une surface froide.
 - ✓ Faire sécher les boîtes à l'étuve, couvercle entrouvert de façon à éviter la formation de gouttelettes d'eau à la surface de la gélose, phénomène pouvant altérer les qualités de diffusibilité du milieu.
-
- **Gélose nutritive** : La gélose nutritive ou gélose nutritive ordinaire (GNO) ou encore gélose ordinaire est un milieu d'isolement non-sélectif.

a) Composition

Extrait de viande 1.0 g
Extrait de levure.....2.5g
Peptone.....5.0g
Chlorure de Sodium.....5.0g
Agar.....15.0g
PH.....7.0

b) Préparation

- ✓ Mettre en suspension 28,0 g de milieu déshydraté (BK048) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- ✓ Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution complète.
- ✓ Répartir en tubes ou en flacons.
- ✓ Stériliser à l'autoclave à 115 °C pendant 15 minutes.
- ✓ Refroidir et maintenir le milieu à 44-47 °C.
- ✓ Couler en boîtes de Petri stériles et laisser solidifier sur une surface froide.
- ✓ L'épaisseur de la gélose doit être impérativement de 4 mm.
- ✓ Laisser solidifier sur une surface froide.
- ✓ Faire sécher les boîtes à l'étuve, couvercle entrouvert de façon à éviter la formation de gouttelettes d'eau à la surface de la gélose, phénomène pouvant altérer les qualités de diffusibilité du milieu.

Résumé

Ce travail est effectué dans le but de vérifier la spécificité d'une espèce végétale à intérêt médicinal : *Ziziphus lotus* L. récolté dans la région de Sour El Ghazlane et cela à travers une étude phytochimique et évaluation des activités antioxydante et antimicrobienne des différents extraits bruts de la partie aérienne (feuilles). Pour ce faire, des extractions aqueuses et hydroalcooliques sont faites par macération à froid. Des tests de screening phytochimique sont effectués et qui ont révélés sa richesse en métabolites secondaire y compris les polyphénols. La quantification de ces composés a montré que le contenu phénolique total était significativement très élevé et leur pouvoir antioxydant face au radical libre DPPH a révélé un effet prometteur de l'ensemble des trois extraits. L'évaluation de l'activité antimicrobienne a montré que tous les extraits se sont révélés actifs contre les souches microbiennes avec un degré différent.

Mots clés : *Ziziphus lotus* L., étude phytochimique, activité antioxydante, activité antimicrobienne.

Abstract

This work is carried out with the aim of verifying the specificity of a plant species of medicinal interest: *Ziziphus lotus* L. collected in the region of Sour El Ghazlane and this through a phytochemical study and evaluation of the antioxidant and antimicrobial activities of the different raw extracts. of the aerial part (leaves). To do this, aqueous and hydroalcoholic extractions are made by cold maceration. Phytochemical screening tests are carried out which revealed its richness in secondary metabolites including polyphenols. The quantification of these compounds showed that the total phenolic content was significantly very high and their antioxidant power against the free radical DPPH revealed a promising effect of all three extracts. Evaluation of antimicrobial activity showed that all extracts were found to be active against microbial strains with different degree.

Key words: *Ziziphus lotus* L., phytochemical study, antioxidant activity, antimicrobial activity.

ملخص

يتم هذا العمل بهدف التحقق من خصوصية نوع نباتي ذو أهمية طبية: زيزيف لوتس. تم جمعه بمنطقة صور الغزلان وذلك من خلال دراسة كيميائية نباتية وتقييم النشاط المضاد للأكسدة والمضاد للميكروبات للمستخلصات الخام المختلفة. مقتطفات من الجزء العلوي (الأوراق). للقيام بذلك، يتم إجراء الاستخلاص المائي والكحولي المائي عن طريق النقع البارد. تم إجراء اختبارات الفحص الكيميائي النباتي والتي كشفت عن ثرائه في المستقبلات الثانوية بما في ذلك البوليفينول. أظهر القياس الكمي لهذه المركبات أن إجمالي محتوى الفينول كان مرتفعاً جداً وأن قوتها المضادة للأكسدة ضد الجذور الحرة كشفت عن تأثير واعد لجميع المستخلصات الثلاثة. أظهر تقييم النشاط المضاد للميكروبات أن جميع المستخلصات فعالة ضد السلالات الميكروبية بدرجات مختلفة.

الكلمات المفتاحية: زيزيف لوتس، دراسة كيميائية نباتية، نشاط مضاد للأكسدة، نشاط مضاد للميكروبات.
