

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université « Dr. Tahar Moulay » Saïda

FACULTE DES SCIENCES

Laboratoire de Biotoxicologie, Pharmacognosie et Valorisation Biologiques
des Plantes

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire Elaboré en vue de l'obtention du diplôme de Master

Spécialité : Biochimie et physiologie cellulaires

Présenté par

M^{elle} : Ben mahedi Hanaa

M^{elle} : Maameri fatima zohera

Sur le thème intitulé

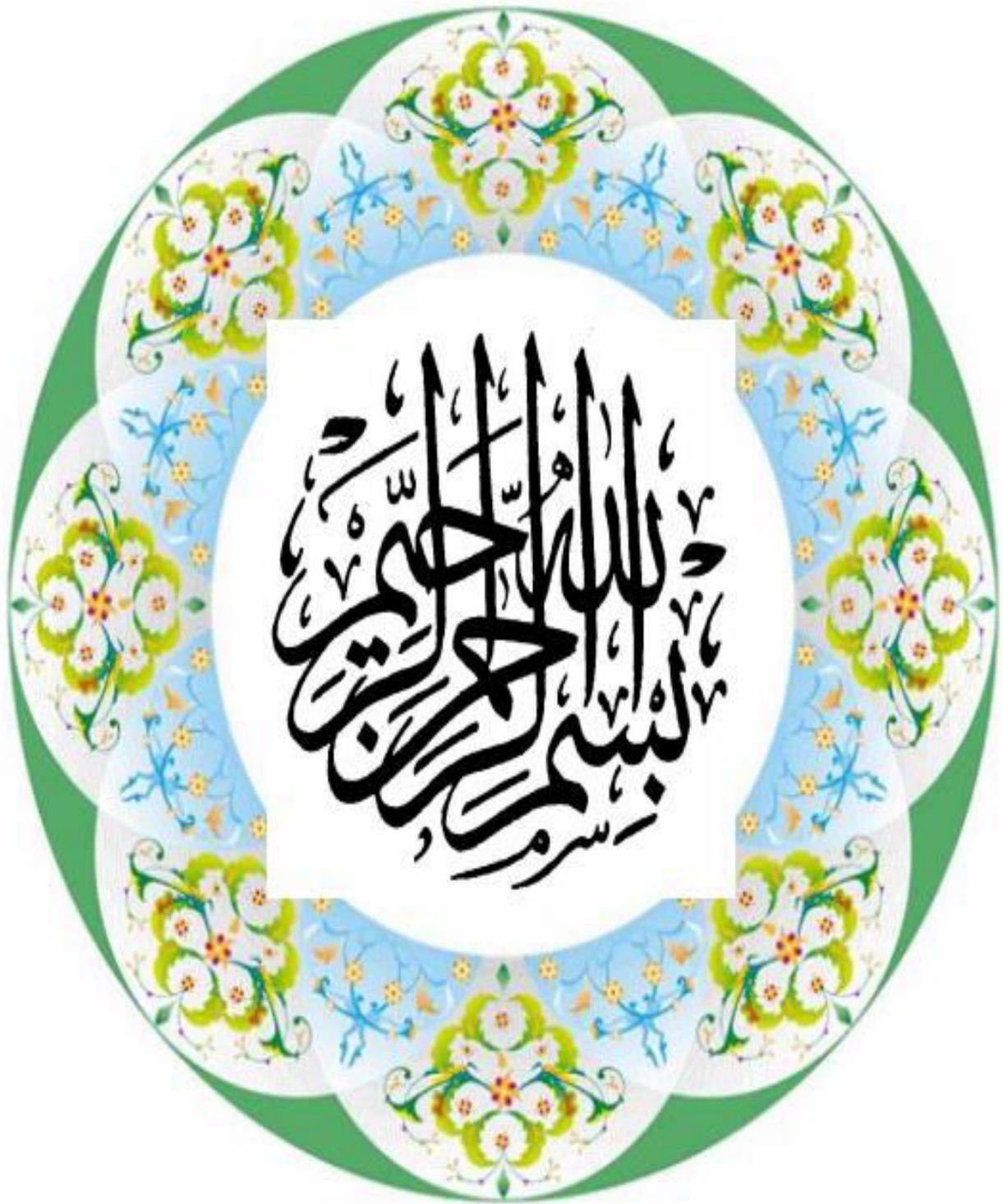
**Etude *in vitro* de l'activité biologique des extraits méthanolique
des feuilles et fruits de *Zizyphus lotus* : Etude ethnobotanique,
phytochimique, pouvoir antioxydants et antimicrobiennes.**

Soutenu le : 23/07/2019

Devant la commission de jury, composée de :

Mr. BENREGUIEG .M	Maître de conférences -A-	U T. M. de Saïda	Président
Mr. HALLA. N	Maître de conférences -A-	U T. M. de Saïda	Examineur
Mr. GACEMI. M	Maître de conférences -A-	U T. M. de Saïda	Encadreur

Année académique 2018/ 2019



Remerciements

La réalisation de ce mémoire a été possible grâce au concours de plusieurs personnes à qui nous voudrions témoigner toute notre gratitude.

Nous voudrions tout d'abord adresser toute notre reconnaissance au directeur de ce mémoire Monsieur Gacemi. B , pour sa patience et sa disponibilité et spécialement à Monsieur Halla.N, pour ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter notre réflexion.

Nous exprimons nos plus vifs remerciements à Monsieur Benreguiég.M, qui a bien voulu accepter de présider ce jury. Qu'il trouve ici l'expression de notre respectueuse gratitude et notre profond respect.

Nous désirons aussi remercier les professeurs du département de Biologie, Université de Saida, Mr. Kefifa,A , Mr. Bellil.A ainsi que M^{elle} Cheikhi. A , M^{lle} amara, Mr. ammam A , Mr.Kahloula .K, Mr. Berroukeche .A, Mr.Adli.D.

Nous désirons aussi remercier les ingénieurs du laboratoire qui ont fourni les outils nécessaires à la réussite de nos études et les doctorants.

Nous voudrions exprimer notre reconnaissance envers les amis et collègues qui nous ont apporté leur soutien moral et intellectuel tout au long de notre démarche.

A tous ces intervenants, nous présentons nos remerciements, notre respect et notre gratitude.

Dédicaces

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

- A l'âme de mon cher père, L'Hadj Mohamed qui m'a toujours poussé et motivé dans mes études.*
- A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse, mon adorable mère.*
- A mes chères sœurs : Meriem, Kheira et khadidja et mes frères : Cheikh, Mokhtar, Khaled et Amine qui n'ont pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études.*
- A la source de bonheur pour toute la famille, les adorables Sara, Kheira, Tita, Chams El Dine et Fouzia que Dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur.*
- Sans oublier mon binôme Hanaà pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.*
- A tous ceux que j'aime et ceux qui m'aiment.*

Merci

Dédicaces

En premier lieu et avant tous, je prie Dieu de m'avoir donné la volonté et le courage d'achever mes études.

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

- A l'âme de mon cher père, Ben mehdi djillali qui m'a toujours poussé et motivé dans mes études.*
- A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse, mon adorable mère Chadli Fatima .*
- A mes chères sœurs : Ismahane, Faiza qui n'ont pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études et mes frères : Nadji, Mokhtar, Ali et Mohamed*
- A la source de bonheur pour toute la famille, les adorables Amel, Karim , Mohamed Al-arabi, Wafaa que Dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur.*
- Sans oublier mon binôme Fatima Zohera pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.*
- A tous ceux que j'aime et ceux qui m'aiment.*

Merci .

Résumé

Les extraits naturels de plantes contiennent une variété de composés bioactives auxquels sont attribuées diverses activités biologiques. Notre travail s'inscrit dans le cadre de recherche de antioxydant et antimicrobienne naturel à partir de la plante *Zizyphus lotus* (partie feuilles et fruits). Ce travail renferme une étude ethnobotanique, suivie par une extraction par macération, réalisation de l'analyse phytochimique, mise en évidence de l'activité antioxydant et l'évaluation de l'activité antimicrobienne.

D'après L'étude ethnobotanique (effectuée dans quatre régions de wilaya de Saida), les feuilles représentent la partie la plus utilisée avec (49%) à des fins médicinales (78%) surtout; pour traiter les maladies psychique (30%).

L'extrait de la matière végétale est réalisé par macération à froid en utilisant méthanol à 80%. Le rendement des deux extraits (feuilles et fruits) est respectivement à raison 18.57% et pour les feuilles et 15.76%.pour les fruits .

L'étude phytochimique révèle la présence de plusieurs catégories de composés phytochimique entre autres .les importants classes à effet surtout antioxydant et antimicrobienne tels que les alcaloïdes et polyphénols ...etc.

L'étude de pouvoir antioxydant en utilisant le DPPH est représentée par l'IC₅₀ de deux parties de la plante .L' IC₅₀ de l'extraits utilisés sont respectivement avec 17.10 mg/ml e pour l'extrait des feuilles et de 15.48 mg/ml pour l'extrait des fruits. Le test de la reducteur de fer (FRAP) montre un pouvoir réducteur relatif aux concentrations des deux extraits utilisés et le test de capacité antioxydant total révèle que l'IC₅₀ des extrait utilisés sont respectivement avec 31.14 mg EAG/mg MS e pour l'extrait des feuilles et de 0.32 mg EAG/mg MS pour l'extrait des fruits.

Le test de l'activité antimicrobienne montre une efficacité de nos extraits sur la croissance de certains souches utilisés (bactéries et champignons) .L'activité la plus important a été enregistrée pour *Pseudomonas aeruginosa* (15mm) avec l'extrait des feuilles la plus grande zone d'inhibition (13.5 mm) a été enregistrer pour *Klebsiella pneumonia* avec l'extrait des fruits .L' activité antifongique de nos extraits(fruits) montre un pourcentage considérable de (60.6 %) et de (67.80%) sur les souche *LMB 2030A* et *LMB 20308* respectivement.

Mots clés : *Zizyphus lotus* ;étude ethnobotanique ;extraction méthanolique, analyse phytochimique ;activité antioxydant ;activité antimicrobien.

Abstract

Natural plant extracts contain a variety of bioactive compounds that are attributed various biological activities. Our work is part of the framework for research of new antioxidant and antimicrobial natural from the *Ziziphus lotus* plant (part leaves and fruits). This work contains an Ethnobotanical study, followed by an extraction by maceration, realization of the phytochemical analysis, highlighting the activity antioxidant and antimicrobial activity assessment.

After the Ethnobotanical study (conducted in four regions of wilaya of Saïda), the leaves are the most used with (49%) for medicinal purposes (78%) especially; to treat mental diseases (30%).

The extract of the plant material is realise by cold maceration using methanol at 80%. Performance of the two extracts (leaves and fruit) is respectively at reason 18.57% for the leaves and 15.76%.for fruits.

The phytochemical study revealed the presence of several categories of compounds between other .the important phytochemical classes for especially antioxidant and antimicrobial effect, such as alkaloids and polyphenols.... ect.

The study of antioxidant power using the DPPH is represented by the IC_{50} of two parts of the plant. The IC_{50} of the used extracts are respectively with 17.10 e mg/ml for the extract of the leaves and 15.48 mg/ml for the extract of the fruit.

The test of reducer of the iron (FRAP) shows a power reducer relative concentrations of the two used extracts, and the total antioxidant capacity test shows that the IC_{50} of the extract used are respectively with 31.14 mg EAG/mg MS mg for the extract of the leaves and 0.32 mg EAG/mg MS for the extract of the fruit.

Antimicrobial activity test shows effectiveness of our extracts on growth of some strains used (bacteria and fungi) . The most important activity has been registered for *Pseudomonas aeruginosa* (15mm) with the extract of the leaves. the largest zone of inhibition (13.5 mm) has been save for *Klebsiella pneumonia* with the extract of the fruit. The antifungal activity of our extracts (fruits) shows a considerable percentage of (60.6%) and (67.80%) on the strains LMB 2030 A and LMB 20308 respectively.

Key words: *Zizyphus lotus*; ethnobotany study; methanolique extraction, phytochemical analysis; antimicrobial activity, antioxidant activity

المخلص

المستخلصات النباتية الطبيعية تحتوي على مجموعة متنوعة من المركبات الفعالة بيولوجيا التي تختص في مختلف الأنشطة البيولوجية. عملنا جزء من الإطار الأبحاث الجديدة لمضادات الطبيعية للأكسدة ومضادات لميكروبات الاجزاء المستعملة هي أوراق الشجر والفواكه. « Zizyphus lotus » بواسطة نبات سدرة. هذا العمل يشمل الدراسة الاثنية لهذا النبات ، متبوعة بعمل مستخلص للنبنة المدروسة ، القيام بتحليل المواد الكيميائية الموجودة في النبات ، اظهار قدرة النبنة في منع الاكسدة و تقييم قدرة النبنة في منع تكاثر الميكروبات.

بعد الدراسة الاثنية للنبات (أجريت في أربع مناطق من ولاية سعيدة)، يتضح ان الأوراق هذا النبات تمثل الجزء الأكثر استخداما بنسبة (49%) للأغراض الطبية (78%) خاصة؛ وفي علاج الأمراض العقلية 30 % .

مستخلص مواد هذا النبات تم تنفيذها عن طريق النقع في درجة حرارة منخفضة بواسطة استخدام محلول الميثانول مخفف بنسبة 80%. مردود كل من المستخلصين (أوراق الشجر والفواكه) هي على التوالي بنسبة 18.57% لمستخلص الأوراق وبنسبة 15.76 % لمستخلص الفواكه .

دراسة كيمياء النبات كشفت عن وجود عدة فئات من المركبات هذا النبات من بين الفئات الهامة الأخرى، الاصناف الأكثر اهمية لها تأثير كمضادات الأكسدة ومضادات الميكروبات، مثل الاكلويد والبوليفينول... إلخ

دراسة قدرة المستخلص لمنع الاكسدة باستخدام تجربة منع اكسدة مادة DPPH و حساب تركيز المستخلص اللازم لمنع اكسدة نصف كمية DPPH و النتائج كانت 17.10 مغ/مل لمستخلص الاوراق و 15.48 مغ/مل مستخلص الفواكه . و في تجربة ارجاع مادة الحديد FRAP ، بينت النتائج ان قدرة كل مستخلص في ارجاع الحديد متناسبة طرديا مع تراكيز كل من المستخلصين المستخدمين في التجربة . اما بالنسبة لتجربة القدرة الاجمالية لمضاد الاكسدة و حساب تركيز المستخلص اللازم لمنع اكسدة نصف كمية الموليبدان فالنتائج كانت كالتالي: 0.32mg EAG/mg MS لمستخلص الفواكه و 31.14mg EAG/mg MS لمستخلص الاوراق.

في دراسة نشاط مضاد الميكروبات ،النتائج تبين فعالية المستخلصين في منع تكاثر بعض البكتيريا المستعملة في هذه التجربة. كما توضح وجود نشاط مهم لمستخلص الاوراق على البكتيريا Pseudomonas aeruginosa بقطر 15 مم و 13 مم على البكتيريا Klebsiella pneumonia باستخدام مستخلص الفواكه. و في نشاط مضاد للفطريات ،كانت النتائج كالأتي: 60.6 % و 67.8% على الفطريات على التوالي LMB 2030 A و LMB 20308

الكلمات المفتاحية: نبات السدرة ؛دراسة اثنية النبات ؛الاستخلاص الميثانوليكي ؛تحليل كيمياء النبات ،نشاط مضاد الأكسدة نشاط مضاد للميكروبات.

Sommaire

Résumé

Introduction.....	1
--------------------------	----------

Synthèse bibliographique

I. généralité sur <i>zizyphus lotus</i>	3
I.1. Historique	3
I.2. Etude botanique de la plante.....	3
I.2.1. Appellations.....	3
I.2.2. Position systématique	4
I.2.3. Caractéristiques.....	4
I.2.4. Autre espèces de <i>Zizyphus</i>.....	5
I.3. Ecologie.....	6
I.4. Activités biologiques et thérapeutiques de <i>Zizyphus lotus</i>.....	7
I.4.1. Activités anti-ulcères.....	7
I.4.2. Activités anti-inflammatoires et anti-analgésiques.....	7
I.4.3. Activités anti-fongiques et anti-mollusques.....	8
I.4.4. Autres activités.....	8
I.5. Ethnobotanique des plantes.....	8
I.5.1. La notion ethnobotanique.....	8
I.5.2. L'intérêt de l'ethnobotanique.....	8
I.5.3. Caractéristiques de l'usage traditionnel.....	9
II. Base de données sur la phytochimie des plantes	
II.1. Les métabolismes secondaires.....	9
II.1.1. Les polyphénols.....	10
II.1.1.1. Les flavonoïdes.....	10

II.1.1.2. Les tanins.....	11
II.1.1.3. Les caumarines.....	12
II.1.5. Les quinones.....	12
II.1.2. les alcaloïdes.....	14
II.1.3. Les terpénoïdes	15
II.1.4. Les saponines.....	18
III. Base de donne sur l'activité biologique des plantes	
III.1. Le stress oxydatif et le pouvoir antioxydant.....	19
III.1.1. Stress oxydant.....	19
III.1.2. Les espèces réactives oxygénées.....	23
III.1.3. Les antioxydants.....	28
III.1.4. Les méthodes d'évaluation de l'activité antioxydant.....	30
III.1.5. Mécanisme de l'activité antioxydant de la plante.....	32
III.2. Les infections et l'activité antimicrobienne.....	34
III.2.1. Les infections bactériennes.....	34
III.2.2. Mécanisme d'action des antimicrobien.....	34
Partie expérimental	
I. Matériel.....	39
I.1. Matériel végétal.....	39
I.2. Matériel biologique.....	39
I.3. Milieux de culture.....	40
II. Méthodes.....	40
II.1. Etude ethnobotanique.....	40
II.2. préparation des extraits.....	42
II.3. Les Analyses phytochimiques.....	42
II.3.1. Analyse phytochimique des feuilles.....	42

II.3.2. Analyse phytochimique des fruits.....	43
II.4. Activité anti oxydant.....	45
II.4.1. Activité antiradicalaire 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH).....	45
II.4.2. Pouvoir réducteur.....	46
II.4.3. Activité antioxydante totale (TAC).....	46
II.5. Activité antimicrobienne.....	46
II.5.1. Activité antibactérienne.....	46
II.5.2. Activité antifongique.....	47
Résultat et discussion	
I. Enquête ethnobotanique.....	48
I.1. Le profil de la fréquence d'utilisation de <i>zizyphus lotus</i>	48
II. Le rendement.....	52
III. Analyse phytochimique.....	53
III.1. Criblage phytochimique des feuilles.....	53
III.2. Criblage phytochimique des fruits.....	55
IV. Pouvoir antioxydant.....	56
IV.1. Activité antiradicalaire de DPPH.....	56
IV.2. Activité antioxydant par la méthode de Réduction de fer (FRAP).....	59
IV.3. Test capacité total feuilles.....	61
V. Activité antimicrobienne.....	63
V.1. Activité antibactérienne.....	63
V.2. Activité antifongique.....	66
Conclusion.....	70
Référence	
Annexe	

Abréviation

Z : zizyphus

NO : monoxyde d'azote

E.O.R : espèces réactives oxygénées

ADN : acide désoxyribonucléique

Ca²⁺ : calcium

ROS : reactive oxygen species

NADPH oxydase : nicotinamide adenine dinucléotide phosphate oxydase

O₂^{•-} : anion superoxyde

SOD : superoxyde dismutase

H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène

OH[•] : radical hydroxyle

O₃ : ozone

NO_x : oxydes d'azote

SH : sulfhydryle

AGPI : acides gras poly-insaturés

ROO[•] : radical peroxyde

LDL : low density lipoprotein

ONOO⁻ : peroxy nitrite

HO[•] : radical hydroxyle

Fe:fer

Cu:cuire

RO[•] : Radical alkoxy

O₂^{•-} : Anion superoxyde

μ: micro

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

ROOH : Peroxyde organique

HOCl : Acide hypichloreux

¹O₂ : Oxygène singulet

NO[•] : Radical oxynitrique

ONOO⁻ : Peroxynitrite

EOA: espèces réactifs de l'oxygène

GSH : Glutathion peroxydase

HAT: Hydrogen Atom transfer

SET: Single Electron transfer

UV : ultra violet

Mo : molybdène

FTC : Ferric thiocyanate method

ABTS: azynobis-ethyl benzo thiazoline-sulfonic acid

ARN : acide ribonucléique

HE : huiles essentielles

DMT :département de médecine traditionnelle

GN : la gélose nutritive,

MH :Mueller Hinton;

PDA : potatoes dextrose agar,

BN :le bouillon nutritif

ml : millilitre

HCl :chlorohydrique

H₂SO₄ :acide sulfurique

NaOH :hydroxyde de sodium

FeCl₃ :chlorure ferrique

NaNO₂ : acide désoxyribonucléique

TCA :acide trichloracétique

K₃Fe(CN)₆ :ferricyanure de potassium

TAC total antioxydant capacity

mg EAG/ g MS : milligramme équivalents d'acide galique par gramme de la matière sèche

mm :milimetre

DPPH : diphényl-picrylhydrazyl

FRAP :

ABS : Absorbance

FTC : Thiocyanate de fer

FeCl₃ : trichlorure de fer

IC50: Concentration inhibitrice à 50%

BHA: Butylhydroxyanisole

FRAP: Ferric Reducing Antioxidant Power

Introduction

Le continent africain est l'un des continents qui sont dotés d'une biodiversité la plus riche dans le monde. Dans cette vision, l'Algérie possède une richesse floristique considérable, qui constitue un potentiel de plantes médicinales engendrant des milliers d'espèces végétales d'intérêts divers (**Aberkane, 2006**).

Les plantes médicinales ont toujours eu un rôle de grande importance sur la santé des êtres humains (**Carillon, 2000**). A l'heure actuelle, les substances naturelles contenues dans les plantes sont encore le premier réservoir de nouveaux médicaments. Elles représentent près de 60% des médicaments, dont nous disposons (**OMS, 2000**). Les 40% restants ou médicaments de synthèse sont souvent nées de la modification chimique de molécules ou parties de molécules naturelles prises comme tête de séries (**Fouché et al., 2000**).

En effet, l'**OMS (2002)** estime que, pour se soigner, 80% de la population africaine font recours toujours aux remèdes de la médecine traditionnelle pour laquelle la majeure partie des thérapies implique l'exploitation des principes actifs des plantes médicinales (**Biyiti et al., 2004**).

Les plantes ont été employées traditionnellement sans savoir à quoi étaient dues leurs actions bénéfiques, il reste difficile de définir la réserve biochimique responsable de leur action. Ces molécules sont douées des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie, en alimentation, en cosmétologie et en dermatopharmacie, parmi ces composés on retrouve, les coumarines, les alcaloïdes, les phénols, les tannins, les terpènes et les flavonoïdes (**Bahorun, 1997**).

Dans ce contexte, et dans le but de valoriser le patrimoine végétal, notre travail est basé sur une étude ethnobotanique suivie d'une analyse phytochimique, une évaluation des activités biologiques est également réalisée utilisant les extraits méthanoliques des feuilles et fruits de *Ziziphus lotus* L, notamment l'activité antioxydante et antimicrobiennes.

Cette contribution à l'étude de *Ziziphus lotus* est subdivisée en deux grands volets : un volet théorique qui englobe et rassemble des données théoriques qui représentent de généralité sur *Ziziphus lotus*, une base de données sur la phytochimie des plantes et certaines informations concernent l'activité biologique des plantes en absence d'un vrai support bibliographique sur *Ziziphus lotus*. Le second volet concerne l'étude expérimentale, qui comporte une méthodologie assez variée

Une conclusion générale résume l'ensemble des résultats issus de cette étude et présente les perspectives de recherche concernant toutes les étapes à réaliser dans l'avenir, afin de confirmer que l'utilisation de cette plante ne restent pas sur les maladie psychique mais elle s'inclure des autres effets bénéfiques

Listes des figures

Figure 1. Feuilles et fleurs de <i>Zizyphus lotus</i> de région de Saida.	3
Figure 2. Fruits de <i>Zizyphus lotus</i> de la région de Saida.	3
Figure 3. Squelette de base des flavonoïdes.	8
Figure 4 . structure chimique de tanin condensé et de tanin hydrolysable.	9
Figure 5. Structure chimique d'alcaloïde (ex : la morphine).	10
Figure 6. Structure d'hétérocycles oxygénés des coumarines.	11
Figure 7. Exemple de composant monoterpénique et sesquiterpénique.	12
Figure 8: La formule générale des quinones.	12
Figure 9 : Squelette de saponine	13
Figure 10 : structure chimique d'unité isoprène	14
Figure 11 : Structure chimique d'émodine.	15
Figure 12 : Structure chimique des stéroïdes	16
Figure 13 : structure chimique des phytostérol	16
Figure 14. Les différentes espèces réactives oxygénées.	19
Figure 15: Origine extracellulaire et intracellulaire des radicaux libres dérivés de l'oxygène	23
Figure16. Origine et réponse cellulaire aux ROS.	28
Figure17 : Réaction des composés phénoliques avec les agents oxydants	30
Figure18: Mécanisme de l'activité scavenger des flavonoïdes via la fonction catéchol	31
Figure 19 : Chélation des ions métalliques par des acides phénoliques	31
Figure20: Exemple de chélation de fer par les flavonoïdes (Marfak, 2003).	32
Figure 21: Principales localisations des sites d'action des constituants des huiles essentielles	34
Figure22: Carte situation de la commune de Saïda.	37

Figure 23 : Aspect des fruits (a gauche) et feuilles (a droite) collectes de <i>Zizyphus lotus</i>	39
Figure 24 : Répartition de la fréquence d'utilisation de la plante selon l'âge	46
Figure 25: Répartition de la fréquence d'utilisation de la plante selon le sexe.	47
Figure 26: Répartition de la fréquence d'utilisation de la plante selon le niveau académique	48
Figure 27: Répartition de la fréquence d'utilisation de la plante selon l'origine de l'information.	48
Figure 28: Répartition de la fréquence d'utilisation de la plante.	49
Figure 29: Répartition de la fréquence d'utilisation de la plante selon la maladie traité.	49
Figure 30: Répartition de la fréquence d'utilisation de la plante selon les parties utilisées.	50
Figure 31: Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH' en fonction des différentes concentrations d'acide ascorbique.	54
Figure 32: Corrélation logarithmique entre la concentration de l'extrait de feuilles et le pourcentage de l'activité antiradicalaire	56
Figure 33: Corrélation logarithmique entre la concentration de l'extrait de feuilles et le pourcentage de l'activité antiradicalaire	57
Figure 34: corrélation linéaire de la concentration Du BHA en fonction de l'absorbance	59
Figure 35. Corrélation linéaire entre concentration de l'extraits feuilles et absorbance.	60
Figure 36: Corrélation linéaire entre la concentration de l'extrait de fruits et l'absorbance de l'activité antiradicalaire.	60
Figure 37: corrélation linéaire entre concentration de l'extraits fruits et absorbance	61
Figure 38: corrélation linéaire entre concentration d'extrait de feuille et absorbance de capacité antioxydant totale.	61
Figure 39: corrélation linéaire entre concentration d'extrait des fruits et absorbance de capacité antioxydant totale.	62
Figure 40 : Prise des photos de l'activite antibactirienne des deux extraits des sur quelque bacteries	64
Figure 41: Prise des photos de l'activite anti levure d'extraits sur quelque levure.	66

Figure 42 : L'indice antifongique d'extrait méthanolique des feuilles de *Ziziphus lotus* **67**

Figure 43: L'indice antifongique d'extrait méthanolique des fruits de *Ziziphus lotus* **67**

Listes des tableaux

Tableaux 1 : Principales espèces réactives oxygénées.	22
Tableaux 2 : Analyse phytochimique de l'extrait méthanolique des feuilles de <i>Z. lotus</i>	52.
Tableaux 3 : Analyse phytochimique de l'extrait méthanolique des feuilles de <i>Z. lotus</i>	52
Tableaux 4 : analyse phytochimique de l'extrait méthanolique des fruits de <i>Z. lotus</i>	54
Tableaux 5 : Les IC ₅₀ de l'acide ascorbique et les extraits des feuilles et des fruits.	57
Tableaux 6 : Activité anti levure des 02 extraits employés de <i>Zizyphus lotus</i>	63
Tableaux 7 : Activité anti levure des 02 extraits employés de <i>Zizyphus lotus</i>	65

Synthèse bibliographique

I. généralité sur *Zizyphus lotus*

I.1. Historique :

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

I.2. Etude botanique de la plante :

L'espèce *Zizyphus lotus* appartient à la famille des Rhamnacées. Elle est une des plantes dicotylédones qui comprend 900 espèces en près de 50 genres (Toukoub, 2011). Elles sont des arbres, des arbustes, des lianes ou des plantes herbacées (Watson et al., 1992); Punt et al., 2003), plus particulièrement présentes dans les régions tropicales et subtropicales (Benammar, 2010) .

L'espèce est un arbuste de 1 à 3 mètres de hauteur, très épineux branchés. gris blanc poussant en zigzag (Bayer et al., 2001; Ressaisi et Bouchache, 2002). Elle est appelée en Afrique du Nord « Sedra » (Alibert, 1826; Benamar, 2010). Elle comprend différents synonymes: Le *jujubier* des Lotophage, *jujubier* de barbarie, *Zizyphus sylvestris* et aussi *Zizyphus parcifolia* (Catoire et al., 1999). Elle très connue dans l'Algérie, et réputée en Médecine traditionnelle algérienne (Watson et al., 1999; Punt et al., 2003). Elle est spontanée dans les régions arides d'Algérie du sud Ain Oussara et Massaad (wilaya de Djelfa) au climat aride et à Taghit de la wilaya de Bechar au climat Saharien (Mouni, 2008), sauf dans le Tell Algéro-Constantinois (Quézel et Santa ; 1962). Des populations naturelle se trouvent dans la région de M'Sila, et l'arbuste est répartie jusqu'au le secteur du Sahara Occidental en Algérie (Kechairi , 2009).

I.2.1 Appellations :

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

I.2.2. Position systématique :

Selon (Bennet, 2001) la classification des *Zizyphus lotus* est représentée comme suit :

Règne	Végétale
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Eudicots
Sous classe	Dialypétales
Série	Disciflores
Sous série	Isostenones
Ordre	Rosales
Famille	Rhamnacées
Genre	<i>Zizyphus</i>
Espèce	<i>Zizyphus lotus</i> .

I.2.3. Caractéristiques :

❖ Feuille :

D'après la (figure 1), les feuilles ont des courts pétioles, glabres, caduques alternées et ovales a marges entières. Chaque feuille porte à sa base deux a stipules transformées en épines inégales et vulnérables de 1 à 2 cm de longueur, et de 7 mm de largeur avec nervures nettes (Bayer et al., 2001).

❖ Fleur :

Les fleurs sont petites, jaunâtres, axillaires, fasciculées, avec des sépales ouverts en étoile. Les petits pétales et ovaire supère, fleurissant en juin / juillet (Ozenda, 1991; Catoire et al., 1999). Elles sont complètes avec un long pédoncule floral, les sépales sont soudés à leur base, les étamines sont Disposées en un cycle de 5 (Ismail, 2002 ; Catoire et al., 1999). Alors sa formule florale est comme suit: 5 S + 5 P + 5 E + 2-3 C; dont S: sépales; P: pétales; E: étamines; C: carpelles



Figure 1. Feuilles et fleurs de *Zizyphus lotus* de région de Saida.

❖ **Fruit :**

Il est ovoïde, jaune et enfin rouge foncé à la maturité, à noyau osseux (**figure 2**). la pulpe est épaisse d'un rouge jaunâtre un peu glutineux (**Mihi, 2002**). Leur fructification commence dès la quatrième année, il peut être en plein rendement vers l'âge de quinze ans. Il est également très productif lorsqu'il reçoit des arrosages copieux pendant l'été (**Catoire et al., 1999**).



Figure 2. Fruits de *Zizyphus lotus* de la région de Saida.

I.2.4. Autres espèces de *Zizyphus* :

Dans le monde le genre de *Zizyphus* comporte plusieurs espèces dont :

• ***Zizyphus spina-christi* :**

Il est cultivé en Inde, *Pakistan*, *Syrie*, *Egypte*, *Tunisie*, et dans les oasis sahariennes. C'est un grand arbrisseau pouvant atteindre 15 m à 20 m de haut avec de grandes feuilles vertes persistantes et des fruits arrondis de la grosseur d'une noix.

- ***Zizyphus mauritiana* :**

C'est un arbuste de 4 à 5 m de hauteur ou arbre atteignant 12 mètres. Le système racinaire est très développé. Son écorce est grise à tranche brune rouge pâle (Von Maydell, 1990).

- ***Zizyphus amphibia* :**

Est un arbuste très buissonnant, de 3 à 4 m de hauteur. Il vit dans des conditions particulières, dans le lit même des fleuves et des grandes rivières submergées pendant la saison des pluies. L'écorce est gris clair crevassée et les feuilles sont ovales ou elliptiques, arrondies aux deux extrémités, glabres et entières. Les fruits de *Z. amphibia* sont très acides.

- ***Zizyphus mucronata*:**

Est un arbuste épineux et sarmenteux de 4 à 5 m de hauteur avec des branches enchevêtrées et retombantes. Les feuilles sont alternes largement ovales, pointues, glabres et nettement asymétriques et les fleurs sont en fascicules de 10 à 20 fleurs jaunâtres ou verdâtres, courtement pédicellées, glabres. Les fruits sont des drupes globuleuses, brun rouge, Foncées à maturité et contenant un gros noyau enrobé dans une pulpe blanc rosâtre plus ou moins farineuse.

- ***Zizyphus sphaerocarpa* :**

ELLE st une espèce de *jujubier* qui n'est pas très connue comme étant originaire d'Afrique sauf peut-être dans la partie de l'extrême Nord-Est du continent où elle peut y avoir été introduite comme une plante cultivée (Chevalier, 1947). C'est un arbre épineux. Le fruit, à grosseur d'une olive. La pulpe, jaune verdâtre ou presque blanche, est acide et très rafraîchissante, cette espèce reste encore très peu documentée contrairement aux autres espèces de *jujubier*.

I.3.Ecologie :

Ils ont plusieurs caractéristiques physiologique et morphologique qui peuvent contribuer à leur capacité de s'adapter aux environnements arides (Bonnet, 2001). Dans les Terrains accidentés où ils sont exposés à l'érosion, les touffes de *jujubier* jouent un rôle très Important dans l'équilibre naturel par l'accumulation du sable et des alluvions d'apport éolien avec leur monticule.

Elles forment un gîte de choix pour les rongeurs (mérieone, gerboises, rats et lapins), les hérissons, les reptiles (serpents et vipères) et les arachnides (scorpions et araignées). Il est

utilisé aussi comme ceinture verte contre les courants d'eau, comme clôture épineuse (morte ou vivante) et pour ombrage (Toukobe, 2011).

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

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

I.4.1. Activités anti-ulcérogènes :

Zizyphus lotus (les feuilles et, l'écorce des racines) possède une importante activité anti-ulcéro-génique attribuée à la présence des tanins et des flavonoïdes connus par leur effet Gastro-protecteur (Borgi et al., 2006).

I.4.2. Activités anti-inflammatoires et anti-analgésiques :

Les flavonoïdes et les saponines de l'écorce des racines du *Zizyphus lotus* ont montré une activité anti-inflammatoire significative (Borgi et Chouchane, 2006).

Le *Zizyphus lotus* inhibe la production de monoxyde d'azote (NO), cette activité apparaît potentiellement avec l'extrait méthanolique de l'écorce des racines qui est la source Possible de l'agent anti-inflammatoire dans la réaction de l'hypersensibilité retardée induite par oxazolone (Borgi et al., 2008).

Les feuilles du *Zizyphus lotus* possèdent des effets analgésiques attribués à leur contenu en principes actifs; les flavonoides et les saponines (Borgi et al., 2007; Borgi et al., 2008). Toutes ces activités confirment l'usage traditionnel de cette plante dans certaines maladies inflammatoires et douloureuses (Borgi et al., 2007).

I.4.3. Activités antimicrobiennes :

Des études faites par Ghédira et al.(1995) ont montré qu'un alcaloïde de cette espèce présente une activité antibactérienne significative. Le group de Jürgen et son équipe (2009) sont pu démontré que les extraits de *Zizyphus lotus* sont également actifs non seulement contre les bactéries mais aussi contre les champignons, levure et certain virus (Jürgen et al., 2009).

I.4.4. Activités anti-fongiques et anti-mollusques :

Les différents extraits (éthéré, chloroformique, extrait d'acétate d'éthyle et méthanolique) de *Zizyphus lotus* se sont avérés très actifs *in vitro* vis-à-vis de neuf souches des champignons pathogènes et des mollusques *Balinus truncatus* (hôtes intermédiaires et vecteurs de la transmission de la bilharziose) (Lahlou et al., 2002).

I.4.5. Autres activités :

Les fruits de *Zizyphus lotus* sont décrits comme adoucissant, et entrent dans le traitement de la gorge et les irritations broncho-pulmonaires. De même, la poudre des feuilles sèches et des fruits est appliquée dans le traitement des furoncles (Borgi et al., 2007). D'ailleurs l'écorce des racines du *Zizyphus lotus* est utilisée dans la médecine traditionnelle dans le traitement du diabète (Ghedira et al., 1995).

I.5. Ethnobotanique des plantes :

I.5.1. La notion ethnobotanique :

L'ethnobotanique est définie comme étant la contraction d'ethnologie et de botanique; l'étude des relations entre les plantes et l'homme (Belki et Benmebarek; 2009).

Contrairement à la biologie végétale qui ne prend en compte que l'élément plante, l'écologie qui analyse la relation milieu-végétation, ou encore la botanique qui a pour principaux buts l'identification et inventaire des espèces, l'ethnobotanique s'efforce de comprendre le rôle des interventions humaines anciennes et contemporaines sur l'environnement végétal et la nature des liens qui en découlent (Crozat, 2001). A vrai dire, L'ethnobotanique est une discipline scientifique qui étudie l'ensemble des connaissances et coutumes de populations humaines concernant les plantes.

I.5.2. L'intérêt de l'ethnobotanique :

Son domaine d'étude implique une large gamme de disciplines telles que la conservation de la biodiversité, la génétique de la conservation, l'ethnopharmacologie, la technologie alimentaire, l'écologie, etc. ou effet, l'ethnobotanique se révèle être une science importante pour le développement socioéconomique en tant que discipline de base à plusieurs autres sciences (Houéhanou et al., 2016).

I.5.3. Caractéristiques de l'usage traditionnel:

D'après Benmehdi (2000), trois points essentiels caractérisent l'usage traditionnel :

➤ **La réponse naturelle à un dérèglement de santé :**

La richesse extraordinaire du règne végétal met à notre disposition une gamme exceptionnelle de substances permettant d'apporter une réponse adaptée à tous nos troubles et problèmes de santé. Utiliser en priorité les ressources que la nature nous fournit est aussi une réponse naturelle à nos problèmes de santé.

➤ **Son action s'inscrit le plus souvent dans la durée :**

Elle soigne davantage le fond que les signes symptomatiques. La phytothérapie traite les causes des problèmes et pas seulement leurs effets.

D'une manière générale, son action est globale, elle agit simultanément sur plusieurs de nos organes et de nos fonctions biologiques. Il n'est pas rare que l'on en retire des bénéfices dans des domaines inattendus.

➤ **Son action préventive :**

L'utilisation de la phytothérapie améliore les défenses immunitaires et peut diminuer ou prévenir l'apparition de nombreux troubles (la lutte contre les radicaux libres, dans laquelle les principes actifs des plantes sont particulièrement efficaces); de très nombreuses plantes permettent de lutter contre le surpoids et sa dégénérescence en obésité, diabète, problèmes cardiovasculaires, etc.....

II. Base de données sur la phytochimie des plantes

II.1. Les métabolismes secondaires :

On désigne par « métabolite secondaire » toute substance présente chez un organisme et qui ne participe pas directement aux processus de base de la cellule vivante. (**Kossel, 1891**) qui l'introduisit par opposition à celui de métabolites primaires. Ces derniers étant directement impliqués dans les grandes voies du métabolisme basal de la cellule. Chez les végétaux, ces composés secondaires regroupent plusieurs dizaines de milliers de molécules différentes, généralement rassemblés en superfamilles chimiques tel que les polyphénols, les terpènes et stérols, les alcaloïdes, les polycétides, etc. Outre la très grande diversité chimique qu'ils représentent, ces métabolites secondaires se caractérisent généralement par de faibles concentrations dans les tissus végétaux, ainsi que par leur stockage souvent réalisé dans des cellules ou organes dédiés (**Bourgaud et al., 2001**).

II.1.1. Les polyphénols :

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

Les polyphénols sont des métabolites secondaires, ils sont des produits de la condensation de molécules d'acétyl- coenzyme A et de phénylalanine. Cette biosynthèse a permis la formation d'une grande diversité de molécules qui sont spécifiques d'une espèce de plante, d'un organe, d'un tissu particulière.

Les actions protectrices des polyphénols peuvent comprendre :

- Inhibition des espèces réactives oxygénées.
- Piégeage des radicaux libre.
- chélation des ions métalliques responsables de la production des E.O.R
- inhibition des enzymes responsable de la production des E.O.R (exemple : xanthine oxydase et cyclooxygénase) (**Pokorny et al., 2001 ; magalha et al., 2008**).
- Interaction des polyphénols dans la qualité alimentaire des fruits notamment coloration et saveur (**Dubois et al., 1977**).

II.1.1.1. Les flavonoïdes :

Les flavonoïdes désignent une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (**Marfak, 2003**) (**figure 5**). Ces molécules sont considérées comme des pigments quasiment universels des végétaux ; ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles (**Bruneton, 1999**). Ils existent le plus souvent à l'état naturel sous forme d'hétérosides (**Ghestem et al., 2001**).

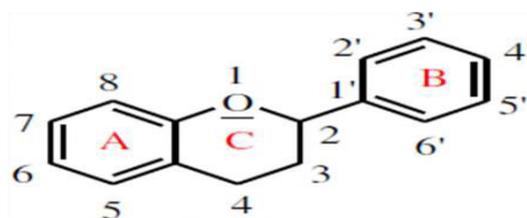


Figure 3. Squelette de base des flavonoïdes (**Girotti-Chanu, 2006**).

Il existe plusieurs classes de flavonoïdes, dont les principales sont les flavones, les flavonols, les flavan-3-ols, les isoflavones, les flavanones et les anthocyanidines (Beecher, 2003 et Gresele et al., 2011).

Les flavonoïdes possèdent de nombreuses vertus thérapeutiques. Ils sont particulièrement actifs dans le maintien d'une bonne circulation. Certains ont aussi des propriétés anti-inflammatoires et anti virales, d'autres ont des effets protecteurs sur le foie. Les relations structure- activités antioxydants des flavonoïdes et des composés phénoliques ont montré que l'activité antioxydant était déterminée par la position et le degré d'hydroxylation (Igor, 2002).

II.1.1.2..Les tanins :

Les tanins sont des composés phénoliques solubles dans l'eau, de poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Dalton, et ayant outre les propriétés habituelles des phénols La capacité de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et autres protéines (Aganga et Mosase, 2001; Peronny, 2005).

On distingue habituellement chez les végétaux supérieurs deux groupes basés sur des différences structurales : les tanins condensés (Figure 4 (A)) et les tanins hydrolysables (Figure 4(B)) (Fiorucci, 2006) .

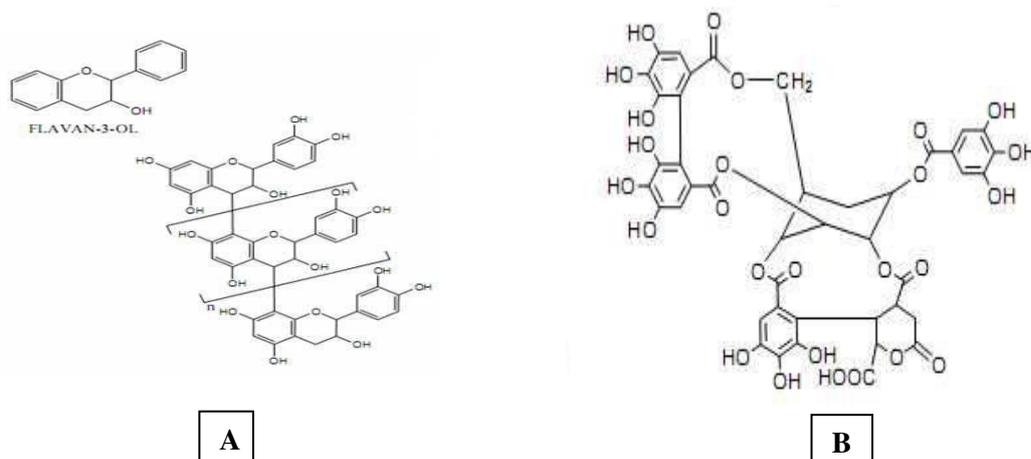


Figure 4 .structure chimique de tanin condensé et de tanin hydrolysable (Peronny, 2005).

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

II.1.1.3. Les coumarines :

Ceux sont des hétérocycles oxygénés (Figure 6). Près de 1000 composés coumariniques sont isolés à partir de plus de 800 espèces de plantes et dans les micro-organismes (Smyth et al., 2009).

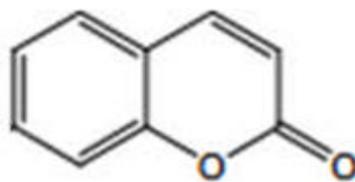


Figure 6. Structure d'hétérocycles oxygénés des coumarines (Crozier et al., 2006)

Du point de vue structural, on les classe en : les coumarines simples, les furanocoumarines, les pyranocoumarines et les bicoumarines (Smyth et al., 2009).

Ce sont des substances naturelles aromatique oxygénées, ce sont des anti vitamines K (Tschudi et al., 1997). Les coumarines ont des effets différents sur le développement des plantes suivant leur concentration et aussi suivant l'espèce (Hofmann, 2003).

Elles sont Considérées comme des phytoalexines. Ces derniers sont synthétisés au niveau des sites d'infection. Leur activité antimicrobienne est démontrée *in vitro* (Hofmann, 2003).

Ces composés sont connus pour leurs propriétés anticoagulantes, antivirales, immunostimulantes, tranquillisantes, vasodilatatrices, anticoagulantes (au niveau du coeur), hypotensives. Elles sont également bénéfiques en cas d'infections cutanées (Vivas de Gaulejac, 2003; Bruneton, 2009).

II.1.1.4. Les quinones :

Les quinones sont des composés oxygénés qui résultent de l'oxydation de dérivées aromatiques (Figure 8) (Bruneton, 2009). Elles sont ubiquitaires dans la nature, principalement dans le règne végétal et sont très réactives (Cowan, 1999).

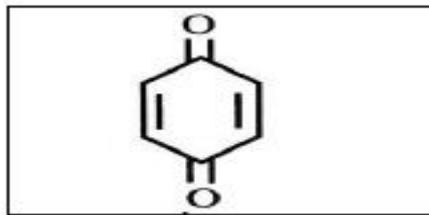


Figure 8: La formule générale des quinones (Stern *et al.*, 1996).

Ce sont des substances colorées et brillantes, en général rouges, jaunes ou orange et possédant deux fonctions cétones (Kansole; 2009). Elle est impliquée dans la coagulation du sang. Les quinones sont utilisées dans les colorants, dans les médicaments et dans les fongicides (Kansole; 2009).

❖ L'émordine :

Émodine appartient à des anthraquinones, un groupe de 170 composés naturels qui composent le plus grand groupe des quinones naturelles (Thomson, 1987 ; Thomson, 1997 ; Harborne et coll., 1999) (Figure 11).

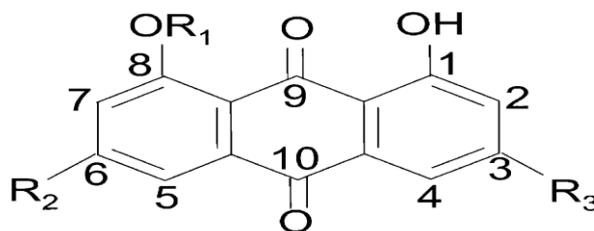


Figure 11: Structure chimique d'émordine (Evans, 1996; Harborne *et al.*, 1999).

Des études récentes indiquent qu'émordine présente de nombreuses autres activités biologiques, par exemple elle :

- Affecte le système immunitaire (Huang *et al.*, 1992; Boik, 1995).
- Exerce des activités biologiques anti-inflammatoire (Dwivedi *et al.*, 1988; Chang *et al.*, 1996), anti microorganisme (Anke *et al.*, 1980; Le Van, 1984; Wang et Chung, 1997; Singh *et al.*, 1992 ; Wang, 1993 ; Kawai *et al.*, 1984; Barnard *et al.*, 1992) et en particulier, une activité antibactérienne (Anke *et al.*, 1980 ; Kitanaka et Takido, 1986).
- Augmente la fréquence et la force des contractions du cœur probablement par la libération de catécholamines endogènes (Dwivedi *et al.*, 1988).
- Contribue à l'altération de l'ADN en inhibant l'activité catalytique de la topoisomérase II (Mueller *et al.*, 1999).

- Induit des contractions musculaires par la libération de Ca^{2+} interne par l'oxydation du récepteur à la ryanodine (**Cheng et Kang, 1998**).
- Possède un fort pouvoir inhibiteur contre certain champignons pathogènes (**Donnelly et Aurélien, 1986**).
- Possède une fonction photoprotecteurs (**Yen et al., 1998**).
- **Yuan et Gao (1997)** présente une activité antioxydant qui s'est avéré être un puissant inhibiteur de radicaux superoxydes.
- elle dépend probablement de piégeage des radicaux hydroxyles (**Yen et al., 2000**).

II.1.2. Les alcaloïdes :

Un alcaloïde est un composé organique naturel (le plus souvent d'origine végétale) hétérocyclique avec l'azote comme hétéroatome (**Bruneton, 1999; Zenk et Juenger, 2007**) (**Figure 5**).

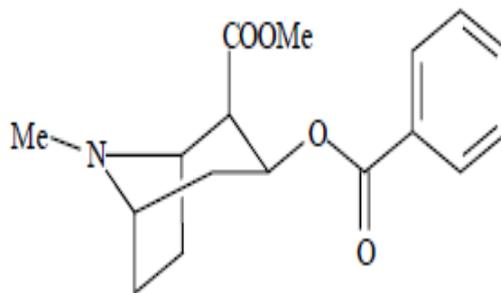


Figure 5. Structure chimique d'alcaloïde (ex : la morphine) (**Hopkins, 2003**).

Les plantes utilisent les alcaloïdes pour la plupart d'entre eux dans leurs système de défense contre les herbivores et les pathogènes car ces composés sont toxiques (**Caporale, 1995**).

Ils trouvent cependant plusieurs applications pharmaceutiques chez l'homme :

- Anti tumoraux;
- Antalgiques;
- Spasmolytiques;
- Vasodilatateurs;
- Emétiques;
- Antitussifs;
- Anti arythmiques;
- Antipaludiques ;

- Ils sont également des agents de traitement de la maladie d'Alzheimer. (McCalley, 2002; Silvestrini *et al.*; 2002, Stöckigt *et al.*; 2002).

II.1.3. Les terpénoïdes :

Appelés aussi terpènes, constituent une vaste groupe de métabolites secondaires, sont des hydrocarbures naturels, de structure cyclique ou de chaîne ouverte (HELLAL, 2011). Ils répondent dans la plupart de cas à la formule générale (C₅H₈) (Seenivasan., 2006) c'est-à-dire leur particularité structural la plus importante est la présence dans leur squelette d'unité isoprénique (Figure 10) à 5 atomes de carbone (Hernandez-ochoa, 2005).

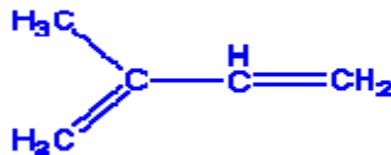


Figure 10 : structure chimique d'unité isoprène (Hernandez-ochoa, 2005).

Les terpènes sont les constituants majeurs de l'huile essentielle. Cependant si l'on peut connaître les effets de monoterpènes ou de sesquiterpènes isolés, il est difficile de savoir les effets synergiques des huiles des terpènes qui sont composés par des essences et de mélanges complexes et variées. (Paris, Moyse., 1965).

En effet, les terpènes possèdent d'importantes propriétés thérapeutiques, notamment en cancérologie, dans le traitement de l'inflammation ou encore des infections bactériennes (Christianson, 2008).

Les terpènes non cycliques sont en grande partie responsable de l'odeur suave des plantes et des fleurs et dont quelques-unes sont employées en parfumerie. Ces substances possèdent aussi des propriétés pharmacodynamiques très variées, en relation avec les différentes fonctions liées au squelette terpénique (Paris R.R, Moyse H., 1965).

❖ Huile volatil :

Les huiles essentielles sont des substances volatiles ce qui les différencie des huiles «fixe», elles sont d'un aspect liquide à température ambiante. Leur densité est en général inférieure à celles de l'eau, soluble dans les solvants organiques usuels. Elles sont liposolubles et entraînent à la vapeur d'eau, elles sont peu solubles dans l'eau, elles ne sont que très rarement colorées (Brunetton., 1999).

Les huiles essentielles sont constituées principalement de deux groupes de composés odorants distincts (Figure 7).selon la voie métabolique empruntée ou utilisée dont il y a :

1) Les composés terpéniques (**Ganou, 1993**)

2) Les dérivés du phénylpropane (**Cu, 1990**):

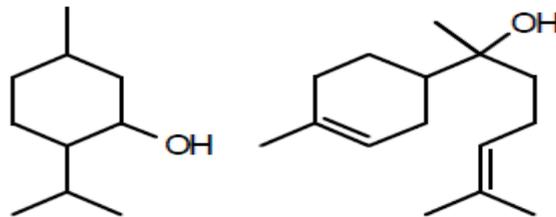


Figure 7. Exemple de composant monoterpénique et sesquiterpénique (**Buchala, 2007**)

La description de quelques principales propriétés thérapeutiques observées lors de l'utilisation des huiles essentielles sont des propriétés:

- antiseptiques, antibactériennes et antifongiques.
- antivirales.
- anti-inflammatoires.
- cicatrisantes.
- Circulatoires.
- digestives.
- antiparasitaires.
- de régulation métabolique.
- Antispasmodique.
- désodorisantes et purifiantes (**Lahlou M, 2004 ; Pibiri M.C, 2006**).

❖ Les stéroïdes :

Les stéroïdes sont qu'un groupe de cholestérol dérivés composés lipophiles, de faible poids moléculaire (**Marion et al., 2006 ; Pattenden et al ,2004**). Les stéroïdes ne sont pas des terpènes mais des composés de biodégradation de triterpènes. Ils constituent une classe de composés abondamment présents dans la nature (règne animal et végétal) (**Bruneton, 1993**).Chez les végétaux, les stéroïdes sont regroupées en deux grandes catégories : phytostérols (Figure 12(a)) et brassinostéroïdes (Figure 12(b)).

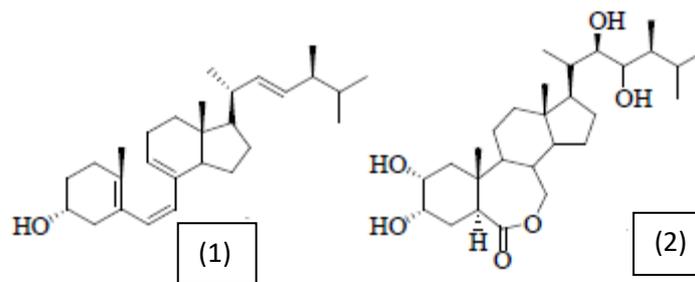


Figure 12 : Structure chimique des stéroïdes (Sultan et Raza, 2015)

Toutes les classes de stéroïdes et de leurs métabolites jouent un rôle important dans la physiologie et la biochimie des organismes vivants, dans lequel elles sont trouvées. Un certain nombre de stéroïdes synthétiques est largement utilisé comme : anti-hormones (Santa et al., 2015), les médicaments contraceptifs (Lopez et al., 2006), les agents cardiovasculaires des agents anticancéreux (Thao et al., 2015; Rattanasopa et al., 2015), ils sont utilisés sous forme de médicaments contre l'ostéoporose (Emmanuel et al., 2011), comme des antibiotiques, des anesthésiques, des anti-inflammatoires et des anti-asthmatiques (Aav et al 2005).

❖ Le phytostérol :

les phytostérols sont considérés comme cholestérols plante car ils sont composés de lipides d'origine végétale qui sont semblables dans la structure et les fonctions de cholestérol (Osthund RE, Annu Rev Nutr, 2002). Les phytostérols ont été classés en deux : les stérols (Figure 13 (1)) et les stanols végétaux (Figure 13(2)).

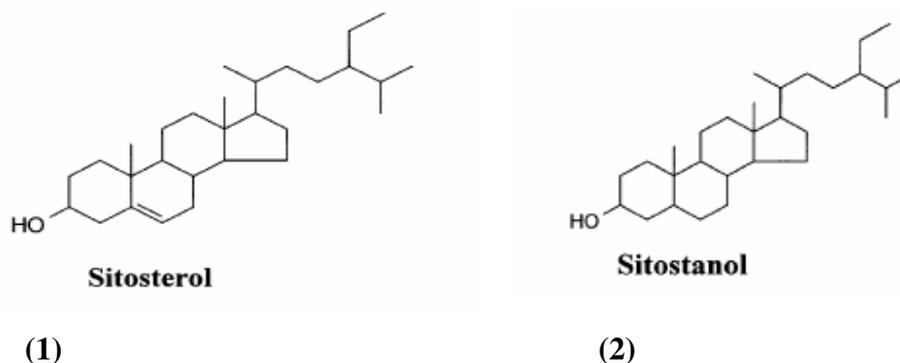


Figure 13 : structure chimique des phytostérol (Richard Cantrill, Ph.D, 2008).

Phytostérols, en tant que composants naturels d'huiles végétales, ont reçu une attention particulière en raison de leur capacité d'abaisser les niveaux de cholestérol sérique chez les humains (Hicks et Moreau, 2001 ; Jones, MacDougall, Ntanios, et Vanstone, 1997) ce qui entraîne une réduction significative du risque de maladie cardiaque. phytostérols sont

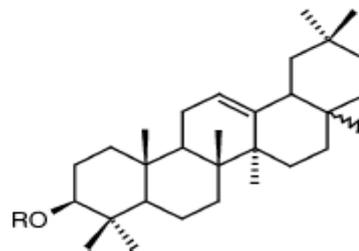
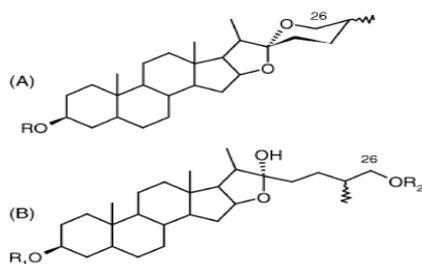
Egalement considérés comme ayant des propriétés anti-inflammatoires, anti-bactériennes, anti-ulcéreuse et antitumorales (**Beveridge, Li, et Drover, 2002**).

II.1.4. Les saponines :

Les saponines appelées aussi saponosides sont une classe spécifique de métabolites secondaires, produits naturels abondamment retrouvés dans le règne végétal (**Sparg et al., 2004**). Leur nom provient du latin « sapo » signifiant « savon » en raison de leurs propriétés à former des solutions moussantes en présence d'eau (**Vincken et al., 2007**).

Les saponines constituent un vaste groupe d'hétérosides très fréquents chez les végétaux, caractérisés par leurs propriétés tensioactives grâce à leur composition d'aglycones non polaires qui est lié à un ou à plusieurs sucres. Cette combinaison d'éléments structuraux polaires et non polaires explique leur comportement moussant en solution aqueuse (**Vincken et al., 2007 ; Bruneton, 2009**). Selon la nature de l'aglycone, les saponines sont classées en deux groupes :

- Saponines stéroïdes (ou stéroïdiques): (**Figure 9(1)**) (**Sparg et al., 2004**).
- Saponines triterpènes : (**Figure 9(2)**) (**Sparg et al., 2004**).



(1)

(2)

Figure 9 : Squelette de saponine (**Sparg et al., 2004**)

- Les saponines possèdent plusieurs propriétés biologiques et pharmacologiques (**Sparg et al., 2004**), ils sont résumés comme suit :
 - Propriétés hémolytiques (**Oda et al., 2000**);
 - Augmentation des réponses immunitaires (**Estrada et al., 2000**);
 - Activité antibactérienne et antimicrobienne (**Killeen et al., 1998**);
 - Activité antifongique et anti-levure (**Sindambiwe et al., 1998, Li et al., 1999**);
 - Activité antioxydante (**Huang and Kong, 2006**);
 - Cytotoxicité (**Itabashi et al., 1999**);

- Activité antitumorale (Lee et al., 1999);
- Activité hypocholestérolémiant (Wang and Ng, 1999);
- Activité molluscicide (Sindambiwe et al., 1998);
- Activité anti-inflammatoire (Just et al., 1998).
- Activité antiparasitaire (Delmas et al., 2006, Traore et al., 2000);
- Activité antivirale (Simões et al., 1999);
- Activité hépato-protectrice (Yoshikawa et al., 2003);
- Potentiel d'adjuvant (Estrada et al., 2000).

III. Base de donne sur l'activité biologique des plantes

III.1. Le stress oxydatif et le pouvoir antioxydant :

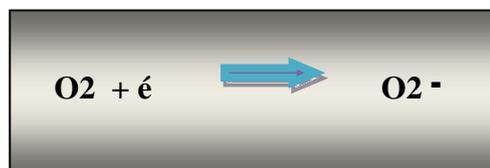
III.1.1. Stress oxydant :

Dans les milieux biologiques, les phénomènes de stress oxydant interviennent lorsqu'il existe un déséquilibre entre la production des espèces radicalaires et les capacités de défense antioxydant de l'organisme (Beaudeau et Durand, 2011).

En l'absence de mécanismes de défense et production excessive d'espèces réactives de l'oxygène, le stress oxydatif peut favoriser la survenue de pathologies (cancers, maladies cardiovasculaires, maladies dégénératives) ainsi qu'un vieillissement prématuré. (Belaïch et Boujraf, 2016).

➤ Origine du stress oxydant :

L'une des sources majeurs des ROS est la chaîne respiratoire mitochondriale Cette production résulte de l'addition d'un électron à l'oxygène moléculaire .Une telle réaction est catalysée par le cytochrome oxydase mitochondrial (Marfak , 2003).



Autres chaînes du transport d'électrons (ex : peroxydes et microsomes) contribuent également à la production du O_2^- dans la cellule aérobie. Les ROS interrompent le cycle redox normal et détournent le flux d'électrons vers 1O_2 (Sevanian et al., 1990).

D'autre part, les **ROS** peuvent se produire au cours des processus pathologiques ou la production du radical réponde à une stimulation et intervient dans le processus inflammatoire (NADPH oxydase et xanthine oxydase) (**Antwerpen, 2006**).

Lorsqu'un agent étranger a réussi à traverser les barrières naturelles de l'organisme, le système immunitaire se met en action afin d'assurer la défense de l'organisme. Dans un premier temps, se met en place de façon rapide et locale une réponse immédiate et non spécifique. Il s'agit de la phagocytose, c'est un processus cellulaire qui permet l'ingestion et l'élimination de particules étrangères, notamment des bactéries, des débris cellulaires ou des cellules mourantes. (**Inserm, 2016**) Celle-ci se fait par certains leucocytes et en particulier les macrophages.

Les polynucléaires neutrophiles circulants sont attirés par chimiotactisme sur le lieu d'agression. Les micro-organismes sont alors absorbés puis digérés par des enzymes digestives. Un autre mécanisme coopère : c'est une dégranulation indépendante de l'oxygène qui permet le déversement de substances bactéricides dans le phagosome. L'activation du système enzymatique de la NADPH-oxydase dans l'explosion oxydative entraîne la production de formes réactives de l'oxygène. Une fois phagocytée, les ERO synthétisées par la NADPH-oxydase vont détruire l'agent responsable puis les déchets sont expulsés.

Concernant les facteurs extracellulaires, l'organisme humain est soumis à l'agression de différents agents capables de donner naissance à des espèces réactives oxygénées, entre autres:

- **Les rayonnements UV (320-400 nm) :**

sont absorbés par des chromophores qui vont alors être excités pour fournir un oxygène singulet. Ils réduisent également l'O₂ en anion superoxyde (O₂^{•-}) qui sera rapidement transformé par l'enzyme superoxyde dismutase (**SOD**) en peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) qui sera réduit à son tour en radical hydroxyle (**OH**) par la réaction de Fenton. **OH** réagit alors avec les protéines, les lipides et l'ADN. (**Gambini et Granier; 2013**).

- **La pollution et l'ozone :**

L'ozone O₃ est un gaz très réactif formé par réaction photochimique dans l'air à partir d'oxydes d'azote (**NOx**) et de composés organiques volatiles. L'ozone interagit avec les composés du fluide périciliaire qui recouvre l'épithélium bronchique et favorise aussi la migration des polynucléaires neutrophiles à la surface de l'épithélium respiratoire par chimio-

attraction, cela favorise la production d'espèces réactives de l'oxygène et favorise le stress oxydant (Baeza et Marano, 2007).

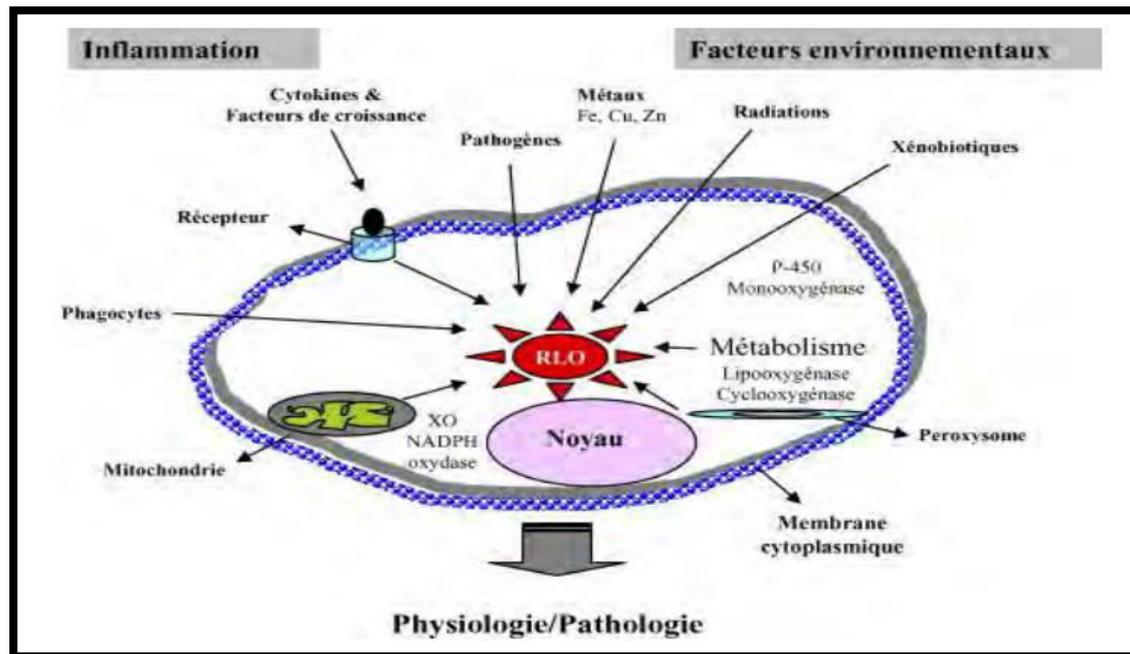


Figure 14: Origine extracellulaire et intracellulaire des radicaux libres dérivés de l'oxygène (Afonso et al., 2007).

➤ Les conséquences moléculaires du stress oxydatif

• Les protéines :

Les protéines les plus sensibles aux attaques radicalaires sont surtout celles qui comportent un groupement sulfhydryle (SH). C'est le cas de nombreuses enzymes cellulaires et protéines de transport qui vont ainsi être oxydées et inactivées. D'autres lésions irréversibles conduisent à la formation d'un intermédiaire radicalaire. Les protéines peuvent alors soit subir des réticulations par formation notamment de ponts bi-tyrosine détectables par leur fluorescence, soit subir des coupures en cas d'agression forte, soit des modifications de certains acides aminés en cas d'agressions modérées. Les protéines modifiées par oxydation perdent leurs propriétés biologiques (enzyme, anti-enzyme, récepteur...) et deviennent beaucoup plus sensibles à l'action des protéases et notamment du protéasome.

Les protéines oxydées deviennent aussi très hydrophobes, soit par suppression de groupements amines ionisables, soit par extériorisation de zones hydrophobes centrales. Elles vont alors former des amas anormaux dans ou autour des cellules. Ces amas, associés aux

lipides, forment les dépôts de lipofuschines caractéristiques des tissus des sujets âgés (**Favier et al,1995**).

- **Les lipides membranaires :**

Le radical hydroxyle est capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons des acides gras poly-insaturés (**AGPI**) : c'est la phase d'initiation. Le radical lipidique réagit avec une molécule d'oxygène pour former un radical peroxyde (**ROO•**), suffisamment réactif pour arracher un H⁺ à un AGPI voisin, propageant ainsi la réaction (**Atkin et al, 2005**)

Il en résulte une altération de la fluidité membranaire qui conduit inévitablement à la mort cellulaire. Les peroxydes générés seront neutralisés par la glutathion peroxydase ou continueront à s'oxyder et à se fragmenter en aldéhydes (malondialdéhyde,4-hydroxynonéal) dont les activités pro-athérogènes sont bien connues (**Nakajima et al,2006**)

- **Les lipoprotéines :**

L'attaque radicalaire des lipoprotéines circulantes aboutit à la formation de LDL oxydées, qui seront captées par des récepteurs spécifiques des macrophages. L'activité de ces récepteurs n'étant pas régulée par la concentration intracellulaire en cholestérol, les macrophages se transforment petit à petit en cellules spumeuses (rôle important dans les premières étapes de l'athérosclérose) (**Nakajima et al, 2006**) En outre, ces LDL oxydées sont immunogènes et les immuns complexes formés peuvent activer la voie classique du complément et générer la sécrétion de cytokines pro inflammatoires par les macrophages (**Saad et al., 2006**)

Les conséquences biologiques du stress oxydant seront extrêmement variables selon la dose et le type cellulaire. De légers stress augmenteront la prolifération cellulaire et l'expression de protéines d'adhésion, des stress moyens faciliteront l'apoptose, alors que de forts stress provoqueront une nécrose et des stress violents désorganiseront la membrane cellulaire, entraînant des lyses immédiates. De nombreuses autres anomalies biologiques sont induites par le stress oxydant : mutation, carcinogénèse, malformation des fœtus, dépôt de protéines anormales, fibrose, formation d'auto-anticorps, dépôt de lipides oxydés, immunosuppression (**Cadet et al., 2002**)

Cependant, plusieurs affections seront liées au stress oxydant dont les plus connus en leurs mécanismes d'actions sont :

- **Athérosclérose :**

La formation de plaques athéromateuses est partiellement liée à la peroxydation des lipoprotéines de basse densité (LDL). L'oxydation des LDL oxydés semblent transformer le **NO** qui agit comme relaxant vasculaire en peroxydinitrite (**ONOO-**) qui est un pro-oxydant et cytotoxique. La vitamine E empêche l'oxydation des LDL rend impossible l'entrée de ces derniers dans les macrophages et donc ainsi, la formation de cellules spumeuses est évitée (**Ricciarelli et al., 2000**).

- **Cancers :**

Le radical hydroxyle **HO•** semble être le principal responsable des dommages oxydatifs sur l'ADN. Certaines portions de l'ADN présentent des métaux de transition (**Fe, Cu**) et ne sont pas protégées par les histones donc ces zones peuvent être le siège de certaines réactions. (**Favier, 2006**).

- **Diabète de type 2 :**

Les radicaux libres sont indispensables pour certaines réactions biologiques, notamment la transduction du signal de l'insuline. Cependant, les radicaux libres peuvent être impliqués dans l'insulinorésistance. L'insulinorésistance est une diminution de l'action de l'insuline à deux niveaux : la capture cellulaire du glucose par le muscle et le tissu adipeux et l'inhibition de la production hépatique du glucose. (**Bonnard et al., 2008**).

- **Maladies neurodégénératives :**

Après avoir subi des stress oxydatifs, l'alpha-synucléine (protéine neuronale) semble être à l'origine de pathologies neurodégénératives. Durant ces pathologies, l'alpha-synucléine est retrouvée principalement sous forme nitrée, ce qui résulte de sa réaction avec des espèces radicalaires. (**Giasson, 2000**). De plus, l'augmentation des radicaux libres seraient impliqués plus ou moins directement dans le vieillissement cognitif. (**Barouki, 2006**).

III.1.2. Les espèces réactives oxygénées :

A l'exception de certains organismes anaérobies et aérotolérants, l'oxygène est nécessaire à tous les animaux, plantes et bactéries pour produire de l'énergie par l'intermédiaire de chaînes de transport d'électrons (communément appelée chaîne respiratoire) (**Steinberg et al., 1989**)

Au niveau des mitochondries (chez les cellules eucaryotes) et de la membrane plasmique (chez les cellules procaryotes), l'oxygène est normalement transformé en eau. Cette réaction de réduction implique quatre électrons, et est rendue grâce à un système complexe de protéines et d'enzymes dites cytochromes. La résultante est une énergie sous

forme d'adénosine triphosphate (ATP) nécessaire à la cellule pour qu'elle assure ses fonctions vitales mais également la détoxification de ses métabolites réduits (Gueye, 2007).

En effet, l'oxygène utilisé dans ces processus n'est pas totalement réduit car 2 à 5% de l'oxygène est transformé en espèces réactives oxygénées (ERO) ou reactive oxygen species (ROS) (Gueye, 2007) qui sont des formes variées de l'oxygène active. Ces formes incluent les radicaux libres comme l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) et le radical hydroxyle ($\cdot OH$), et les espèces non radicalaires qui sont des oxydants et/ou les formes facilement transformées en radicaux comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (Halliwell et Whiteman, 2004) (tableau 1)

Tableaux 1 : Principales espèces réactives oxygénées (Antwerpen, 2006).

Espèces réactives oxygénées (ROS)			
Radicalaires		Non radicalaires	
$\cdot OH$	Radical hydroxyle	H_2O_2	Peroxyde d'hydrogène
$RO \cdot$	Radical alkoxy	$ROOH$	Peroxyde organique
$ROO \cdot$	Radical peroxy	$HOCl$	Acide hypichloreux
$O_2^{\cdot-}$	Anion superoxyde	1O_2	Oxygène singulet
$NO \cdot$	Radical oxynitrique	$ONOO$	Peroxynitrite

Les radicaux libres oxygénés sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) qui possèdent un ou plusieurs électrons célibataires (électron non apparié) sur leur couche externe (Gueye, 2007). Cela leur confère une grande réactivité chimique (Dacosta, 2003).

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux primaires. Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires, se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule. Ces radicaux primaires dérivent de l'oxygène par des réductions à un électron tels l'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$ et le radical hydroxyle $\cdot OH$, ou de l'azote tel le monoxyde d'azote $NO \cdot$ (Yoshikawa., et al 2000).

D'autres espèces dérivées de l'oxygène dites espèces actives de l'oxygène, comme l'oxygène singulet 1O_2 , le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou le nitroperoxyde ($ONOOH$), ne

sont pas des radicaux libres, mais sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de radicaux. L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène (Dalton, 2002).

A titre d'exemple, l'espèce réactive primaire de l'oxygène est l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) qui résulte de la réduction univalente de l'oxygène moléculaire. Une grande partie de l'anion superoxyde est transformée en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) sous l'effet d'une enzyme, le superoxyde dismutase (Milane, 2004).

A son tour, le peroxyde d'hydrogène selon la réaction de Fenton peut se décomposer en présence de cuivre cuivreux ou fer ferreux pour donner une espèce hautement réactive et a durée de vie très courte, le radical hydroxyle ($\cdot OH$) (Nzengue, 2008).

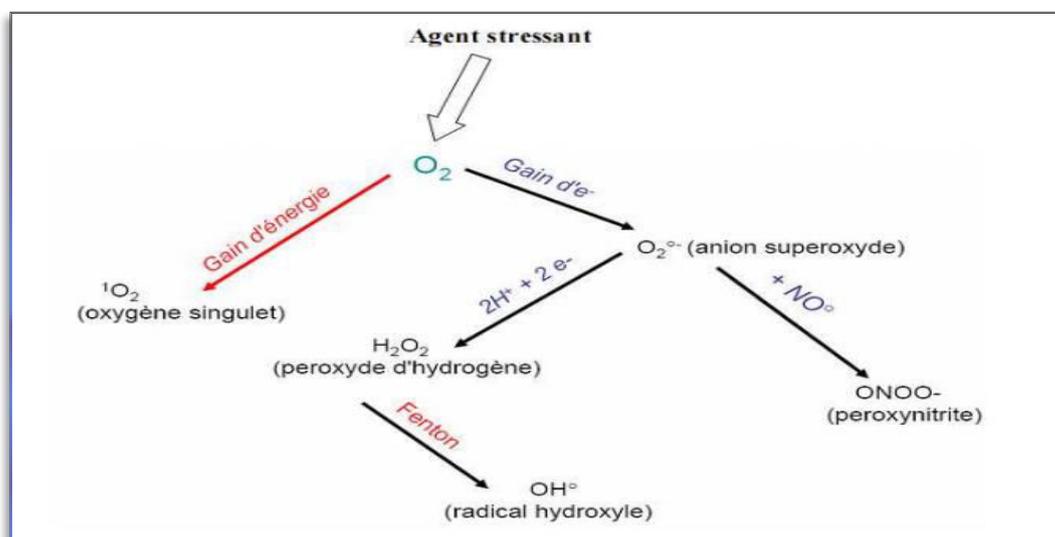


Figure 15. Les différentes espèces réactives oxygénées (Nzengue , 2008).

- **le rôle des espèces réactive de l'oxygène :**

Le rôle des EOA est très complexe car elles peuvent avoir un rôle physiologique ou un effet toxique en fonction de leur concentration. Dans des conditions normales, elles sont générées en faible quantité et jouent un rôle de messagers secondaires capables, notamment, de réguler le phénomène de l'apoptose ou d'activer des facteurs de transcription. Citons aussi le processus de fécondation.

Le monoxyde d'azote radicalaire ou (NO^{\cdot}) est un composé important; il est notamment synthétisé par les cellules endothéliales via l'action de NO synthétases sur la L-arginine. C'est une molécule labile très diffusible, dont les effets régulateurs s'exercent sur la plupart des

fonctions physiologiques de l'organisme (maintien du tonus vasculaire, neurotransmission, fonctionnement rénal,...). Toutefois, le NO \cdot peut former avec l'anion superoxyde le peroxynitrite (HOONO), un oxydant puissant et diffusible, capable d'endommager de nombreuses molécules organiques Formés en trop grande quantité (**Hare et Nitroso ; 2004**).

En outre, Les radicaux libres participent dans plusieurs phénomènes biologiques résumés comme suit :

- le fonctionnement de certaines enzymes.
- la transduction de signaux cellulaires.
- la défense immunitaire contre les agents pathogènes.
- la destruction par apoptose des cellules tumorales.
- la différenciation cellulaire.
- la régulation de la dilatation capillaire.
- le fonctionnement de certains neurones et notamment ceux de la mémoire.
- la fécondation de l'ovule.
- la régulation des gènes, phénomène appelé contrôle redox des gènes.

La phagocytose des bactéries et parasites par les macrophages ou les polynucléaires s'accompagne d'une production d'espèces réactives de l'oxygène si brutale et intense. (**Hare et Nitroso, 2004**).

➤ **Les radicaux libres :**

Un radical libre est un atome ou une molécule qui porte sur sa couche électronique périphérique un ou plusieurs électrons non appariés, c'est-à-dire non couplés à un électron de spin opposé. Cela entraîne une très haute réactivité chimique avec les éléments voisins (**Leverve, 2009; Rochette, 2008**)

Les espèces radicalaires sont électrophiles et vont chercher à arracher un électron à une molécule voisine afin d'apparier leur électron célibataire. Cet état est donc seulement transitoire, de l'ordre de la microseconde (**Gambini & Granier, 2013**).

Le radical va soit accepter un autre électron, soit transférer le ou les électrons libres sur une autre molécule (lipide, protéine, acide nucléique) afin de rapparier son ou ses électrons célibataires et d'obtenir ainsi un état plus stable. (**Fontaine et al., 2002**)

Il s'agit donc d'un intermédiaire de réaction. Cela va entraîner une réaction en chaîne qui va produire de nouveaux radicaux libres car la molécule agressée par le radical libre devient à son tour radicalaire.

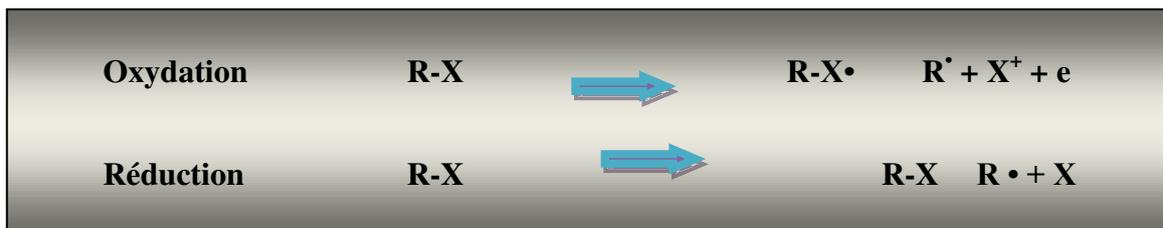
- **Les espèces réactives de l'azote :**

Les espèces réactives sont principalement issues de l'oxygène mais certaines proviennent également de l'azote. Le radical **NO** est produit par différents types cellulaires, phagocytes et cellules endothéliales vasculaires. L'enzyme NO-synthase est un catalyseur dans la réaction qui produit du monoxyde d'azote ou oxyde nitrique (**NO•**) à partir d'arginine et d'oxygène. (Speckmann *et al.*, 2016).

- ❖ **Formation des radicaux libres :**

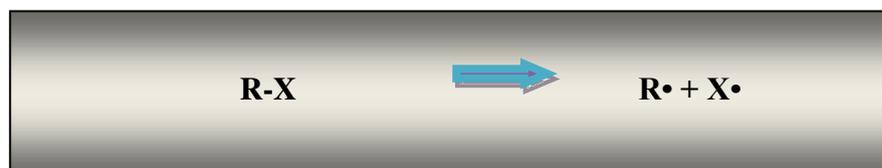
- **Réaction d'oxydoréduction :**

Les radicaux libres les plus courants possèdent un seul électron célibataire. Ils peuvent être formés depuis une espèce radicalaire qui subit une réaction d'oxydoréduction. Il y a alors perte ou gain d'électron.



- le signe « • » représente l'électron célibataire.

La production de radicaux libres peut se faire également par rupture homolytique d'une liaison covalente, ce qui entraîne la formation de deux entités ayant chacune un électron célibataire.

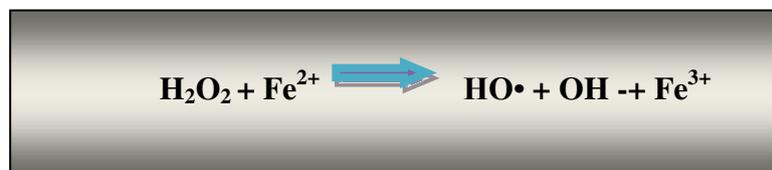


➤ **Les formes non radicalaires ou précurseurs de radicaux :**

• **Le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) :**

Le peroxyde d'hydrogène est obtenu à partir de l'anion superoxyde par dismutation spontanée ou par l'enzyme superoxyde dismutase. (Deby et Goutier; 1990). Le H₂O₂ est métabolisé par la glutathion peroxydase et la catalase. Le H₂O₂ n'est pas un radical au sens propre mais permet la formation du radical hydroxyle en présence de métaux de transition (réactions de Fenton et d'Haber-Weiss).

Dans la chaîne respiratoire mitochondriale, le peroxyde d'hydrogène peut réagir directement avec des ions métalliques (fer ou cuivre) par la réaction de Fenton. Il s'agit d'une réaction d'oxydation avancée aboutissant à la formation du radical hydroxyle **OH•** qui est le deuxième oxydant le plus puissant présent dans la nature après le Fluor. Au cours de la réaction de Fenton, le peroxyde d'hydrogène (ou eau oxygénée) oxyde le fer ferreux (ou ion fer II) selon la réaction d'oxydo-réduction :



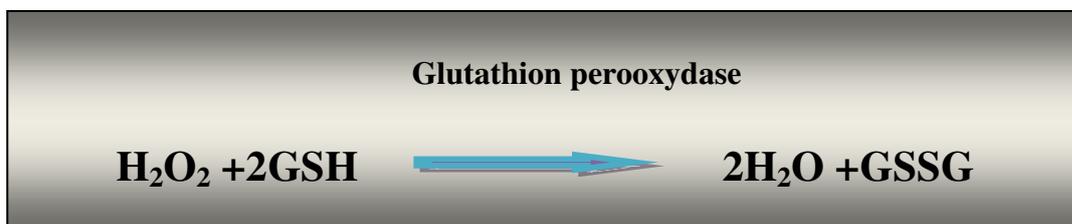
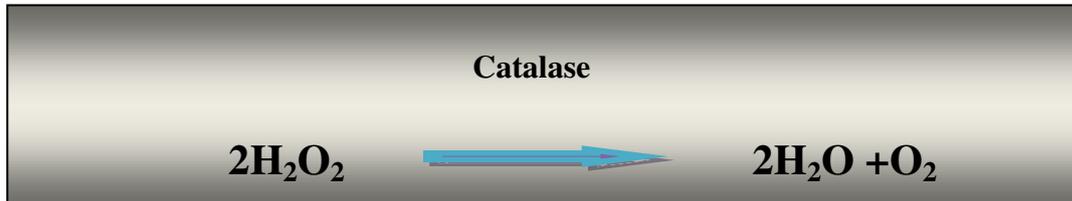
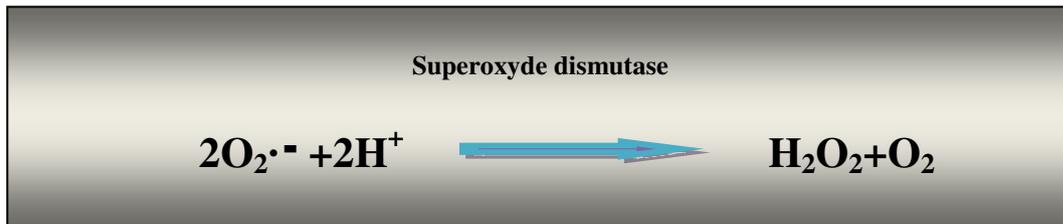
Le mélange fer ferreux et peroxyde d'hydrogène est appelé réactif de Fenton et constitue un très bon oxydant pour de nombreux composés organiques et joue un rôle majeur dans la peroxydation lipidique et dans la destruction du matériel génétique.

III.1.3. Les antioxydants :

Les antioxydants sont l'ensemble de molécules susceptibles d'inhiber directement la production, de limiter la propagation ou de détruire les espèces réactives de l'oxygène. Ils peuvent agir en réduisant ou en dismutant ces espèces, en les piégeant pour former des composés stables, en séquestrant le fer libre, ou en générant du glutathion (Favier, 2003 ; Dan, 2008). De nombreux antioxydants interviennent, il s'agit principalement des systèmes enzymatiques et non enzymatiques (Souley Amadou, 2004; Yoo et al., 2008).

➤ **Les antioxydants enzymatiques :**

Les antioxydants enzymatiques (le superoxyde dismutase, la catalase, la glutathion peroxydase et la glutathion reductase) sont considérés comme la première ligne de défense de notre organisme contre les ROS (Lehucher et Michel et al., 2001).



➤ **Les antioxydants non enzymatiques :**

Ce groupe des antioxydants renferme les protéines de séquestration des métaux, qui agissent en diminuant la disponibilité d'agents pro oxydants, comme $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ ou $\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^+$ (ex : la transferrine, la ferritine, l'albumine, caeruloplasmine...etc.). D'autre part, il y a des molécules à faible poids moléculaire qui agissent soit comme cofacteurs des enzymes citées soit comme antioxydant propre (Antwerpen, 2006).

Les antioxydants à action directe sont capables de donner des électrons à l'oxygène radicalaire afin qu'ils puissent le piéger, l'empêcher ainsi d'attaquer les structures biologiques. Ils peuvent agir comme agents réducteurs capables de passer leurs électrons aux ROS et les éliminer (Kohen et Nyska ; 2002). Ces molécules proviennent soit de sources endogènes (glutathion, mélatonine, acide urique, la mélanine...), soit de sources exogènes apportés par l'alimentation (ex : les caroténoïdes, la vitamine E, la vitamine C (Curtay et Robin ; 2000), les composés phénoliques (Yoo et al., 2008) et surtout les acides phénoliques, les flavonoides, les tanins, les coumarine (Siddhuraju, 2007).

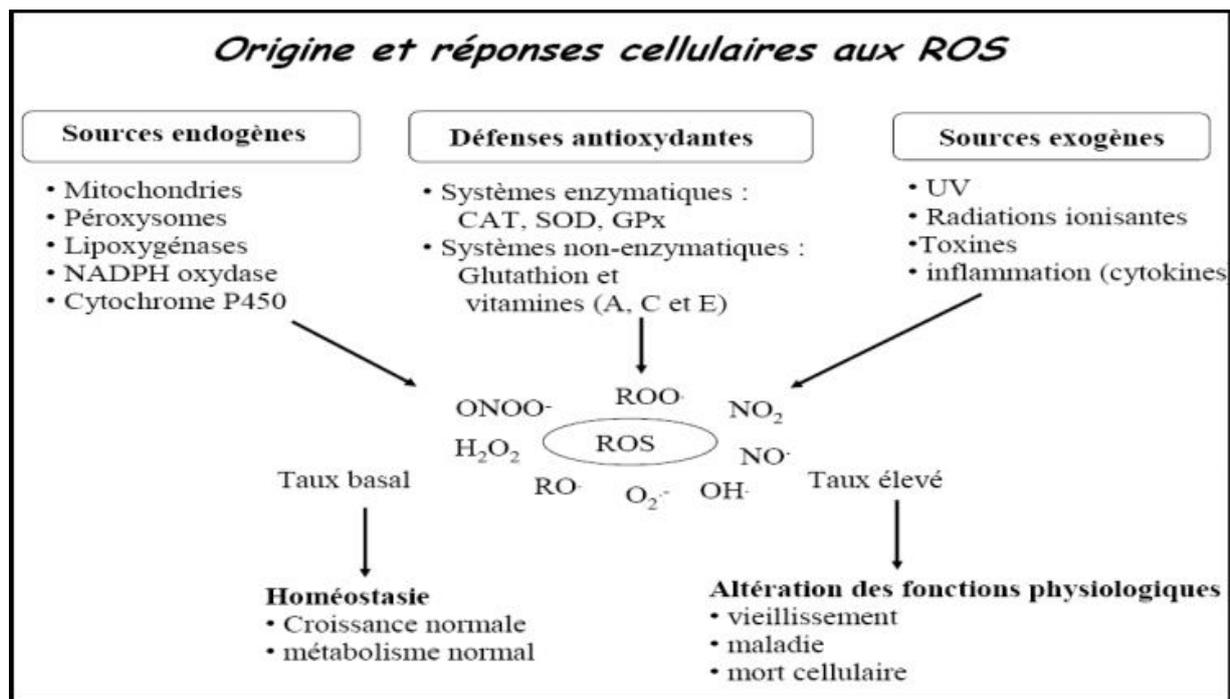


Figure 16 .Origine et réponse cellulaire aux ROS (Petropoulos, 2003)

III.1.4. Les méthodes d'évaluation de l'activité antioxydant :

Selon **Huang et al. (2005)**, les méthodes d'évaluation de l'activité antioxydant *in vitro* peuvent être divisées en deux grandes catégories suivant les réactions mises en jeu : soit les tests basés sur le transfert d'un atome d'hydrogène (HAT, Hydrogen Atom transfer), soit les tests basés sur le transfert d'un simple électron (SET, Single Electron transfer).

Les techniques du premier groupe sont employées pour évaluer la peroxydation lipidique en utilisant un substrat lipidique ou lipoprotéique. La quantification de cette propriété est exprimée par la mesure du degré d'inhibition de l'oxydation (**Sánchez-Moreno et al., 1998**). Alors, les méthodes du deuxième groupe sont celles qui interviennent dans la mesure de l'habilité du piégeage des radicaux libres. Elles comportent le piégeage du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), de l'acide hypochloreux (HOCl), de l'hydroxyle (OH[•]), des anions superoxyde (O₂^{•-}), du peroxyde (ROO[•]) et de l'oxyde nitrique (NO[•]) (**Sánchez-Moreno, 2002**). Dont on cite :

- **La méthode de piégeage du peroxyde d'hydrogène :**

Une des méthodes les plus communes pour évaluer la capacité du piégeage du peroxyde d'hydrogène est basée sur l'absorption de cette molécule dans le domaine de l'UV. Comme la concentration du H₂O₂ est diminuée par les composés piègeurs, la valeur de l'absorbance de ce dernier à 230 nm est également diminuée (**Magalhães et al., 2008**).

- **Test de blanchiment du β -carotène :**

Dans cette analyse la capacité antioxydant est déterminée par la mesure de l'inhibition des composés organiques volatils et les hydro-péroxydes conjugués résultant de l'oxydation de l'acide linoléique (Tepe *et al.*, 2006).

- **La capacité antioxydant totale par la méthode de phosphomolybdate :**

Cette méthode est basée sur la réduction de molybdène Mo (VI) en molybdène Mo (V) en présence des composés antioxydants et donc la formation d'un complexe vert de phosphate /Mo (V) à un pH acide (Sahu et Laloo, 2011).

- **Méthode de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) :**

Cette technique basée sur la réaction chimique de réduction du Fe^{3+} présent dans le complexe $K_3Fe(CN)_6$ en Fe^{2+} (Oyaizu, 1986).

- **Test de piégeage du radical libre DPPH• :**

Le DPPH• est un radical libre stable de couleur violacée qui absorbe à 517 nm. En présence de composés antiradicalaires, le radical DPPH• est réduit et change de couleur en virant au jaune. Les absorbances mesurées servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH•, qui est proportionnel au pouvoir antiradicalaire de l'échantillon. Cette méthode est fondée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical DPPH• (Parejo *et al.*, 2003).

- **Méthode de FTC (Ferric thiocyanate method) :**

Cette méthode est basée sur l'oxydation de l'acide linoléique qui génère la formation des peroxydes qui s'oxyde Fe^{2+} en Fe^{3+} . Ces derniers ions forment un complexe avec le thiocyanate mesuré à une absorbance maximale de 500 nm (Gülçin *et al.*, 2007).

- **Piégeage du ABTS (2,2'-azynobis- [3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid]) :**

Dans la méthode TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity), l'activité antioxydante totale d'une molécule est déduite de sa capacité à inhiber le radical $ABTS^{\bullet+}$, obtenu à partir de l'ABTS. L'obtention du radical cation résulte du contact de l'ABTS avec une enzyme de peroxydation (peroxydase metmyoglobine) (Miller et Rice-Evans, 1997).

Cette technique est basée sur la neutralisation d'un radical - cation résultant de l'oxydation monoélectronique du chromophore synthétique 2,2'- azino-bis (3 – éthylBenzothiazoline -6-sulfonique acide). Cette réaction est suivie par spectrophotométrie par la variation de spectre d'absorption (Jiri *et al.*, 2010).

III.1.5. Mécanisme de l'activité antioxydant de la plante :

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

➤ Mécanismes d'action des composés phénoliques :

Les flavonoïdes sont reconnus pour leurs nombreuses activités biologiques, Ces activités sont attribuées en partie aux propriétés antioxydants de ces composés naturels. qui réagissent avec la plupart des espèces réactives oxygénées (Fuhrman et al., 1995).

• Transfert d'hydrogène :

La figure illustre la réaction de réduction des agents oxydants par les Composés phénoliques En première étape, le phénol (1) cède un atome d'hydrogène et se transforme en radical libre (2). Etant donné le radical formé est instable, il se transforme rapidement après isomérisation en un dimère (3). La combinaison de 2 dimères soit par une liaison C-C ou par liaison C-O donne les produits tétrahydroxybiphényles (4), quinone (5) respectivement (Ribéreau-Gayon, 1968).

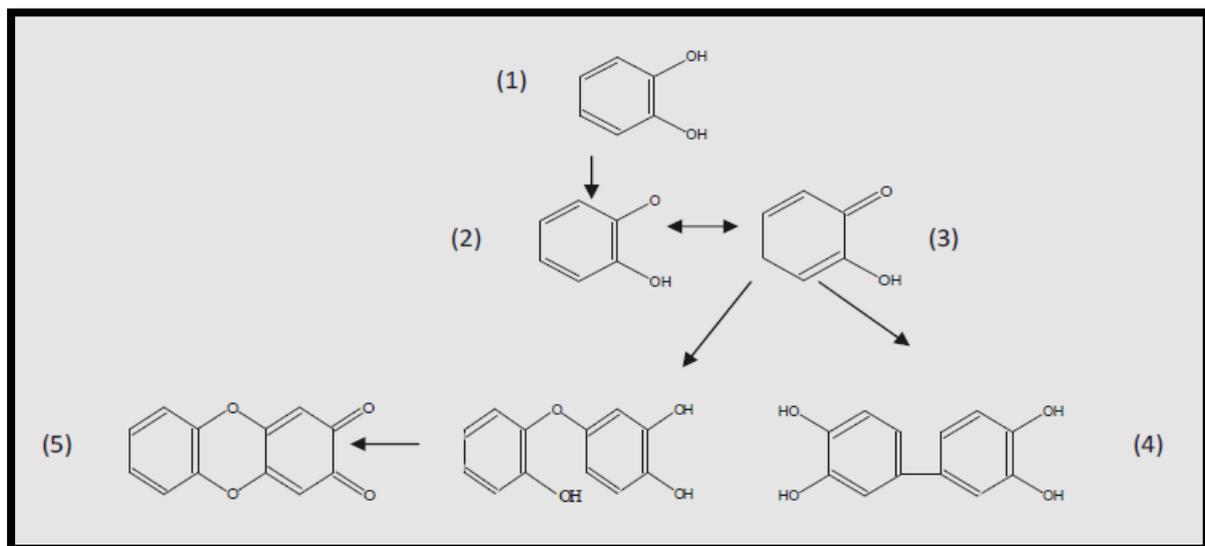


Figure17 : Réaction des composés phénoliques avec les agents oxydants (Ribéreau- Gayon, 1968).

• Effet scavenger :

L'effet scavenger des composés phénoliques consiste à piéger et à neutraliser Les formes toxiques de l'oxygène en les réduisant par transfert direct d'un électron Sur leur dernière couche électronique (Ghedira, 2005). La capacité scavenger des radicaux libres est

attribuée en premier lieu à la réactivité élevée des groupements substitués OH des flavonoïdes selon la figure suivante :

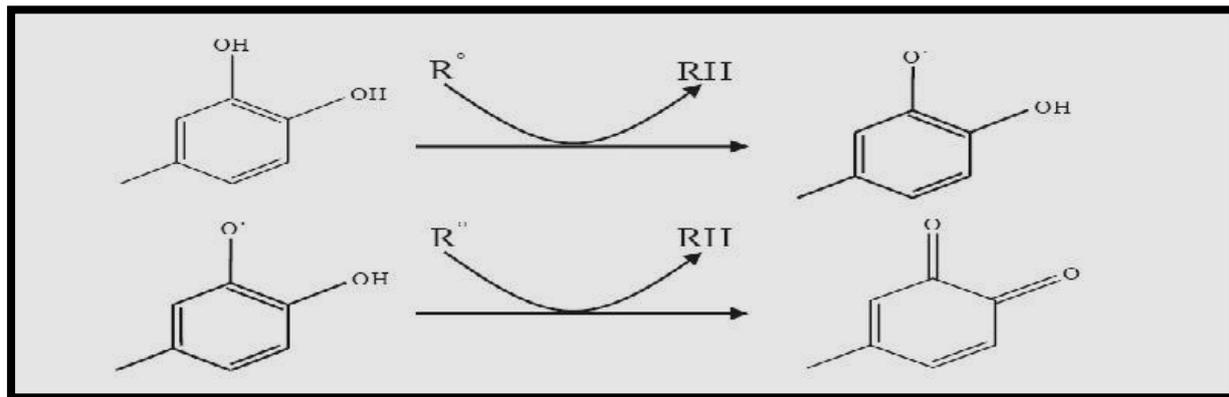


Figure18: Mécanisme de l'activité scavenger des flavonoïdes via la fonction catéchol (Pietta, 2000).

- **Chélation des métaux :**

De nombreux composés phénoliques contiennent certains groupes structuraux susceptibles de former des complexes avec les ions métalliques comme le Fe^{2+} (Ribéreau-Gayon, 1968).

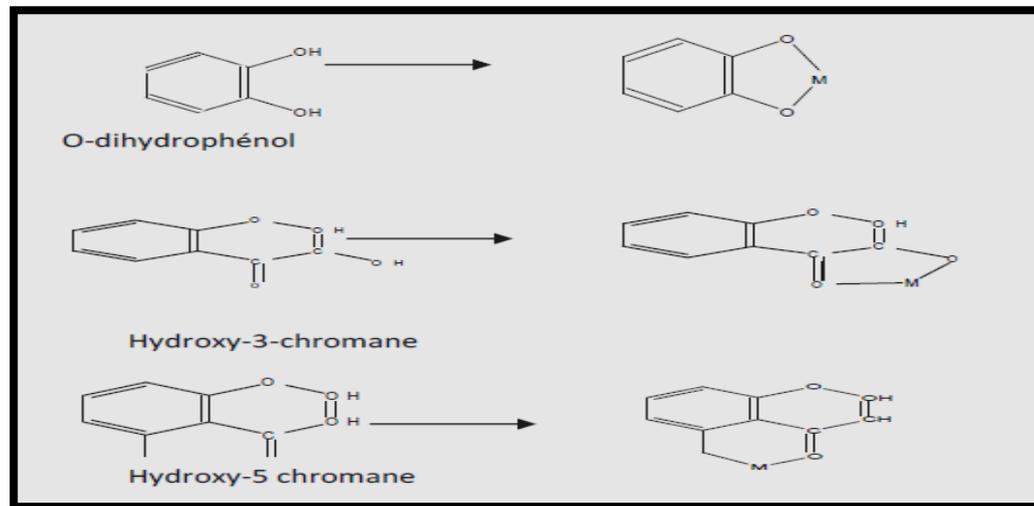


Figure 19 : Chélation des ions métalliques par des acides phénoliques (Ribéreau et Gayon, 1968).

Les flavonoïdes inhibent la formation des radicaux libres par la chélation des métaux de transition, Fe^{3+} , Fe^{2+} et Cu^+ (figure 10) qui amplifient la formation des ROS (Prior et al., 2003).

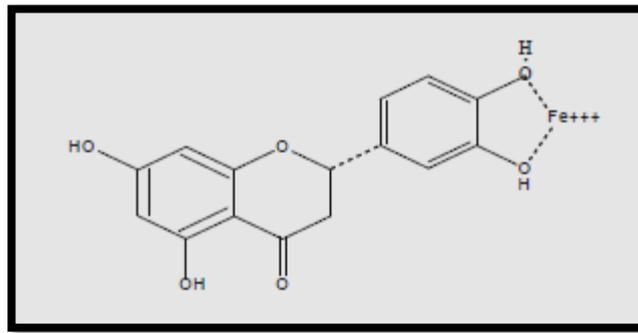


Figure 20: Exemple de chélation de fer par les flavonoïdes (Marfak, 2003).

- **Pouvoir antioxydant des tanins :**

Les tanins ont la particularité d'inhiber la peroxydation des lipides en agissant comme donneur de proton et accepteur de radicaux libres, stoppant ainsi le mécanisme d'auto oxydation (Perret, 2001).

Les tanins hydrolysables et condensés sont 15 à 30 fois plus efficaces que les phénols simples (Peronny, 2005). Plusieurs propriétés structurales des tanins augmentent leur activité antioxydants:

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

III.2. Les infections et l'activité antimicrobienne :

III.2.1. Les infections bactériennes :

Une infection bactérienne est un ensemble de troubles qui résultent de la pénétration d'une bactérie pathogène dans un organisme. Elle peut être :

- locale, lorsqu'elle se manifeste uniquement au niveau où les germes ont pénétré.
- générale, lorsqu'un germe franchit les barrières opposées par l'organisme à son entrée (peau, muqueuses) ou au niveau des ganglions, il pénètre dans le sang et se dissémine par celui-ci dans tout l'organisme.
- focale : c'est l'infection en foyer dans les tissus ou organes où les germes sont apportés par la circulation sanguine. (Pocidalò et al., 1989 ; Marc et al., 2001).

III.2.2. Mécanisme d'action des antimicrobiens :

Il est sans doute très complexe. peut impliquer de multiples modes d'actions tels que ; l'inhibition des enzymes extracellulaires microbiennes, la séquestration de substrat nécessaire à la croissance microbienne ou la chélation de métaux tels que le fer, l'inhibition

du métabolisme microbien (Milane, 2004) la dégradation de la paroi cellulaire, la perturbation de la membrane cytoplasmique (ce qui cause une fuite des composants cellulaires), l'influence sur la synthèse de l'ADN et de l'ARN (Zhang et al., 2009), des protéines et des lipides (Gangoué, 2007).

Ces mécanismes ne sont pas des cibles séparées, certains peuvent être la conséquence d'un autre mécanisme. Le mode d'action des agents antimicrobiens dépend également du type de micro-organismes et de l'arrangement de la membrane externe.

➤ **Mécanisme d'action antibactérienne des huiles essentielles :**

Les huiles essentielles sont des produits de composition généralement complexe, renfermant des métabolites secondaires représentés par des principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de leur extraction. Les huiles essentielles (HE) sont biosynthétisées par les végétaux supérieurs en réponse à des conditions de stress et surtout pour combattre les agents infectieux ou parasitaires

Durant les dernières années, un intérêt accru s'est focalisé sur les substances biologiquement actives isolées des plantes, notamment en vue de l'élimination des micro-organismes pathogènes en raison de la résistance de ces derniers vis-à-vis des antibiotiques ou bien parce qu'il s'agit de composés écologiquement sains.

Cette activité est due à la présence de constituants actifs représentés principalement par des monoterpènes, des sesquiterpènes, des alcools et autres hydrocarbures et phénols ; Sites d'action des huiles essentielles La structure chimique des constituants des HE conditionne leur mode précis d'action antibactérienne. Compte tenu du nombre de différents groupes de composés chimiques présents dans les HE, il est probable que leur activité antibactérienne ne soit pas attribuée à un mécanisme spécifique mais qu'il y ait plusieurs cibles dans la cellule.

❖ Les principaux mécanismes et sites d'action des différents constituants des huiles essentielles sont :

- l'altération de la paroi cellulaire.
- la dégradation de la membrane cytoplasmique.
- l'altération des protéines membranaires.
- la fuite du contenu cellulaire.
- la coagulation du cytoplasme.
- l'épuisement de la force de mouvement des protons.

Une caractéristique importante des huiles essentielles et de leurs constituants est leur caractère hydrophobe, ce qui leur permet de s'insérer dans les couches lipidiques de la membrane cellulaire bactérienne et des mitochondries, perturbant les structures et les rendant plus perméables. La fuite des ions et autres constituants de la cellule peut alors se produire.

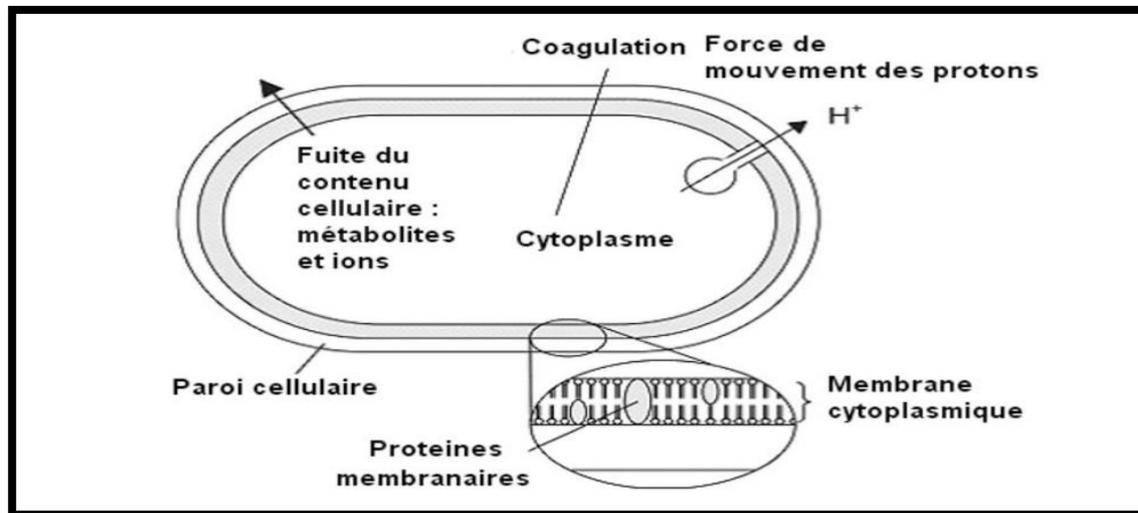


Figure 21: Principales localisations des sites d'action des constituants des huiles essentielles (Goetz et Ghedira ; 2012).

➤ Mécanisme d'action des extraits des plantes :

Il a été rapporté que les extraits de plantes et beaucoup d'autres préparations phytochimiques riches en flavonoïdes ont possédé une activité antimicrobienne (Tim et al., 2005). Grâce à leur structure caractérisée par la présence de groupe phénolique, et d'autres fonctions chimiques, les flavonoïdes sont considérés de très bons agents antimicrobiens (Harborne et Williams., 2000).

❖ Activité antimicrobienne des polyphénols :

Les polyphénols sont reconnus par leur toxicité vis à vis des microorganismes (Cowan, 1999). Une contamination des végétaux par des microorganismes pathogènes entraîne une forte augmentation des teneurs en composés phénoliques, ce qui correspond à la mise en place de mécanisme de défense de la plante (Macheix et al., 2005). Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrases) ou d'autres interactions pour inactiver les adhésines microbiennes, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire (Cowan, 1999).

- **Le Carvacrol :**

Il pénètre dans la bicouche lipidique et se positionne entre les chaînes d'acides gras et augmente la fluidité membranaire, aboutissant à une modification de la perméabilité. Il forme des canaux dans la membrane et permettant la fuite des ions.

- **Activité antimicrobienne des flavonoïdes :**

Les flavonoïdes sont parmi les plus communs des produits naturels qui présentent un large spectre d'activité antibactérienne (Xiao et al., 2014). Des études scientifiques menées au cours des dernières années a généré un intérêt croissant dans leur rôle potentiellement important dans le maintien de la santé humaine. Un nombre considérable de plantes médicinales contiennent des flavonoïdes, qui ont été rapportés par de nombreux auteurs comme ayant des propriétés antibactériennes (Malesev et al., 2007)

De nombreux groupes de flavonoïdes ont été isolé et identifié comme possédant une activité antifongique, antivirale et antibactérienne (Cushnie et Lamb, 2005) . Ozçelik et ses collaborateurs (2008) ont rapporté que les flavonoïdes ont montré in vitro une activité antimicrobienne contre les souches de *Klebsiella pneumoniae*.

- **Les quinones :**

Leurs principales cibles sont les adhésines, les polypeptides et les enzymes membranaires. Les thymoquinones isolés de l'extrait de *Nigella sativa* est responsable des propriétés anti-dermatophytiques de cette plante vis-à-vis de *Trichophyton sp*, *Epidermophyton sp*.et *Microsporum sp* (Malesev et al., 2007).

- **Activité antimicrobienne des tanins :**

Les tanins ont été isolés a partir des feuilles de *Solanum trilobatum L* et testés contre des a bactéries Gram positif et a Gram négatif. Les résultats montrent que les Tanins ont présenté une activité antibactérienne contre tous les micro-organismes testés (*S. aureus* et *E. coli*) (Doss et al., 2009). D'autre études ont également révélé que l'acide tannique est actif contre les bactéries, les moisissures et les levures (Colak et al., 2010).

- **Activité antimicrobienne des acides phénoliques :**

L'activité antimicrobienne des acides phénoliques a été rapportée dans plusieurs recherches. Les acides phénolique comme l'acide P – coumarique agissent en tant que des facteurs empêchant la croissance de *Staphylococcus aureus* (Stojković et al., 2013) . L'activité antimicrobienne est lié a la présences des groupements hydroxyles dans leur structure (Cowan, 1999). Une étude in vitro faite par (Khatkar et al.,2014) a également

démontré que les dérivés synthétiques de l'acide P-coumarique possèdent également une activité antibactérienne contre *Bacillus subtilis* et *Escherichia coli*.

partie experimental

partie experimental

Matériel et méthodes

Objectif de travail

Notre travail s'inscrit dans le cadre de la recherche de nouvelles substances bioactives à partir de la plante *Zizyphus lotus* collectée localement dans la wilaya de Saida pour ce faire, nous avons consacré nos efforts sur cinq volets principaux à savoir :

- ❖ Etude ethnobotanique de la plante dans certaines régions de Saida lieux de la majorité des prises d'échantillons et des requêtes réalisées.
- ❖ L'extraction méthanolique de la plante par une macération à froid des deux parties de la plante : feuilles et fruits.
- ❖ Réalisation d'une série de tests phytochimiques des échantillons collectés.
- ❖ Mise en évidence du pouvoir antioxydant de la plante par le biais de trois méthodes différentes :
 1. Le piégeage des radicaux libres en utilisant le DPPH.
 2. La réduction du fer par l'extrait de notre matière végétale.
 3. L'évaluation de la capacité antioxydante totale de nos extraits.
- ❖ La recherche de l'activité antibactérienne et antifongique de nos extraits méthanoliques sur la croissance de quelques souches de références.

I. Matériel :

I.1. Matériel végétal :

Il est constitué des feuilles et des fruits du *Zizyphus lotus* (identifié par Mr.KEFIFA.A)(Figure23), récoltés et préparés pour leur extraction au laboratoire de Microbiologie au niveau de l'université de Saida.

Les fruits ont été d'abord séchés à l'ombre, à l'abri de la lumière et à température ambiante. Après séchage les fruits ont été dénoyautés, ensuite la partie comestible a été broyée pour obtenir une poudre fine, qui a servi pour la préparation de l'extrait méthanolique.

Les feuilles ont été séchées aux mêmes conditions de travail que les fruits. Après séchage, les feuilles ont été broyées pour obtenir une poudre fine, qui a servi pour la préparation de l'extrait méthanolique.



Figure 23 : Aspect des fruits (à gauche) et des feuilles (à droite) collectés de *Zizyphus lotus*.

I.2. Matériel biologique :

Les souches utilisées sont des souches de référence de l'American type culture collection (ATCC), gracieusement fournies par le laboratoire Antibiotique, antifongique : physico-chimie, synthèse et activité biologique, Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire. Faculté des Sciences. Université *Tlemcen*.

Bactéries utilisées :

- Celles à Gram négatif :
 - *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ;
 - *Escherichia coli* ATCC 25922 ;
 - *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 ;
 - *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603.
- Celles à Gram positif

- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923,
- *Listeria monocytogenes* ATCC 19115.
 - Celle à Gram positif sporulée
- *Bacillus cereus* ATCC 11778 ;

➤ **les champignons :**

- **Levures:**
 - *Candida albicans* 444 .
 - *Candida albicans* ATCC 10231.
 - *Candida albicans* ATCC 26790.
- **Moisissures :**
 - LMB2030A ; - LMB20308 ; - LMB203011.

I.3. Milieux de culture :

Nous avons utilisé plusieurs sortes de milieux pour réaliser l'ensemble des tests programmés à l'égard de l'étude de l'effet antimicrobien et antioxydant de l'extrait méthanolique de *Zizyphus lotus*. Il s'agit de : la gélose nutritive(GN), Mueller Hinton (MH); potatoes dextrose agar (PDA), le bouillon nutritif (BN) et la gélose Sabouraud.

II. Méthodes :

II.1. Etude ethnobotanique :

Le but de notre étude ethnobotanique était d'identifier les différentes utilisations médicinales traditionnelles de la plante médicinale «*Zizyphus lotus*», et de documenter la connaissance médicinale traditionnelle liée à l'utilisation de cette plante à 03 différentes localités de la Wilaya de SAIDA. Cette requête était réalisée en collaboration avec des personnes civiles et des herboristes (hommes de métier) qui sont les détenteurs du savoir dans ce domaine.

Les résultats donneront un aperçu général sur le pouvoir curatif de cette plante dans ces localités. L'étude ethnobotanique a été effectuée dans la période d'octobre 2018 à novembre de la même année.

➤ **Choix des localités de la requête**

Les sites de la requête sont en nombre de 04 localités appartenant au Wilaya de Saïda. Il s'agit de la commune de Saïda, Rebahia, Hssasna et Maamora (Figure 22).

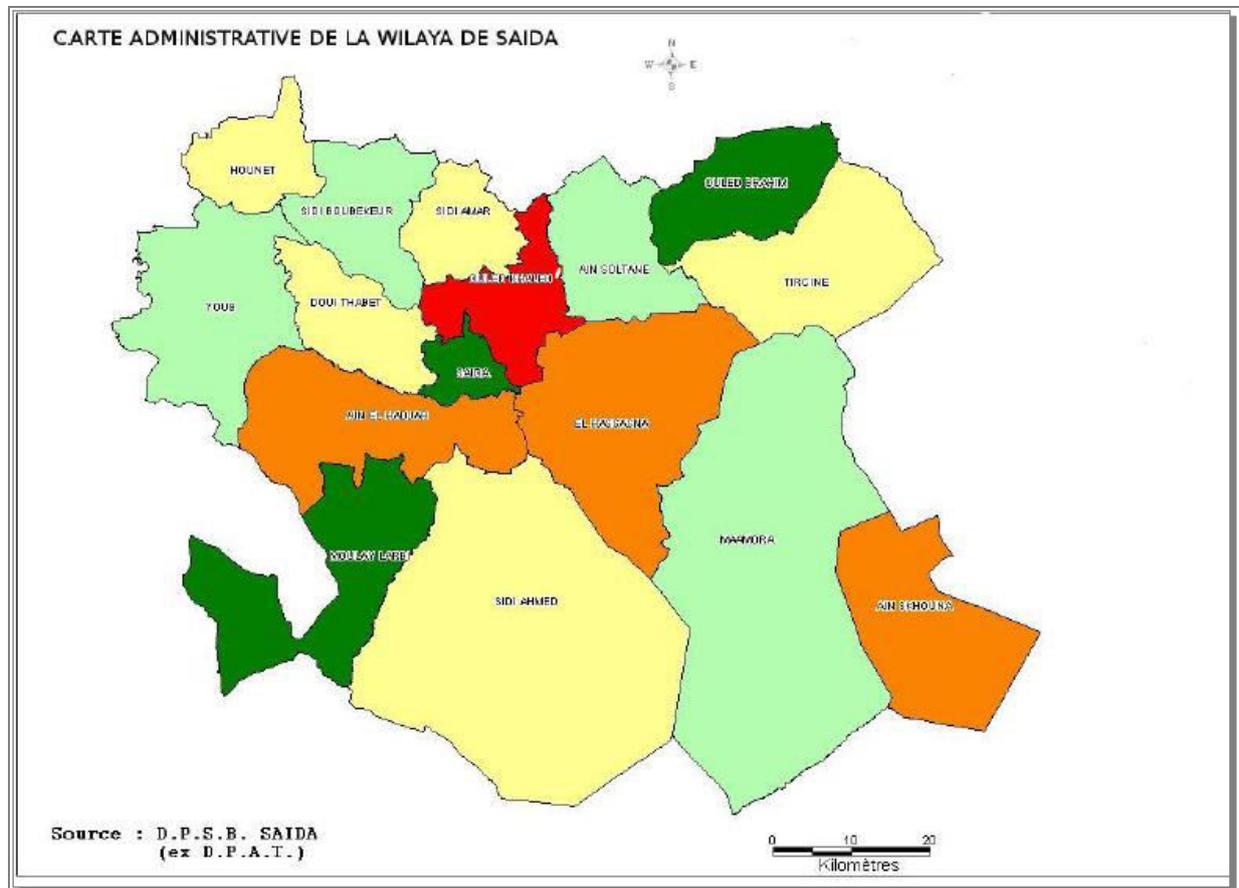


Figure22: Carte situation de la commune de Saïda

Concernant saïda et Hssasna ont été également le site de nos échantillons de l'espèce végétale *Zizyphus lotus* (parties fruits et feuilles).

Ces localités ont été choisies pour leur facilité d'accès et du fait que les guérisseurs traditionnels sont organisés et réputés pour avoir une bonne connaissance sur l'utilisation de cette plante médicinale.

➤ **Méthodologie :**

La méthodologie utilisée est celle du département de médecine traditionnelle (DMT). Nous nous sommes entretenus avec 40 personnes de ces différentes localités. Ces personnes sont représentées par des hommes et des femmes avec un âge entre 20 ans et supérieure 50 ans.

Les informations sur les utilisations de cette plantes ont été collectées à l'aide d'un questionnaire à travers des conversations avec les personnes en utilisant la langue nationale. Les personnes ayant accepté de partager avec nous leur savoir, ils ont été invités à donner leur connaissance au sujet des maladies pour lesquelles ils utilisent cette plante, y compris : l'usage de la plante, les maladies traitées, la partie utilisée, le mode de préparation, la méthode de préparation et le mode d'utilisation.

Le questionnaire utilisé pour cette circonstance se trouve en (**annexe 1**). Les utilisations principales de ces plantes ont été déterminées par leurs fréquences d'utilisations car dans une étude ethnopharmacologique, la fréquence par laquelle une plante donnée est mentionnée dans le traitement d'une affection peut être un bon indicateur de son efficacité.

II.2. Préparation de l'extraction :

1) Pour les fruits, une mixture de 100g de fruit de la plante (en poudre fine) et de 1600 ml de méthanol (à 80%), a été réalisée avec une agitation rigoureuse pendant 48 heures à la température ambiante (25°C). Le mélange a été filtrée à l'aide de papier filtre type Whatman (N° 1). Le filtrat est concentré à sec à l'aide d'un rotavapeur pour pouvoir calculer et le rendement et la concentration initiale de notre extrait (**Okala et al., 2014**).

2) Pour les feuilles, une prise d'essai de 37, 5 g de poudre de feuilles a été mise en macération dans 500 ml de méthanol (80%). Après filtration, l'extrait à été évaporé à sec sous pression réduite à 45°C au rotavapeur (**Bougandoura et Bendimerad, 2012**).

II.3. Les Analyses phytochimiques :

II.3.1. Analyse phytochimique des feuilles :

Le criblage phytochimique a été réalisé afin de détecter les éléments phytochimiques de chaque partie utilisée. Selon plusieurs références, les classes chimiques recherchées dans ces parties (feuilles et fruits) sont déterminés suivant les protocoles expérimentales ci dessous : (**Abdallah et al., 2016 ; Yusuf, et al., 2014**).

- **Alcaloïdes** : 50 mg extrait de plante a été mixé bien avec 2 ml de solution de HCl à 1 %, suivie par un léger chauffage jusqu'à la cuisson à la vapeur. Après cela, 6 gouttes de réactif de Wagner ont été ajoutés dans 1 ml d'extrait acidifié.
- **Flavonoïdes** : 1 ml d'extrait de plante (50 mg/ml) a été ajouté dans 1 ml de solution d'acétate de plomb de 10%.
- **Phénols** : 1 ml d'extrait de plante (50 mg/ml) a été ajouté dans 0,5 ml de solution éthanolique chlorure ferrique 10%.

- **Phlobatannins** : 2 ml d'extrait de plante (50 mg/ml) a été ajouté dans 2 ml de solution de HCl 1%, puis en la faisant bouillir le mélange.
- **Stéroïdes** : 1 ml d'extrait de plante (50 mg/ml) était mélangé à 1 ml de chloroforme, suivi par l'addition de 2 ml d'anhydride acétique, puis 1 à 2 gouttes de solution de H₂SO₄ concentrée.
- **Tanins** : quelques gouttes d'acétate de plomb 1% ont été ajoutés dans 2 ml de plant extract (50 mg/ml).
- **Terpénoïdes** : 5 ml d'extrait de plante (50 mg/ml) a été mélangé à 1 ml de chloroforme, puis 1,5 ml de solution de H₂SO₄ concentrée a été ajouté.
- **L'huile volatile** : même quantité (100 µl) d'hydroxyde de sodium dilué et de l'acide chlorhydrique dilué ont été ajoutés dans 2 ml d'extrait de plante (50 mg/ml) et bien mélangé.
- **Saponines** : 5 ml d'eau distillée purifiée a été prise dans un tube à essai, suivi par l'ajout de 500 µL d'extrait de plante (50 mg/ml) et puis tout mélange a été bien agité.
- **Coumarins** : 1 ml d'extrait de plante (50 mg/ml) a été mélangé avec 1,5 ml de solution de NaOH à 10%.
- **Glycosides cardiaques** : 50 mg extrait de plante a été dissoute dans 2 ml de chloroforme, suivi par l'addition de quelques gouttes de solution de H₂SO₄ sur le côté du tube à essai pour former une couche.
- **Emodine** : 1 ml d'ammoniaque et 1,5 ml des solutions de benzène ont été ajoutés dans 1 ml d'extrait de plante (50 mg/ml).
- **Phytostérols** : 50 mg d'extrait de plante a été traitée avec 2 ml de chloroforme, suivie par filtration à travers un grade de papier filtre Whatman N°1. Quelques gouttes de solution d'anhydride acétique ont été ajoutées dans le filtrat, suivi en faisant bouillir le filtrat. Après refroidissement du filtrat, quelques gouttes de H₂SO₄ concentré ont été ajoutées lentement sur le côté du tube à essai.
- **Quinones** : 1 ml d'acide sulfurique concentré a été prise dans un tube à essai, suivi par l'addition de 1 ml d'extrait de plante (50 mg/ml).
- **Résines** : quelques gouttes de solution d'anhydride acétique ont été ajoutées dans 1 ml d'extrait de plante (50 mg/ml), suivi par l'addition de 1 ml acide sulfurique concentré.
- **Acide carboxylique** : 2 ml de solution de bicarbonate de sodium a été ajouté dans 1 ml d'extrait de plante (50 mg/ml).

II.3.2. Analyse phytochimique des fruits :

- **Test d'alcaloïdes :**

a) **Test de l'iode :** mélanger 3 ml de solution de test et ajouter quelques gouttes de solution d'iode diluée. Couleur bleue apparaît ; Il disparaît sur le point d'ébullition et réapparaît sur le refroidissement (**Khandewal K.R., 2008**).

b) **Test de Wagner :** 2-3 ml extrait avec quelques gouttes de réactif de Wagner. La formation du précipité brune rougeâtre indique la présence d'alcaloïdes (**Kokate C. K. et al., 2001**).

- **Test de flavonoïdes :**

a) **Tests de Pew :** À 2-3 ml extrait, poudre de zinc est ajoutés dans un tube à essai, suivie d'une addition goutte à goutte de 1 'HCl. Formation de rouge pourpre ou couleur cerise indique la présence de flavonoïdes (**Peach K., Tracey MV. 1956**).

b) **Tests de NaOH :** À 2-3 ml d'extrait, quelques gouttes de solution d'hydroxyde de sodium ont été ajoutés dans un tube à essai. Formation d'une couleur jaune intense qui devenue incolore sur l'ajout de quelques gouttes de HCl dilué a révélé la présence de flavonoïdes (**Khandewal K.R., 2008**).

- **Test de Glycosides :**

a) **Test de glycosides :** petite quantité d'extrait, ajouter 1 ml d'eau et bien mélanger. Ensuite une solution aqueuse de **NaOH** a été ajoutée. Couleur jaune apparaît qui indique la présence d'hétérosides. (**Treare GE, Evans WC. 1985**).

b) **Test de H₂SO₄ concentré :** 5 ml extrait, ajouter 2ml d'acide acétique glacial, une goutte 5 % FeCl₃ et conc. H₂SO₄. L'apparition de l'anneau brun indique la présence d'hétérosides (**Khandewal K.R., 2008**).

- **Test de phénols :**

a) **Test de l'acide ellagique :** La solution d'essai a été traitée avec quelques gouttes d'acide acétique glacial à 5% (p/v) et 5% (p/v) de solution de NaNO₂. La solution est boueuse ou niger précipité brune s'est produite dans l'extrait, a indiqué la présence de phénols solution (**Gibbs, 1974**).

b) **Tests de phénol** : À 0,5 ml de solution FeCl₃ (p/v) a été ajoutée à 2 ml de solution d'essai, formation d'une couleur intense a révélé la présence de phénols (Gibbs, 1974).

- **Test de saponines :**

a) **Test de mousse** : l'extrait est dilué avec 20 ml d'eau distillée et il a été secoué dans une éprouvette graduée pendant 15 minutes. Une couche de 1 cm. de mousse a révélé la présence de saponines (Kokate C. K. et al., 2001).

- **Test de stérols :**

a) **Test de Salkowski** : à 2 ml d'extrait, ajouter 2ml de chloroforme et 2 ml de H₂SO₄ concentré et a été bien secoué. Couche de chloroforme apparaît rouge et la couche d'acide a montré jaune verdâtre fluorescence indique la présence de stérols (Kokate C. K. et al., 2001).

- **Test de tanins :**

a) **Test de l'acétate de plomb** : à 5 ml d'extrait, ajouter quelques gouttes de solution d'acétate de plomb de 10%. Formation d'un précipité jaune ou rouge indique la présence de tanins. (Treare GE, Evans WC. 1985).

II.4. Activité anti oxydant :

II.4.1. Activité antiradicalaire 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) :

Le principe de ce test est basé sur la réaction de réduction de radical libre DPPH ayant une couleur violette par les antioxydants présents dans les extraits, suivi par une décoloration en un composé jaune qui représente la capacité des extraits à piéger ces radicaux libres indépendamment de toutes activités enzymatiques (Hidayat et al., 2017; Bourkhiss et al., 2010). L'effet antioxydant des extraits de *Z. lotus* vis-à-vis du radical DPPH est évalué selon la méthode décrite par Lillian et son équipe. (2008).

1500µl de la solution de DPPH (60 mM) sont mélangées avec 100µl d'extraits. Après 30 min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance est lue à 517 nm.

- L'activité antiradicalaire est estimée selon l'équation ci-dessous :

$$\% \text{ d'inhibition} = [(Abs \text{ c} - Abs \text{ e}) / Abs \text{ c}] \times 100.$$

Avec :

Abs c: Absorbance du contrôle

Abs e: Absorbance de l'échantillon testé

II. 4.2. Pouvoir réducteur

L'analyse de pouvoir réducteur est basée sur la réduction de fer ferrique Fe^{3+} du ferricyanure de potassium en fer ferreux (Fe^{2+}), en présence d'antioxydant réducteur. La forme réduite donne une couleur verte qui est proportionnelle au pouvoir réducteur de l'extrait (Dar *et al.*, 2017).

Ce test est estimé par la méthode d'Oyaizu, (1986) avec quelques modifications. 500 μ l d'extrait est additionnées à 1,25 ml de tampon phosphate (0,2M, PH 6,6) et 1,25 ml de ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ à 1%. L'ensemble est incubé au bain-marie à 50°C pendant 20 min, ensuite 1,25 ml d'acide trichloracétique (TCA) à 10% sont ajoutés au mélange pour stopper la réaction. 1,25 ml de ce mélange sont récupérés et combinés à 1,25 ml d'eau distillé, ensuite cettedernier mixture est additionnée à 500 μ l d'une solution aqueuse de Chlorure ferrique ($FeCl_3$) à 0,1%. Enfin, le mélange est laisser réagir 10 min à l'obscurité.

- La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel est faite à 700 nm.

II.4.3. Activité antioxydante totale (TAC) :

La capacité antioxydante totale (TAC) des extraits est évaluée par la méthode de phosphomolybdène de Prieto *et al* (1999). Cette technique est basée sur la réduction de molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate MoO_4^{2-} à molybdène Mo (V) MoO^{2+} en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate/ Mo(V) à pH acide.

Un volume de 0.3 ml de chaque extrait méthanolique est mélangé avec 3 ml de solution du réactif (0.6 M) acide sulfurique, 28 mM phosphate de sodium et 4 mM molybdate d'ammonium). Les tubes sont vissés et incubés à 95°C pendant 90 min. Après refroidissement, l'absorbance des solutions est mesurée à 695 nm contre le blanc qui contient 3 ml de la solution du réactif et 0.3 ml du méthanol et il est incubé dans les mêmes conditions que l'échantillon. La capacité antioxydant totale est exprimée en milligramme équivalents d'acide galique par gramme de la matière sèche (mg EAG/ g MS).

II.5. Activité antimicrobienne:

II.5.1. Activité antibactérienne :

La sensibilité des souches (aux différents extraits de la plante) a été réalisée par la technique de diffusion en milieu gélosé. Les milieux de Mueller Hinton ont été ensemencés par étalement à l'écouvillon par les souches utilisées (réactivées et ajustées à 10^8 germes/ml).

A l'aide d'un emporte-pièce stérile, des puits d'environ 6 mm de diamètre ont été effectués dans la gélose. Chaque puits a reçu 80 µl de la substance à tester aux différentes concentrations. Après 30 minutes de diffusion à la température du laboratoire, les boîtes de Pétri ont été incubées à 37 °C pendant 18 à 24 h. Le résultat est traduit par la présence ou non d'une zone d'inhibition autour du puits (Bssaibis *et al.*, 2009).

II.5.2. Activité antifongique :

Des quantités d'extraits variables (20-50-100-150 et 200 µl) sont additionnées à 20 ml de milieu PDA. Les mélanges sont coulés dans des boîtes de Pétri vides. ensuite, on inocule avec des disques (de 6 mm de diamètre) de mycélium de la souche fongique (culture jeune de 7 jours) qu'on dépose au centre des boîtes puis on les incubes à 25°C± 2 pendant également 7 jours.

Les résultats sont exprimés par la mesure des diamètres des zones de croissance de l'hyphe par rapport au contrôle selon l'application de la formule suivante : (Soliman et Badeaa, 2002).

$$T = \frac{Db - Da}{Db} \times 100$$

Avec :

T : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne en %.

Da : Le diamètre de la colonie mycélienne dans l'expérience (mm).

Db : Le diamètre de témoin (mm).

❖ Concernant le test de l'activité antifongique des levures, nous avons travaillé par la même technique des puits que celle décrite dans la partie activité antibactérienne.

Résultat et discussion

I. Enquête ethnobotanique :

La requête ethnobotanique conduit par des fiches a été transférée dans une base de données, traitée et analysée pour obtenir des données standardisées portant sur les aspects suivants :

- ❖ Fréquence d'utilisation de la plante dans la région de SAIDA (néanmoins dans les sites choisis).
- ❖ Parties utilisées de la plante
- ❖ Modes de préparation les plus communément mentionnés

I .1.Le profil de la fréquence d'utilisation de *Zizyphus lotus* :

Ce profil a été principalement basé sur :

➤ Classes d'âge :

Le traitement des données nous a permis d'obtenir le graphique de la figure suivante :

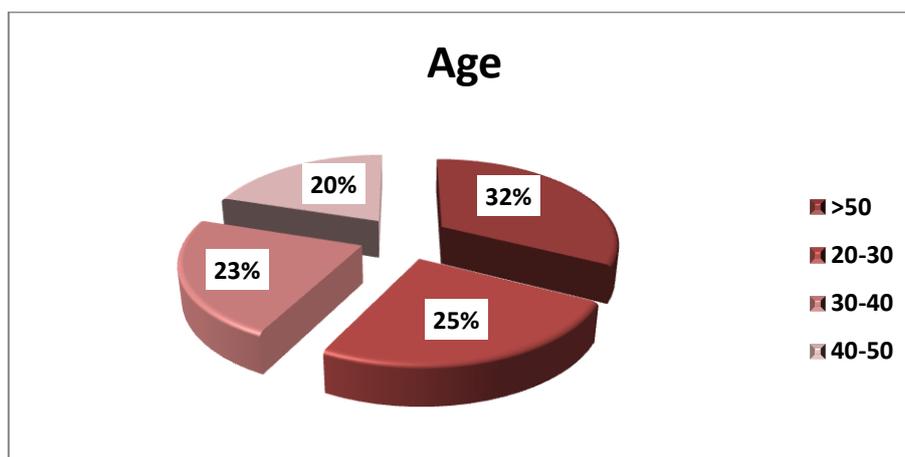


Figure 24 : Répartition de la fréquence d'utilisation de la plante selon l'âge

Selon les résultats obtenus, nous avons constaté que les personnes ayant un âge supérieur à 50 ans constituent la tranche d'âge la plus importante parmi les personnes de la région (32 %). Au cours des rencontres avec les personnes de cette tranche d'âge réponses déclarés (sur les fiches), on a constaté qu'ils utilisent cette plante pour diverses maladies.

L'âge entre 40 et 50 ans représente une fréquence basse (20 %). Les résultats obtenus montrent que les personnes de l'âge supérieur à 50 ans ont plus de connaissances sur la plante *Zizyphus lotus* par rapport aux a cette tranche d'âge et également les autres classes d'âges.

➤ **Classe sexe :**

Selon le premier constat de cette étude les hommes et les femmes prennent initiative de répondre aux questions cependant

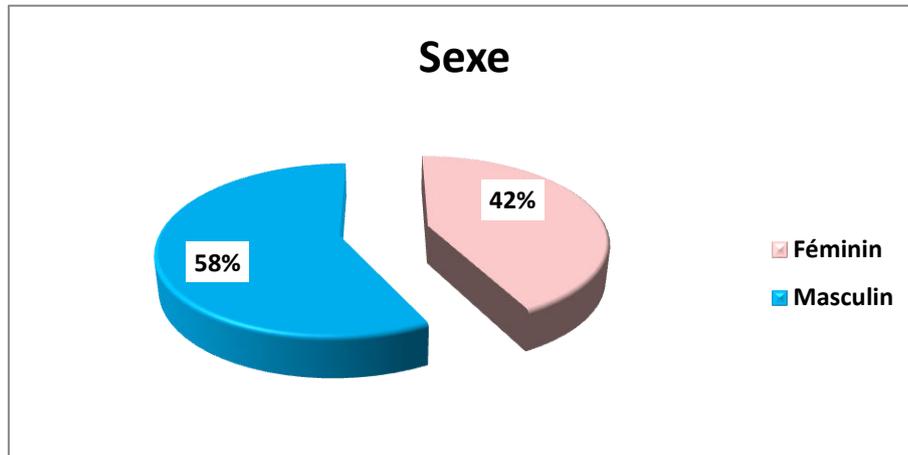


Figure 25: Répartition de la fréquence d'utilisation de la plante selon le sexe.

Dans les régions indiquées préalablement, les Hommes et les femmes sont concernés par la médecine traditionnelle. Cependant, les hommes ont plus de connaissances (58 %) sur la générale et sur la plante de genre *Zizyphus* en particulier par rapport aux femmes. cela est dû aux traditions culturelles des hommes sont dues à leur cotoiyanse des herboristes de la région.

➤ **Classe de niveau académique:**

La grande majorité des personnes analphabètes ont un pourcentage de (37%) (Figure 26). Ce pourcentage relativement élevé est en corrélation directe avec l'âge de la population locale et traditionnel utilisatrice de la plante. Néanmoins, les personnes ont un niveau académique moyen avec un pourcentage de (32%) ce qui est non négligeable.

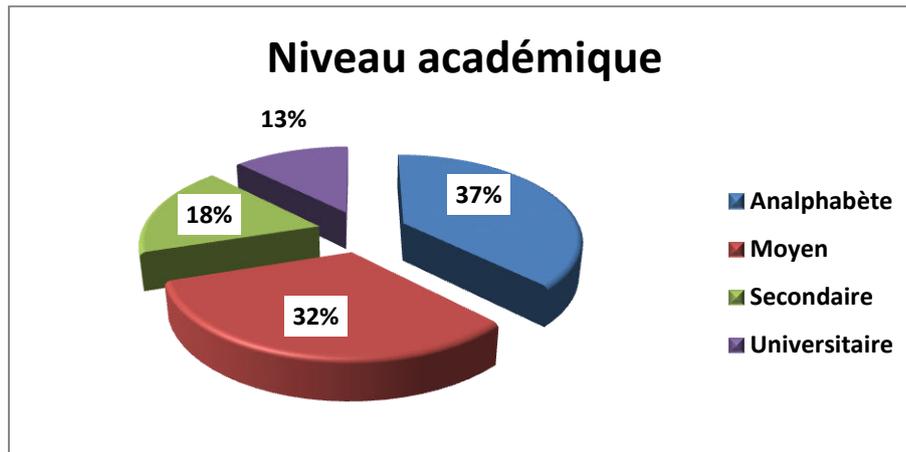


Figure 26: Répartition de la fréquence d'utilisation de la plante selon le niveau académique.

➤ **Classe de l'origine de l'information :**

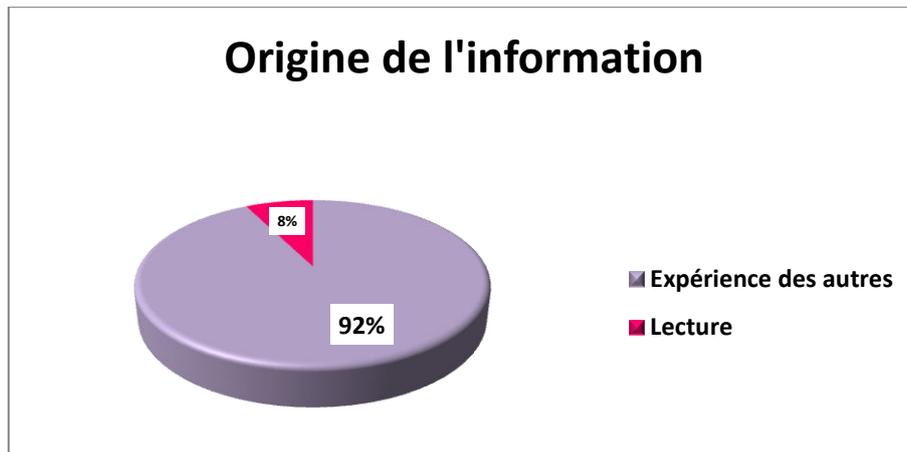


Figure 27: Répartition de la fréquence d'utilisation de la plante selon l'origine de l'information.

La plupart des personnes interrogées sur l'origine de l'information concernant l'usage des plantes utilisée en phytothérapie traditionnelle est à partir de l'expérience des autres (92%), par exemple, leurs proches, leurs voisins ou bien leurs amis.

➤ Classe d'utilisation de la plante :

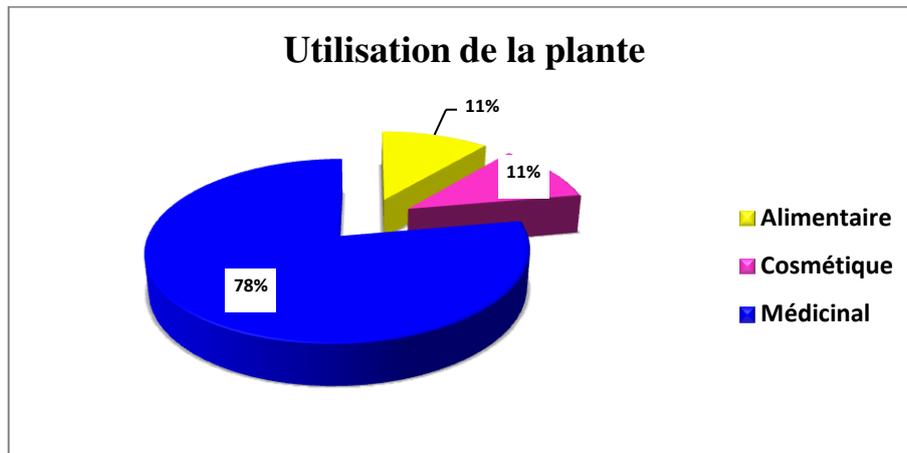


Figure 28: Répartition de la fréquence d'utilisation de la plante.

Le résultat obtenu a constaté que la majorité des personnes ont exploité cette plante pour une utilisation médicinale (78 %) par rapport à l'utilisation cosmétique et alimentaire (11%), ce qui montre les bienfaits de cette plante dans le traitement des maladies.

➤ Classe des maladies traitées :

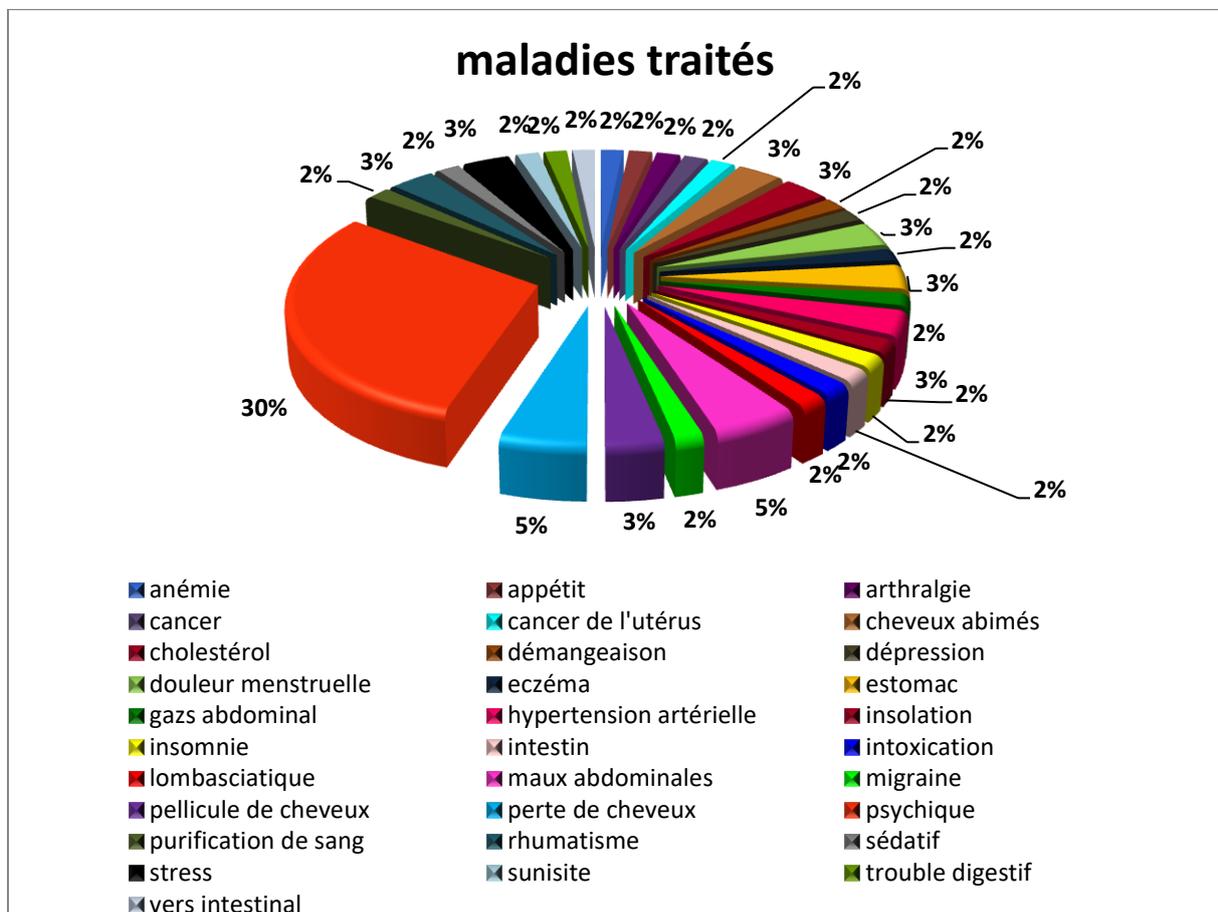
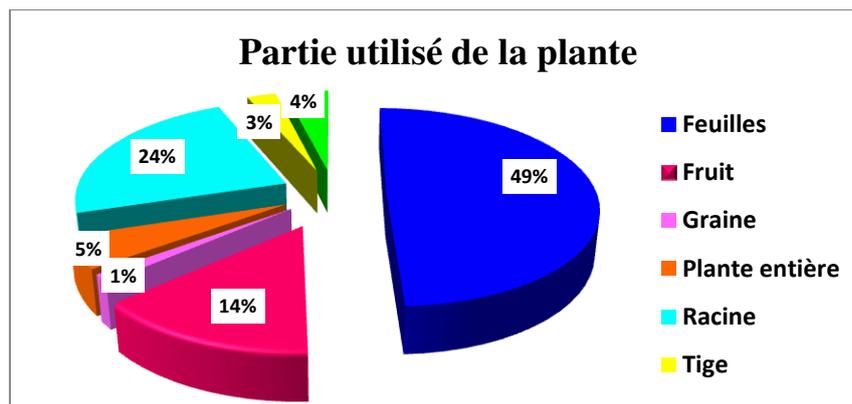


Figure 29: Répartition de la fréquence d'utilisation de la plante selon la maladie traitée

L'enquête ethnobotanique a révélé que cette plante est utilisée pour traiter plusieurs maladies principalement contre les maladies psychiques avec un pourcentage de (30%) (Figure29), suivie par un faible pourcentage des maladies abdominales et maladies de perturbation des cheveux (5%).

➤ **Classe de la partie utilisée:**

**Figure 30:** Répartition de la fréquence d'utilisation de la plante selon les parties utilisées

Dans la zone d'étude, les feuilles de la plante sont les plus utilisées avec un pourcentage de (49%), puis les racines (24%), en suite les fruits (14%) et les parties moins utilisées sont la plante entière (5%), la tige feuillée (4%), la tige (3%) et les graines (1%) (Figure30).

Nous avons remarqué (que sur le terrain), les utilisateurs ont tendance à utiliser les feuilles ce qui démontré l'importance de cette partie pour traités certains maladies. En autre selon certains personnes les feuilles sont faciles a arracher ce qui favorise la facilite de leur exploitation.

II. Le rendement :

La préparation de l'extrait méthanolique à partir des feuilles et fruits du *Zizyphus lotus* Cette méthode est basée sur l'utilisation de méthanol à 80%.

Les extraits bruts de *Zizyphus lotus* sont récupérés après évaporation ont été pour déterminer le poids sec obtenu. Le rendement de chaque extrait est calculé selon la formule suivante et les résultats ont été exprimés en pourcentage:

$$\text{Rendement \%} = (m_0 / m_1) \times 100$$

m0 : Masse en gramme de l'extrait brut évaporé ;

m1 : Masse en gramme de la matière végétale initiale sèche

L'aspect, la couleur et le rendement de l'extrait obtenu sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau2 : Aspect et couleur de l'extrait méthanolique des feuilles et fruits du *Zizyphus lotus*.

Extrait	Aspect	couleur	Rendement(%)
methanolique de feuilles	Poudre	Vert foncé	18.57
methanolique de fruits	Poudre	brune	15.76

Les résultats obtenus montrent que les deux extraits méthanolique de feuilles et fruits ont un couleur différente de l'un à l'autre. Selon la partie utilisée dans l'extraction, l'extrait de feuilles représente le rendement le plus élevé (18.57 %) par rapport au l'extrait des fruits qui représent (15.76%).

III. Analyse phytochimique :

Le criblage phytochimique consiste à déterminer les différents métabolites secondaires existants dans les feuilles et fruits de *Zizyphus lotus*.

III.1. Criblage phytochimique des feuilles :

La détection de ces composés est basée sur des essais de solubilité des constituants, des réactions de précipitation et changement de couleur spécifique. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 3: analyse phytochimique de l'extrait méthanolique des feuilles de *Z. lotus*

Métabolites testés	Remarques	Résultats
Flavonoïdes	Précipitation jaune	+++
Tanins	Couleur bleu fonce ou gris verdâtre	+++
Alcaloïdes	Précipité rouge brunâtre	+++
Glycoside cardiaque	Anneau brune à l'interphase	++
Phénol	Couleur bleu verte à bleu foncé	++
Phlobatanin	Précipitation rouge	-
Stéroïde	Couleur vert foncé	+

Trépnöide	Brune rougeâtre a l'interphase	+++
Huile volatile	Précipitation blanc	+
Saponine	Formation d'effervescence continue	+++
Coumarine	Couleur jaune	-
Emodin	Couleur rouge	-
Phytostérol	Anneau brune à la jonction	+
Quinone	Couleur rouge	+++
Acide carboxylique	Formation d'effervescence	+++
Résin	Couleur orange a jaune	-
+++ : présence en forte quantité ; ++ : présence en quantité moyenne ; + : présence en faible quantité ; - : absence		

Les résultats de criblage phytochimique suggèrent que l'extrait méthanolique de feuilles de *Z. lotus*. Est riche en divers constituants bioactifs tels que des flavonoïdes; tanins; alcaloïdes, quinones, saponines, terpénoïdes et l'acide carboxylique en forte quantité. Ainsi que il y a la présence des Glycoside cardiaque et des Phénol en quantité moyenne et la présence d'autres composés comme les stéroïdes; huile volatile et phytostérol en faible quantité. Ces composés phytochimiques sont importants pour l'utilisation dans les soins de santé.

Dans l'absence de référence qui travaillent sur *Zizyphus lotus*, les résultats obtenus sont à comparer avec des travaux avec d'autre espèces de genre *Zizyphus* : **Najafi en 2003** a signalé que, feuilles de *Z. mauritiana* possèdent des saponines, des composés phénoliques, des glycosides et des tanins ; Abdullah et al (2016) ont signalé que l'extrait méthanolique de feuilles de *Z. mauritiana* contient des saponines, des tanins, alcaloïdes, composés phénoliques, terpénoïdes et flavonoïdes le résultats obtenus par **Ali Al Ghasham et al (2017)** démontre qu'ils existent d'autre classes chimiques dans *Zizyphus muritiana* . Il s'agit (selon cet auteur) de coumarines et résines. Toujours en utilisant la partie feuilles.

III.2.Criblage phytochimique des fruits :

Tableau 4: analyse phytochimique de l'extrait méthanolique des fruits de *Z. lotus*

Métabolites testés	Résultats
Flavonoïdes : -Tests de Pew -Tests de NaOH	- +
Tanins : -Test de l'acétate de plomb	-
Glycoside : -Test de glycosides -Test de H2SO4 concentré	+ +
Phénol : -Test de l'acide ellagique -Tests de phénol	+ -
Stérol : -Test de Salkowski	+
Saponines : -Test de mousse	+
Alcaloïdes : -Test de l'iode -Test de Wagner	- +

Les résultats de l'examen phytochimique de l'extrait des fruits de *Zizyphus lotus* . ont été présentés dans le (tableau 4). Différents types de métabolites secondaires tels que les alcaloïdes, flavonoïdes, glycosides, phénol, saponines, stérols, étaient présents alors que le tanin était absent dans l'extrait de fruits.

Cet resultat est similaire dans sa majeure partie avec celui trouve par **Rathore et al. (2012)**. Il a signalé la présence des métabolites secondaires tels que saponines, stérols, glycosides ;flavonoïdes mais la difference était dans les alcaloïde et les phénols qui étaient absent par contre les tanins marquent leur présence dans les extrait de *Zizyphus muritiana* . La composition légèrement différente (dans certaine classes), est peut être due a plusieurs facteurs (tests à confirmer expérimentalement) à savoir ; l'espèce de la plante, condition climatiques nature du sol, période de récolte . . . etc.

Tannins présentent des activités générales d'antimicrobiens et antioxydant (**Rievere et al., 2009**). Rapports récents montrent que les tanins peuvent avoir valeur potentielle comme

agents cytotoxiques et antinéoplasiques (Aguinaldo et al., 2005). Les saponines ont des propriétés antifongiques (Aboada et Maria; 2001 ; Mohanta et al., 2007).

Ces contenus sont présentés différent type d'activité contre les pathogènes différents. Par conséquent, il peut être utilisé dans le traitement des maladies. Saponines sont utilisées dans l'hypercholestérolémie, hyperglycémie, antioxydant, anticancéreux, anti-inflammatoire et poids perte . . . etc. selon le domaine médical. C'est un agent antibactérien bioactif des plantes (Mandal et al. 2005 ; Rachel, 2006).

IV. pouvoir antioxydant :

IV.1. Activité anti radicalaire du DPPH :

Cette technique est la plus souvent utilisée. Son principe repose sur la capacité des extraits de plantes testés de piéger le radical libre DPPH introduit dans l'expérimentation. Ce phénomène de piégeage indique la présence de molécules douées d'activités antioxydants dans les extraits de plantes (Yi et al., 2008).

Ce virage de couleur est accompagné d'une diminution de l'absorbance (D.O.) qui peut s'exprimer par le pourcentage de réduction de DPPH.

Conventionnellement, une grande capacité de piégeage (réduction) des radicaux libres, est considérée comme une forte activité antioxydant.

Afin de comparer cette activité antioxydant avec celle de l'acide ascorbique, des courbes d'étalonnage sont réalisées et tracé.

Les résultats du taux d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations des extraits méthanoliques des feuilles et des fruits sont présentés ci-dessous (Figure31, 32, 33).

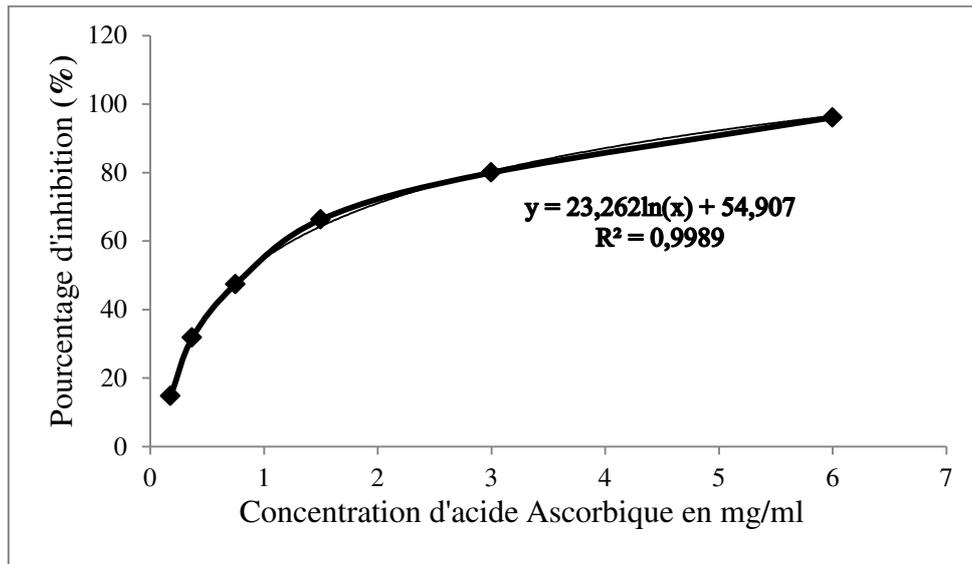


Figure31: Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH[•] en fonction des différentes concentrations d'acide ascorbique

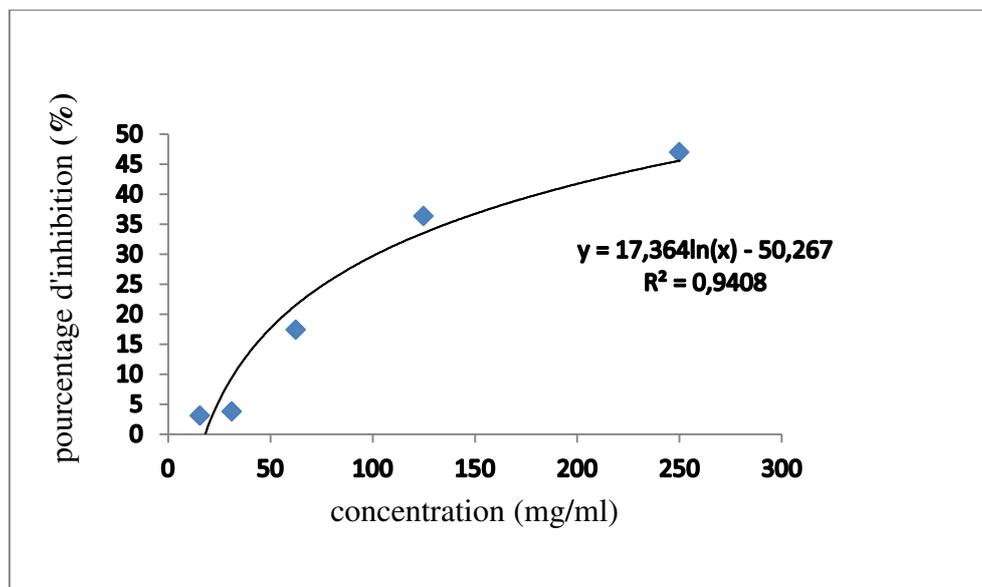


Figure32 : Corrélation logarithmique entre la concentration de l'extrait de feuilles et le pourcentage de l'activité antiradicalaire.

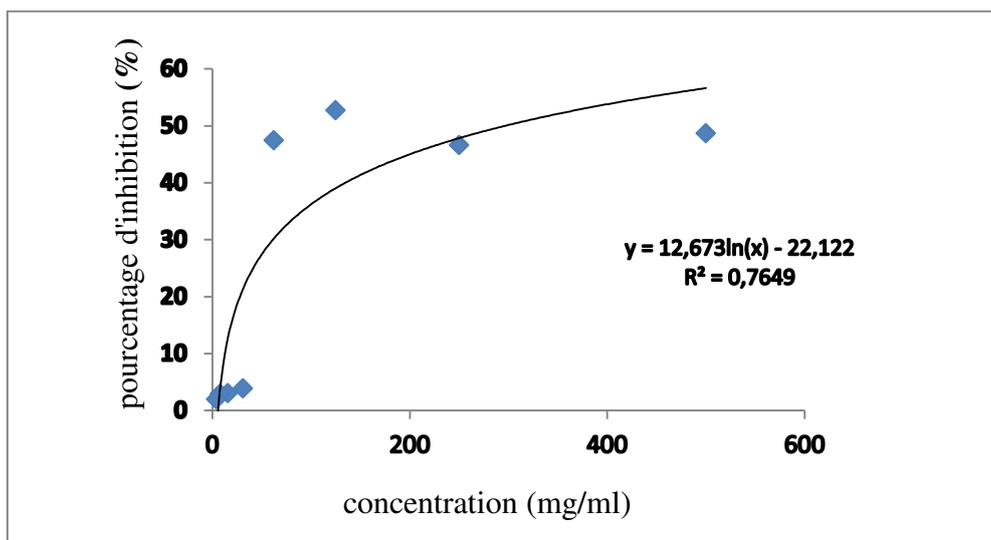


Figure33 : corrélation logarithmique entre la concentration de l'extrait de fruits et le pourcentage de l'activité anti radicalaire.

Selon nos constatations, plus la concentration (des deux extraits méthanoliques des feuilles et des fruits testées) augmente, plus le % d'inhibition anti-radicalaire augmente. Cette activité antioxydant des extraits, est également exprimée par l'indice IC_{50} .

Il s'agit d'un paramètre qui définit la concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité du radical DPPH ou qui cause le piègeage de 50 % du radical libre le DPPH (Abdulmajed *et al.*, 2005; Ahmad *et al.*, 2012 ; Ranga *et al.*, 2009).

Les IC_{50} de l'acide ascorbique et les deux extraits sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau5 : Les IC_{50} de l'acide ascorbique et les extraits des feuilles et des fruits.

Les extraits	IC_{50} (mg/ml)
Feuilles	539.15
Fruits	295.89
Acide ascorbique	1.47

- ❖ Plus la valeur de l' IC_{50} est petite plus l'extrait est considéré comme un antioxydant puissant.

D'après le **tableau5**, on constate que l'acide ascorbique a montré une forte activité antioxydant avec une IC_{50} de l'ordre de 1.47mg/ml. Par ailleurs, les IC_{50} des extraits des feuilles et des fruits sont respectivement 539.15 et 295.89 mg/ml. Par principe, plus la valeur de l' IC_{50} est petite plus l'extrait est considéré comme un antioxydant puissant. De ce fait, la

capacité des extraits à balayer le radical libre DPPH, est moins important par rapport à l'acide ascorbique mais elle est présente par ordre décroissant suivant :

Acide ascorbique > extraits de fruits > extraits de feuilles.

Il est à signaler que nos résultats est toujours discutée par rapport à ceux publiés pour l'espèce du même genre (*Z. mauritiana*). Selon **Abdallah et son équipe (2016)** l'extrait méthanolique des feuilles de *Zizyphus mauritiana* possède un IC_{50} égale 24 g/ml. Dans l'étude réalisée par **Eyraud et al. (2011)**, la valeur de l' IC_{50} est de l'ordre de 0.10 mg/ml pour l'extrait méthanolique de *Z. mauritiana* (un IC_{50} encore inférieur à celui trouvé pour l'acide ascorbique). En attendant des recherches qui seront effectués sur *Z. lotus* (parties feuilles et fruits), *Z. mauritiana* reste la plus importante en matière d'activité antioxydant par rapport à notre plante. L'étage climatique et les conditions environnementaux, peuvent aussi influencer la composition de la plante de la même espèce.

Alcaloïdes, composés phénoliques, glucosides, tanins, flavonoïdes et les saponines sont connus comme bon antioxydant composés qui peuvent aider à contrôler le stress oxydatif des troubles. Au cours de l'oxydation, radicaux libres génèrent, qui est l'une des principales causes de maladies dégénératives.

IV.2. Activité antioxydant par la méthode de Réduction de fer (FRAP) :

Nous avons étudié également l'activité antioxydant des extraits méthanolique des feuilles et fruits de *Zizyphus lotus*, par la méthode de réduction de fer (FRAP). Cette dernière est un essai simple, rapide et productible afin de tester et de déterminer la concentration d'extrait le plus actif. La présence des réducteurs dans les extraits des plantes provoque la réduction de Fe^{3+} /complexe ferricyanide à la forme ferreux. Par conséquent, Fe^{2+} peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu dans le milieu réactionnel à 700 nm. Pour cela des dilutions en cascade des deux extraits à tester, sont réalisés avec évidemment la substance de référence qui est de l'acide ascorbique. Pour chaque concentration, nous mesurons la densité optique à 700 nm. Les résultats obtenus ont permis de tracer des courbes pour chaque extrait, représentés dans les (figures 34, 35, 36).

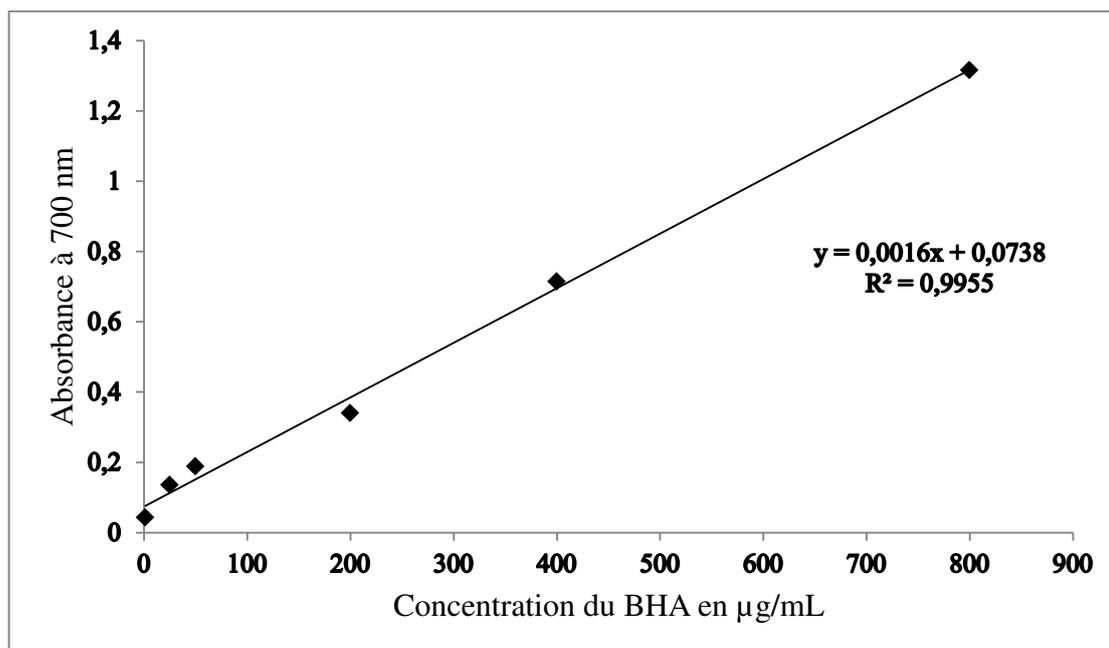


Figure34 . Corrélation linéaire de la concentration Du BHA en fonction de l'absorbance

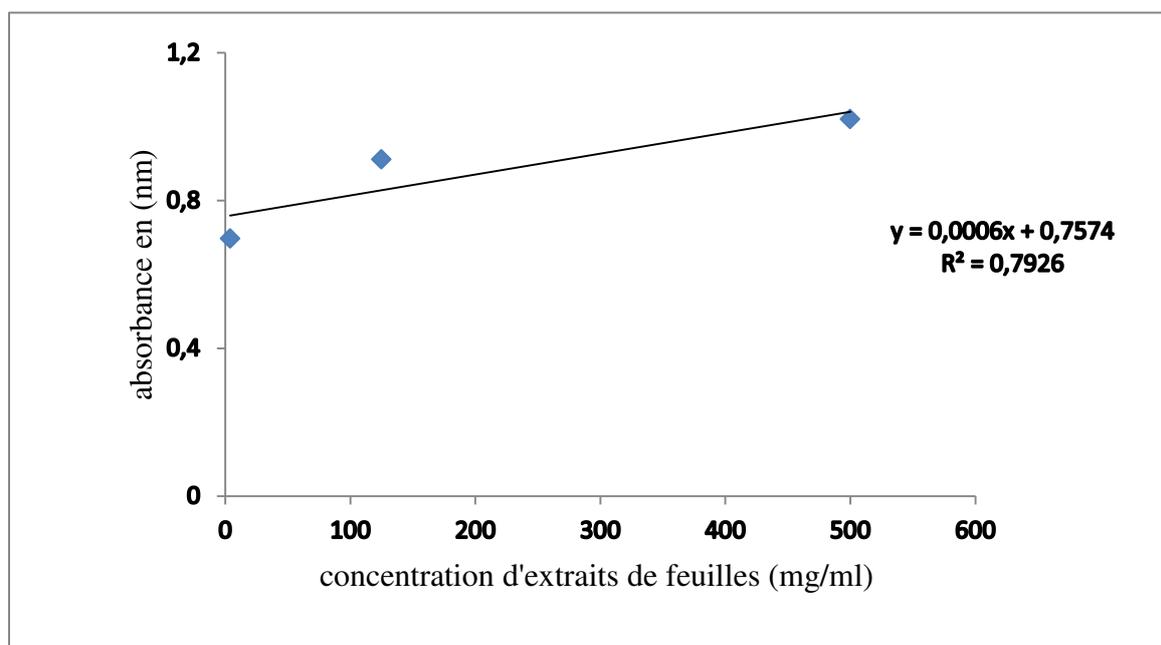


Figure35 : corrélation linéaire entre la concentration de l'extrait de feuilles et l'absorbance de l'activité antiradicalaire.

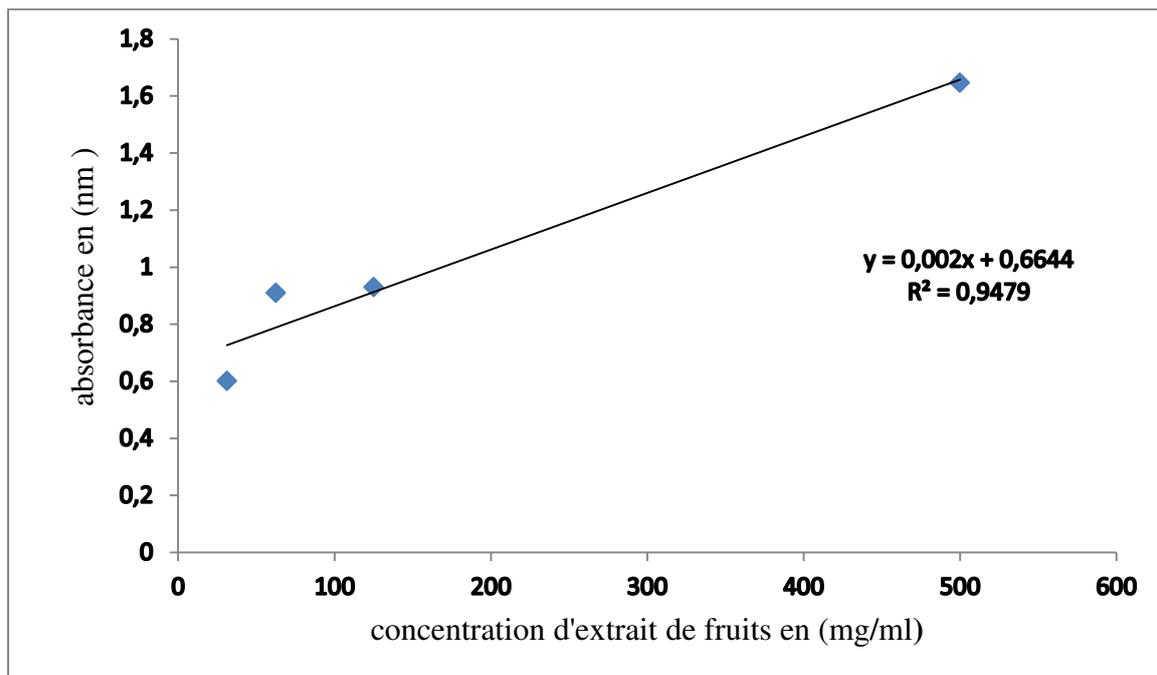


Figure36 : corrélation linéaire entre concentration de l'extraits fruits et absorbance

D'après les résultats, on remarque que la capacité de la réduction est proportionnelle à la concentration des échantillons. C'est à dire le pouvoir réducteur et les concentrations dépendantes.

Les deux extraits méthanoliques des feuilles et des fruits ont une activité antioxydant. Ce test montre que les deux extrait possèdent une affinité pour les ions Fe^{3+} . Cette capacité de réduction des radicaux libres de *Zizyphus lotus* est due, principalement, à leur profil chimique riche en composés phénoliques. Ces composés, grâce à leurs propriétés d'oxydoréduction, agissent en tant qu'agents réducteurs, donateurs d'hydrogène et d'oxygène singulier (Tepe et al., 2007 ; Rice-Evans et al., 1995).

IV.3. Test de la capacité totale des feuilles :

La capacité antioxydant totale des deux extraits est exprimée en nombre d'équivalent d'acide ascorbique par mg d'extrait sec (mg EAA/g EXS), à partir d'une courbe d'étalonnage définie par leur équation linéaire ($y=0,002x + 2,836$; $R^2=0,462$). Les capacités antioxydants des deux extraits sont présentées dans la figure suivante :

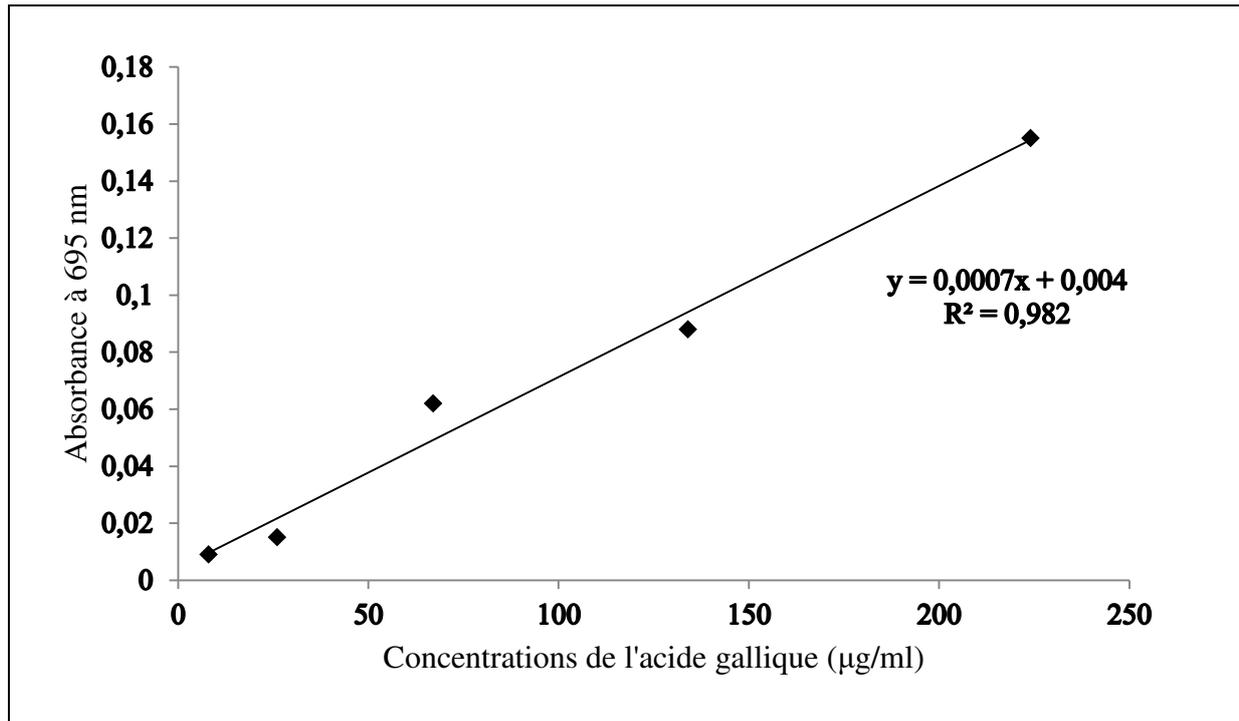


Figure 37: corrélation linéaire entre concentration de l'acide gallique et absorbance de capacité antioxydant totale

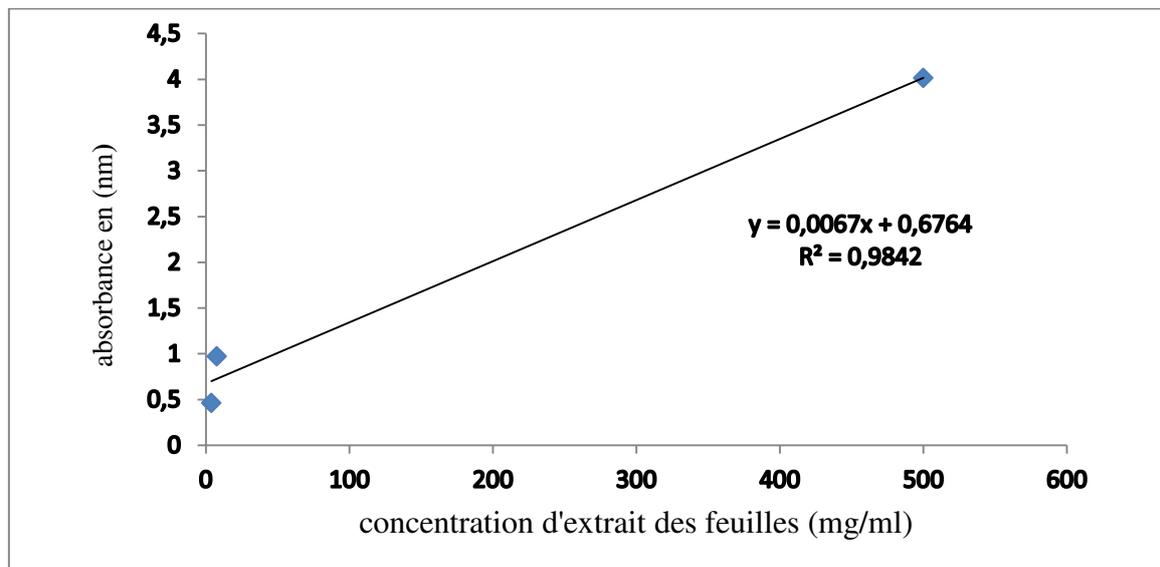


Figure38 : corrélation linéaire entre concentration d'extrait de feuille et absorbance de capacité antioxydant totale.

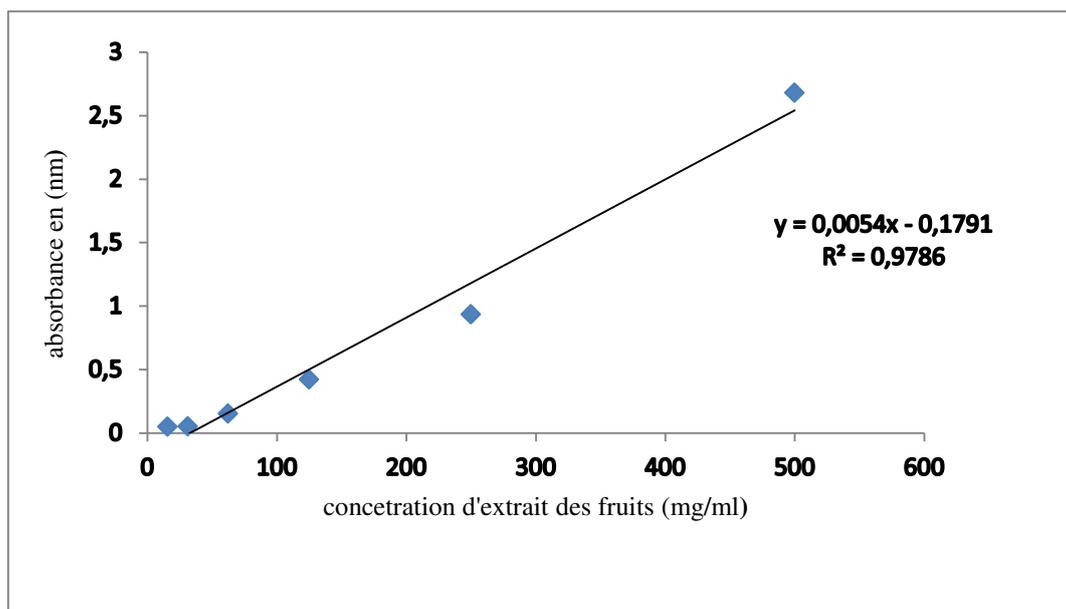


Figure39 : corrélation linéaire entre concentration d'extrait des fruits et absorbance de capacité antioxydant totale.

Selon les courbes affichées, la relation est toujours proportionnelle comme dans le test précédent. Plus la concentration des échantillons augmente, plus la capacité antioxydant totale augmente. La remarque à souligner concerne plus la capacité antioxydant des fruits qui enregistre une valeur de l'ordre de 0.32mg EAG, considérée mieux importante que celle enregistrée pour l'extrait de feuilles avec une valeur de 31.14mg EAG/mgMS. Cette différence est peut être due à la nature des différentes classes des molécules qui rentre dans la composition des 2 parties de la plante.

V. Activité antimicrobienne :

V.1. Activité antibactérienne :

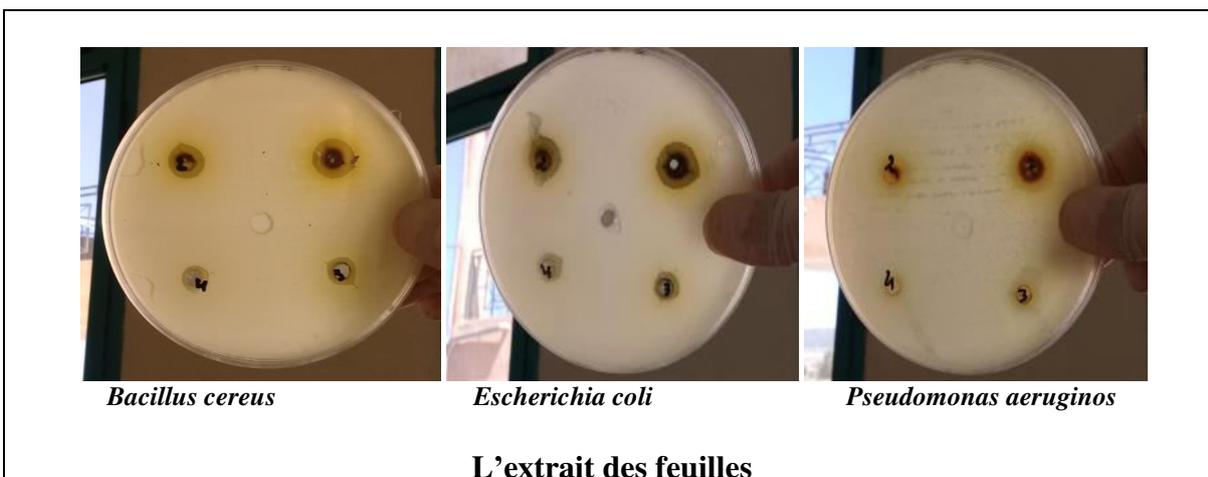
L'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique des feuilles de *Zizyphus lotus* sur la croissance des différentes souches utilisées, a été évaluée par la méthode de diffusion en milieu gélosé Muller Hinton. L'expression des résultats est réalisée par la mesure des diamètres des zones d'inhibition autour des puits réalisés et remplis de suspension bactérienne de chaque souche utilisée.

Dans ce contexte, l'ensemble des résultats mesurés, est reporté dans le tableau ci-après :

Tableaux 6 : Activité antibactériennes des 02 extraits employés de *Zizyphus lotus* .

L'extrait méthanolique des feuilles						
Bactéries à Gram +	Les concentrations (mg/ml)					Méthanol
	600	300	150	75	37.5	80 %
<i>Staphylococcus aureus</i>	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm
<i>Bacillus cereus</i>	12 mm	10 mm	9 mm	8 mm	6.5 mm	6 mm
<i>Lysteria monocytogenes.</i>	11 mm	10 mm	9 mm	7 mm	6 mm	6 mm
Bactéries à Gram -	Les concentrations (mg/ml)					Méthanol
	600	300	150	75	37.5	80 %
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15 mm	12 mm	12.5 mm	19 mm	10.5 mm	6 mm
<i>Escherichia coli</i>	13.5 mm	14.3 mm	8.5 mm	8 mm	7 mm	6 mm
<i>Salmonella typhimurium</i>	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm

L'extrait méthanolique des fruits						
Bactéries à gram +	Les concentrations de (mg/ml)					Méthanol
	600	300	150	75	37.5	80%
<i>Staphylococcus aureus</i>	8.25 mm	7.5 mm	7.6 mm	8.5 mm	7.5 mm	6 mm
<i>Bacillus cereus</i>	7.5 mm	7 mm	8 mm	6.5 mm	6.5 mm	6 mm
<i>Lysteria monocytogenes.</i>	7.5 mm	6.75 mm	7.5 mm	8 mm	7.5mm	6 mm
Bactéries à gram -	Les concentrations (mg/ml)					Méthanol
	600	300	150	75	37.5	80%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7 mm	8.5 mm	7 mm	7.5 mm	6	6 mm
<i>Escherichia coli</i>	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm	7,5	6 mm
<i>Salmonella typhimurium</i>	10.5 mm	9 mm	8.5 mm	8 mm	6 mm	6 mm
<i>Klebsilla pneumoniae,</i>	13.5 mm	12.5 mm	9.5 mm	6 mm	6 mm	6 mm



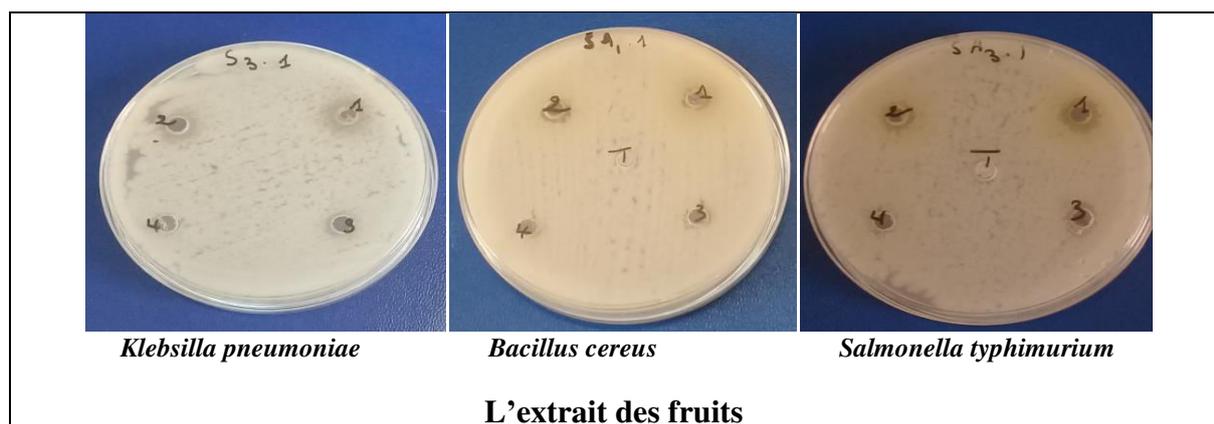


Figure 40: prise de photos de l'activité antibactérienne des deux extraits sur quelques bactéries utilisés.

Pour les tests antibactériens, nous avons choisi des bactéries à Gram positif et des bactéries à Gram négatif. Comme indiqué dans le (tableau 6), le test de diffusion par contact direct (utilisant les puits) a révélé les informations suivantes :

Concernant l'extrait de feuilles de *Z. lotus* et à concentration de 600 mg/ml, *Pseudomonas aeruginosa*, a montré la plus forte zone d'inhibition (avec 15 mm de diamètre) suivie d'*Escherichia coli* (13.5 mm), puis *Bacillus cereus* (12 mm).

Les souches *Staphylococcus aureus* et *Salmonella typhimurium* ont montrés la plus faible zone d'inhibition (6 mm) ne déclarant aucune réaction contre cette concentration d'extrait. Les autres concentrations (de la partie de la plante) exprime la même type de réaction mais avec une influence moins importante ; plus la concentration de l'extrait est diluée moins le diamètre de la zone est considérable. Donc logiquement l'activité antibactérienne dépend essentiellement de la quantité des molécules à effet antibactérien dans un ml d'extrait.

Par comparaison de nos résultats avec ceux trouvé par Abdallah et ses collaborateurs, l'extrait méthanolique des feuilles de *Zizyphus mauritiana* a exprimé (à la concentration de 400 mg/ml) une zone d'inhibition de 13 mm avec *Bacillus cereus* ATCC 10876 presque similaire à celle que nous avons trouvé mais avec une concentration de 600 mg/ml. Cependant, à la même concentration (400mg/ml), *Pseudomonas aeruginosa* exprime une très légère activité antibactérienne avec 6.25mm de diamètre de la zone d'inhibition. Cette valeur est peut être loin d'être atteindre à la concentration de 600 mg/ml qui est de 15 mm chez notre extrait de feuilles.

En effet, l'extrait des fruits (à 600 mg/ml), a exprimé une activité antibactérienne importante contre la croissance de *Klebsilla pneumoniae* avec un diamètre de la zone d'inhibition de l'ordre de 13.5 mm suivi par *Salmonella typhimurium* avec 10.5 mm et de 7

mm pour *Pseudomonas aeruginosa*. Cet effet est nul contre *Escherichia coli* qui a précédemment (avec les extraits de feuilles) exprimé des valeurs aberrantes avec certaines concentrations. Il a fallu répéter ces expériences pour confirmer ou affirmer ce résultat mais malheureusement par défaut de manque de matériel, il était difficile de les réaliser.

L'extrait méthanolique des feuilles du *Zizyphus lotus* est révélé actif mais avec un degré différent selon la concentration utilisée, l'espèce bactérienne utilisée et la partie de la plante employée. **Ghedira (1995)** a montré que le composant alcaloïde de cette espèce représente une activité antibactérienne importante. Ceci est confirmé par le résultat positif de test de Mayer qu'on a réalisé sans négliger l'effet synergique des autres molécules à effet antimicrobien.

V.2. Activité anti fongique :

V.2.1. cas de levure :

Tableau 7: Activité anti levure des 02 extraits employés de *Zizyphus lotus*

l'extrait méthanolique des feuilles						
Levure	Les concentrations (mg/ml)					méthanol
	600	300	150	75	37.5	80%
<i>Candida albicans</i> 26790	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm
<i>Candida albicans</i> IP444	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm
<i>Candida albicans</i> 10231	6 mm	8.5 mm	7.5 mm	10 mm	11 mm	6 mm

l'extrait méthanolique des fruits						
Levure	Les concentrations (mg/ml)					méthanol
	600	300	150	75	37.5	80%
<i>Candida albican</i> 26790	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm
<i>Candida albican</i> IP444	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm
<i>Candida albican</i> 10231	10 mm	9.5 mm	6 mm	6 mm	13 mm	6 mm

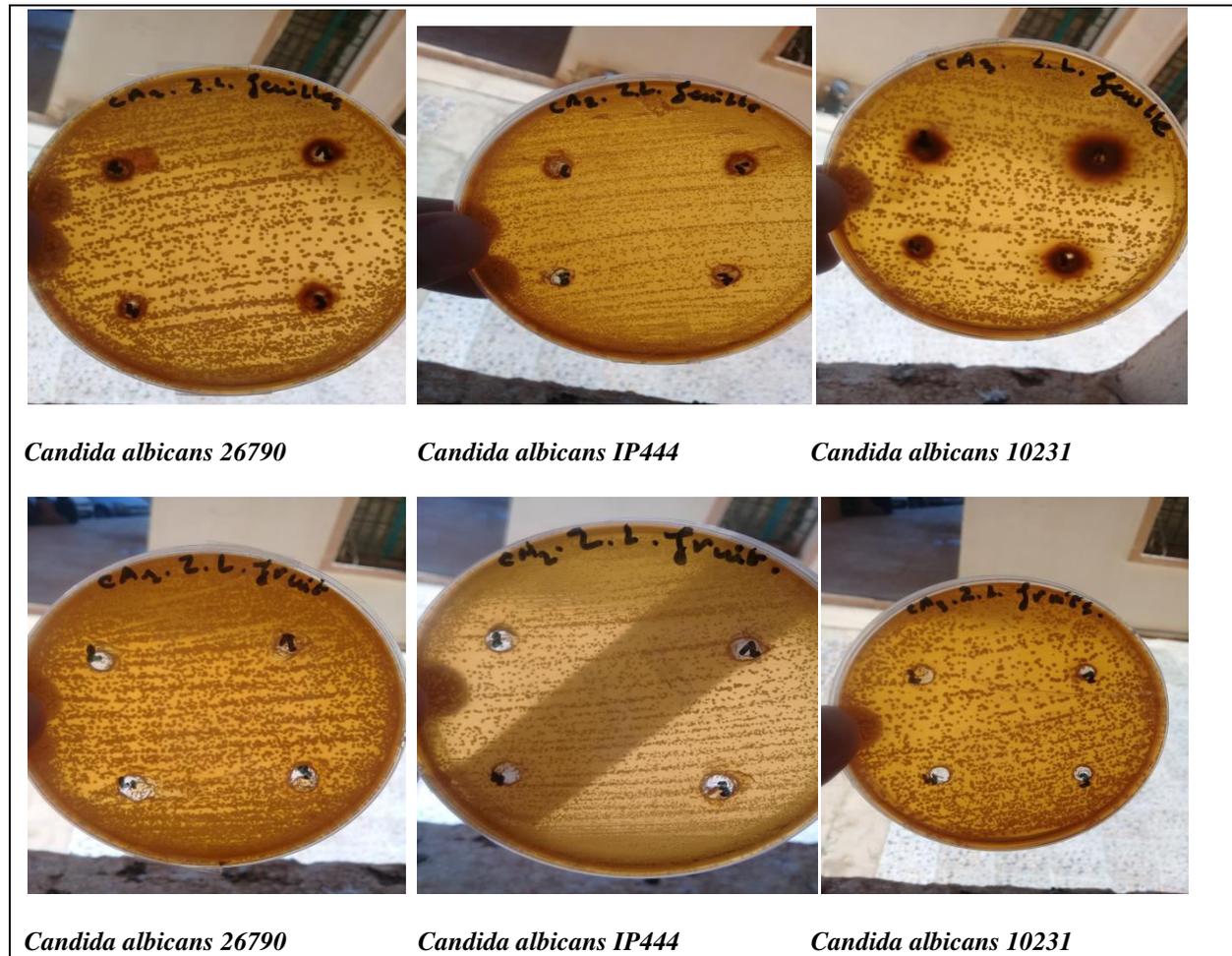


Figure41 : prise de photos des zones d'inhibition des extraits utilisés sur quelques levures.

A partir des résultats figurés dans le tableau ci dessus, nous constatons que l'extrait méthanolique des fruits et des feuilles semble n'a aucune efficacité sur la plupart des levures usés affichant une valeur de 6mm c'est-à-dire aucune diffusion n'a été signalée.

La seule souche qui a exprimé une différence de contre réaction, est *Candida albican10231*. Pour nous l'activité antifongique existe chez cette souche traduite par des valeurs de zone d'inhibition des fois intéressantes (13 mm à une concentration de 37.5) mais le problème se répète encore une fois comme chez *Escherichia coli*. Il s'agit peut être d'une erreur comis dans la préparation des différentes concentrations des extraits.

V.2.2. Activité anti moisissure :

Pour le test anti-moisissure, nous avons évalué l'action des extraits méthanolique des feuilles et des fruits sur la croissance des trois souches de moisissures codés. Les résultats obtenus sont démontré dans les **figures 42 , 43.**

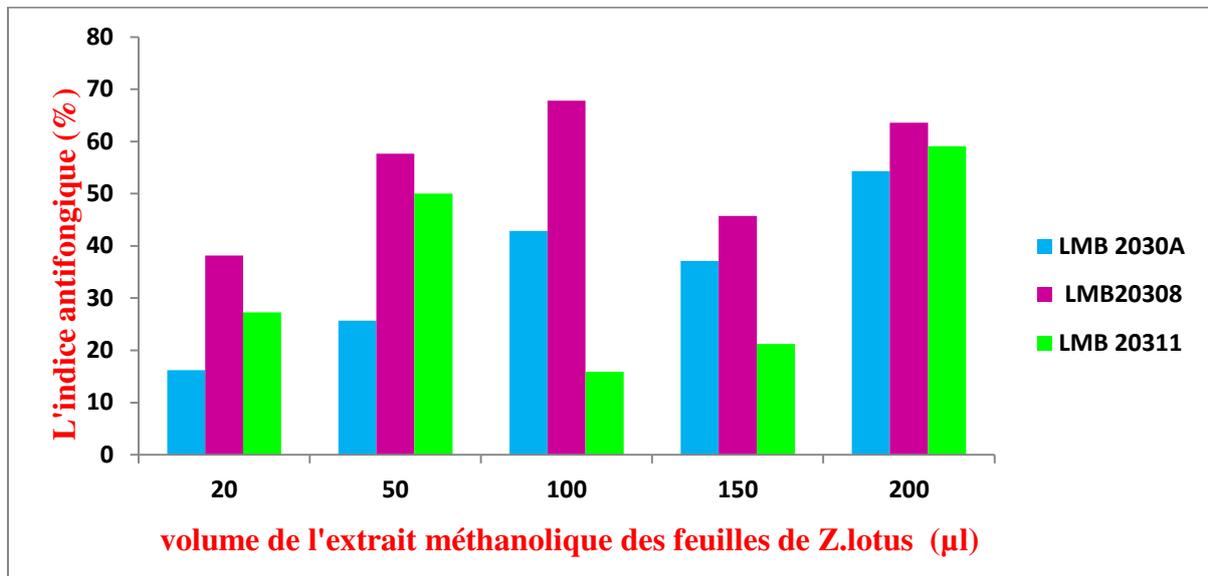


Figure42 : L'indice antifongique d'extrait méthanolique des feuilles de *Ziziphus lotus*

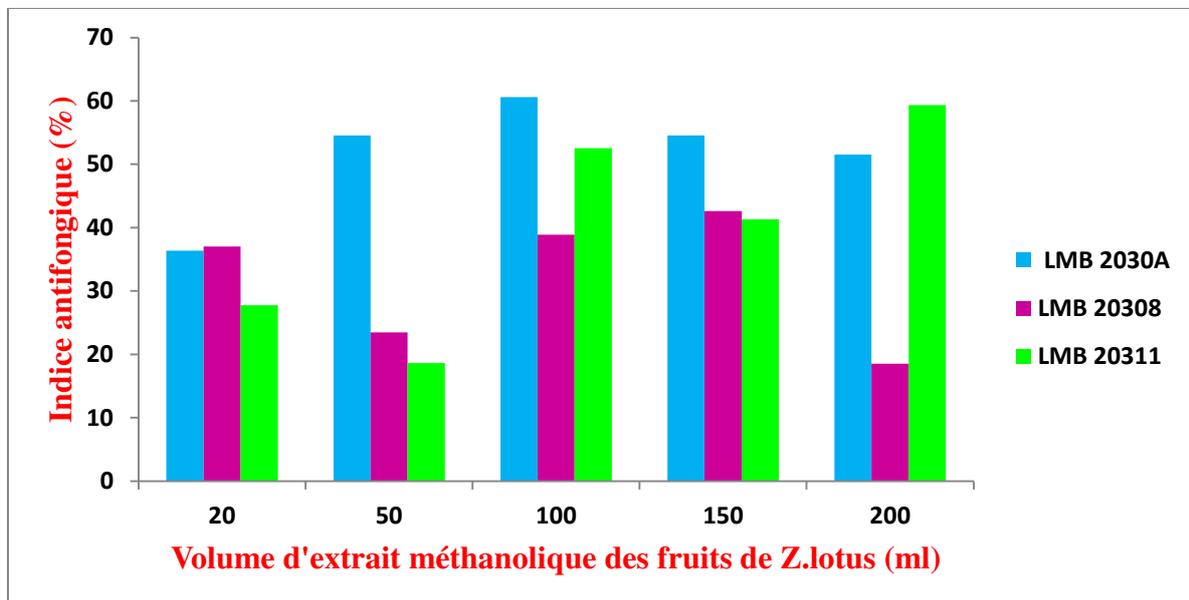


Figure43 : L'indice antifongique d'extrait méthanolique des fruits de *Ziziphus lotus*.

Selon les résultats des 02 extraits, on remarque des différences d'activités sur la croissance des trois moisissures utilisées. 100 μ l de l'extrait des fruits a un pouvoir antifongique considérable exprimé par l'inhibition de 60.60 % de la souche *LMB 2030A*. cette valeur est réduite jusqu'au 42.86% lorsque l'extrait de feuilles est substitué par celui des fruits.

En paradoxe, 100 μ l d'extrait des feuilles était plus efficace contre la souche *LMB 20308* par un une inhibition fongique de 67.80%. L'extrait de fruit réagit encore une fois par le même principe ; diminution presque à moitié (38.89%) du pourcentage dit indice antifongique.

Pour la souche *LMB 20311*, un volume de 200 μ l de l'extrait des feuilles et des fruits a respectivement exprimé le même indice fongique 59.09% et 59.32%. Ce dernier taux est environ le même avec celui affiché contre les souches *LMB 2030A* et *LMB 20308* avec l'extrait de fruits car le volume est dans ce cas, doublé.

Conclusion

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

L'étude des propriétés microbiologiques et antioxydantes des extraits du *Zizyphus lotus* nous a permis d'obtenir des résultats intéressants. Une étude ethnobotanique montre que la population de la région de Saida utilise cette plante dans la médecine traditionnelle pour traiter certaines maladies entre autres les maladies psychiques et contre les douleurs du tube digestif.

L'analyse phytochimique des extraits des feuilles et des fruits de *Zizyphus lotus* a mis en évidence la richesse de celle-ci en flavonoïdes, alcaloïdes, tanins et saponines et autres.

Le pouvoir antioxydant des extraits méthanoliques a été réalisé par la méthode de réduction et le principe du piégeage des radicaux libres en utilisant le DPPH. Dans ce contexte les résultats obtenus révèlent la présence d'une activité antioxydante des extraits de *Zizyphus lotus*.

Le test de l'activité antibactérienne d'extraits montre l'efficacité de nos extraits sur la croissance des souches bactériennes avec des zones d'inhibition plus ou moins importantes (15mm par *Pseudomonas aeruginosa*). Concernant l'extrait des fruits est plus efficace que celui extrait à partir des feuilles avec des taux antifongiques considérables.

Et par contre on trouve que l'extrait de feuilles n'est pas efficace que l'extrait de fruits pour les souches de *Candida albicans 10231*.

Enfin, l'ensemble de ces résultats obtenus *in-vitro* ne constitue qu'une première étape dans le cadre de la recherche de substances naturelles biologiquement actives. Des essais complémentaires seront nécessaires et devront pouvoir confirmer les performances mises en évidence.

Reference Bibliographique

ABDEL-ZAHER, A.O.; SALIM S.Y.; ASSAF M.H. et ABDEL-HADY R.H., (2005). Antidiabetic activity and toxicity of *Zizyphus spina-christi* leaves. *Journal Ethnopharmacology*, 101, 129-138.

ABDALLAH , E.M., ELSHARKAWY, E.R., ED-DRA, A., (2016). Biological activities of methanolic leaf extract of *Zizyphus mauritiana.*, *Biosci. Biotech. Res. Comm.* 9(4): 605-614.

ABERKANE M.C. (2006). Etude phytochimique de la plante *Publicaria laciniata*. Thèse de doctorat. Université de Batna, 163p.

ABU-ZARGA, M.; SABRI, S.; AL-BOUDI, A.; AJAZ S.; SULTANA N. ET RAHMAN A-U., (1995). New cyclopeptide alkaloids from *Zizyphus lotus*. *Journal of Natural Products*, 58, 504-511.

AFONSO, V., CHAMPY, R., MITROVIC, D., COLLIN, P. AND LOMRI, A. (2007). Reactive oxygen species and superoxide dismutases: Role in joint diseases. *Joint Bone Spine*, 74(4), pp.324-329.

AFONSO, V., CHAMPY, R., MITROVIC, D., COLLIN, P. and LOMRI, A. (2007). Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases: rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du Rhumatisme*, 74(7), pp.636-643.

ALIBERT J. L. B., (1826)- Précis historique sur les eaux minérales les plus usitées en médecine, suivi de quelques renseignements sur les eaux minérales exotiques. Béchet jeune (Ed.)

ALAWA C.B.I., ADAMU A.M., GEFU J.O., AJANUSI O.J., ABDU P.A., CHIEZEY N.P., ALAWA J.N., BAWMAN D.D., (2003) In vitro screening of two Nigerian medicinal plants, *Vernonia amygdalina* and *Annonaceae* for anthelmintic activity. *Elsevier Science* , 73- 81.

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

ATKIN MA, GASPER A, ULLEGADDI R, et al (2005).— Oxidative susceptibility of unfractionated serum or plasma : response to antioxidants in vitro and to antioxidants supplementation. *ClinChem*, 51, 2138-2144.

(Baba Aissa F., 1999) Encyclopédie des plantes utiles, Flores d'Algérie et du Maghreb ; Edition librairie moderne ; Rouiba (copyright F : BABA AISSA-BP12) Alger Beo-c.

BAEZA, A . and MARANO , F. (2007). Pollution atmosphérique et maladies respiratoires. *médecine/sciences*, 23(5), pp.497-501.

BAHORUN, T. (1998, MARCH). Substances naturelles actives: la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. In *Second Annual Meeting of Agricultural Scientists* (p. 83).

BAHORUN T, (1997). Substances naturelles actives : la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. *Food and agricultural research council. Mauritius.* Pp 83-94.

BAYER E., BUTTER K.P., FINKENZELLER X. et GRAU J., (2001)- Guide de la flore méditerranéenne, De Lanchaux et Niestté (Ed.). *Italie*, 280p.

BEECHER, G. R. (2003). "Overview of dietary flavonoids: nomenclature, occurrence and intake." *The Journal of nutrition* **133**(10): 3248S-3254S.

BENAMMAR H., (2010)- Effets antioxydants et immun modulateurs d'une plante médicinale nord africaine, *Zizyphus lotus L.* (Sedra) : Etude des différents extraits. Thèse de doctorat en Biologie, Faculté SNV/STU, Université de Tlemcen, 98p.

BENDAHOU M., MUSELLI A., GRIGNON- DUBOIS M., BENYOUCEF M., DESJOBERT JM., BERNARDINI AF., COSTA J., (2008) Antimicrobial activity and Chemical composition of *Origanum glandulosum* Desf. Essential Oil and Extract Obtained by Microwave extraction: Comparison with Hydrodistillation. *Food chemistry*, 106: 132-139.

BERCHE P., GAILLARD J-L and Simon M (1989). Bactériologie bactéries des infections humaines, Médecine-Sciences Flammarion, p109.

BINDSEIL K.U., JAKUPOVIC J., WOLF D., (2001). Pure compound libraries; a new perspective for natural product based drug discovery. *Drug Discov. Today*. Pp 840-847.

BLOOR S . J., (2001). Overview of methods for analysis and identification of flavonoids. *Method. Enzymol.* 335: 3-14.

BOIZOT N. ET CHARPENTIER .J.P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. *Le cahier des techniques de l'Inra*. pp 79-82.

BONNARD, C., DURAND, A., PEYROL, S., CHANSEAUME, E., CHAUVIN, M., MORIO, B., VIDAL, H. AND RIEUSSET, J. (2008). Mitochondrial dysfunction results from oxidative stress in the skeletal muscle of diet-induced insulin-resistant mice. *Journal of Clinical Investigation*.

BONNET J., 2001- Larousse des arbres et des arbustes, (Ed.), 512p.

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

Bourgaud, F., Gravot, A., Milesi, S., et Gontier, E. (2001). Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant science*, 161(5), 839-851.

BORGI, W. et CHOUCANE, N., (2006). Activité anti-inflammatoire des saponosides des écorces de racines de *Zizyphus lotus*. *Revue des Régions Arides*, pp : 283-286.

BORGI, W.; GHEDIRA, K.; CHOUCANE, N., (2007). Anti inflammatory and analgesic activities of *Zizyphus lotus* , *Phytotherapia*, 78, 16-19.

BORGI, W.; RECIO, M-C.; RIOS, J-L.; CHOUCANE, N., (2008). Anti-inflammatory and analgesic activities of flavonoid and saponin fractions from *Zizyphus lotus* . *South African Journal of Botany*, 14, 320-324.

BOURKHISS M., HNACH M., PAOLINI J., COSTA J., FARAH A. ET SATRANI B. (2010). Propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires des huiles essentielles des différentes parties de *tetraclinis articulata* (vahl) masters du maroc. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*. 79: 141-154.

BUS, J., AUST, S. AND GIBSON, J. (1974). Superoxide- and singlet oxygen-catalyzed lipid peroxidation as a possible mechanism for paraquat (methyl viologen) toxicity. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 58(3), pp.749-755

BUS, J. AND GIBSON, J. (1984). Paraquat: model for oxidant-initiated toxicity. *Environ Health Perspect*, 55, pp.37-46.

BROSS J., (2000) - Larousse des arbres et des arbustes. Larousse (Ed.), Canada, de transfert de Technologie en Agriculture(PNTTA), DERD (Ed). Rabat,4, 576.

BRUNETON J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, (3ème éd). Tec et Doc (Ed), Paris ,1120p

BSSAIBIS F., GMIRA N. ET MEZIANE M., (2009) Activité antibactérienne de *Dittrichia viscoa* (L.) W. Greuter. *Rev. Microbiol. Ind. San et Environn*, 3 (1), 44-45.

CADET J., BELLON S., BERGER M., BOURDAT A.G., DOUKI T., DUARTE V., FRELON S., GASPARUTTO D., MULLER E., RAVANAT J.L., SAUVAIGO S., (2002) Recent aspects of oxidative DNA damage: guanine lesions, measurement and substrate specificity of DNA repair glycosylases, *Biol. Chem.*, 383(6), p. 93.

CARILLON, E, (2000). La phytothérapie face à l'évolution médicale Fouché, J., Marquet, A., and Hambuckers, A. Les plantes médicinales de la plante au médicament, Observation du monde des plantes.

CATOIRE CH., HENRI Z. ET CHAUDE B., (1999)- Dossier et article édités par fruits oublier. *Jujube et jujubier*. France.

CETKOVIC G., CANADANOVIC-BRUNET J., DJILAS S., SAVATOVIC S., MANDIC A., TUMBAS V. (2008). Assessment of polyphenolic content and in *vitro* antiradical characteristics of apple pomace. *Food Chemistry*, 109:340-347.

CHAKER E.K., (2010) Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées, Thèse de Doctorat université de Toulouse, p.70-71.

CHEYNIER V.,SARNI-MANCHADO P (2006). Les polyphénols en agroalimentaire, Ed. Lavoisier (Tec & Doc), Paris, 300-398.

CHUNG HY, YOKOZAWA T, KIM MS ET AL. (2000). The mechanism of nitric oxide and/or superoxide cytotoxicity in endothelial cells. *Exp Toxicol Pathol*; 52 : 227-33. 84.

CURTAY J-P ET ROBIN J-M. (2000). Intérêt des complexes antioxydants. *Nutrithérapie Info*.4p

- DACOSTA E. (2003).** Les phytonutriments bioactifs. Yves Dacosta (éd). Paris, 317p.
- DALTON T.P., SHERTZER H.G., PUGA A., (2002)** Regulation of gene expression by reactive oxygen, Signalling, , 14, p. 879.
- DANGLES O., STOECKEL C., WIGAND MC AND BROUILLARD R. (1992)** Two very distinct types of anthocyanin complexation : Copigmentation and inclusion. Tetrahedron Lett ., 33: 5227-30.
- DAR R.A., BRAHMAN P.K., KHURANA N., WAGAY J.A., LONE Z.A., GANAIE M.A. ET PITRE K.S. (2017).** Evaluation of antioxidant activity of crocin, podophyllotoxin and kaempferol by chemical, biochemical and electrochemical assays. *Arabian Journal of Chemistry*. 10: 1119-1128.
- DEBY, C. AND GOUTIER, R. (1990) .** New perspectives on the biochemistry of superoxide anion and the efficiency of superoxide dismutases. *Biochemical Pharmacology*, 39(3), pp.399-405.
- DEBYDUPONT, G., DEBY, C. AND LAMY, M. (2002).** Données actuelles sur la toxicité de l'oxygène : Current data on the toxicity of oxygen. *Réanimation*, 11(1), pp.28 -39.
- DELATTRE, J., BEAUDEUX, J. AND BONNEFONT-ROUSSELOT, D. (2005).** Radicaux libres et stress oxydant. 1st ed. Paris: E´ditions Tec & doc.
- DONNELLY C.W., (2001)** *Listeria monocytogenes*: A continuing challenge. *Nutrition Reviews*, , 59: 183-194
- DUBOIS G.E., GROSBY G.A AND SAFFRON P., (1977) .**Non nutritive sweeteners: taste structure relationships with for some new simple dihydrochalcone, pp: 397-399.
- DUPRE-CROCHET, S., ERARD, M. AND NUSSE, O. (2013) .** ROS production in phagocytes: why, when, and where ?. *Journal of Leukocyte Biology*, 94(4), pp.657-670.
- EDBERG S.C., RICE E.W., KARLIN R.J., ALLEN M.J., (2000).** Escherichia coli : the best biological drinking water indicator for public health protection. *Journal of Applied Microbiology*, 88: 106S-116S.
- FAVIER, A. (2006).** Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 64(6), pp.390-396.
- Favier A., Cadet J., Kalaryanaman R., Fontecave M., Pierre J.-L., (1995).** Analysis of Free Radicals in Biological Systems, Birkhauser, New-York,
- FONTAINE, E., BARNOUD, D., SCHWEBEL, C. AND LEVERVE, X. (2002).** Place des antioxydants dans la nutrition du patient septique : Antioxidants in critically ill patients. *Réanimation*, 11(6), PP.411-420.
- From C., Pukall R., Schumann P., Hormazabal V., Granum P. E., (2005)** Toxin-producing ability among *Bacillus* spp. outside the *Bacillus cereus* group. *Applied and Environmental Microbiology*, , 71(3): 1178-1183.
- Gangoué J. (2007).** Caractérisation des beta lactamases et leur inhibition par les extraits de plantes médicinales, thèse de doctorat, Liège.

GAMBINI, J., GRANIER, R. (2013). Effets indésirables des rayons X. EMC - radiologie et imagerie médicale : Principes et techniques –Radioprotection : 1-20.

GHESTEM A ., SEGUIN E ., PARIS M., ORECCHIONI A-M. (2001).Le préparateur en pharmacie .Dossier 2.Editions TEC & DOC Paris.275p.

GIASSON, B. (2000). Oxidative Damage Linked to Neurodegeneration by Selective alpha -Synuclein Nitration in Synucleinopathy Lesions. *Science*, 290(5493), pp.985-989.

GIBBS R.D., (1974) Chemotaxonomy of Flowering Plants. Vol.1, *McGill Queen's University Press*, Montreal and London.

GIROTTI –CHANU C. (2006). Etude de la lipolyse et de la synthèse de composés du derme sous l'effet de la cirsimarine , flavone extraite de *mirotea de bilis* .thèse de Doctorat. Institut national des sciences appliquées de Lyon.136p.

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

GRESELE, P., CERLETTI, C., GUGLIELMINI, G., PIGNATELLI, P., DE GAETANO, G., & VIOLI, F. (2011). Effects of resveratrol and other wine polyphenols on vascular function: anupdate. *The Journal of nutritional biochemistry*, 22(3), 201-211.

HAHN M. W., LUNSDORF H., SCHAUER M., HOFLE M. G., BOENIGK J., AND STADTLER P., (2003) Isolation of novel ultra-micro-bacteria classified as actinobacteria from five freshwater habitats in Europe and Asia. *App lie d Environmental of Microbiology*, 69:1442-1451.

HARANI, H., KOCEÏR, E., ZENATI, A. AND OUADAHI, N. (2014). P115: Stress oxydant et Diabète de type 2 : intérêt du manganèse et du chrome dans le contrôle glycémique chez le patient diabétique. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 28, p.S128.

Hare J. (2004)— Nitroso-redox balance in the cardiovascular system. *N Engl J Med*, , 351, 2112-2114.

HAGERMAN AE., RIEDL KM., JONES GA., SOVIK KN.,RITCHARD NT., HARTZFELD PW AND RICHEL TL. (1998). High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. *J. Agric.Food Chem* , 46: 1887-92.

HART P.E, RUSSEL E.JR & REMINGTON J.S., (1969) The compromised host and infection II, Deep fungal infection. *The Journal of Infectious Disease* , , 120: 169-176.

HENRIKSEN, T., MAHONEY, E. AND STEINBERG, D. (1983). Enhanced macrophage degradation of biologically modified low density lipoprotein. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 3(2), pp.149-159.

HILL R.B.J., ROWLANDS D.J.& RIFKIND D., Infectious pulmonary disease inpatient receiving immunosuppressive therapy for organ transplantation. *The New England Journal of Medicine*, 1964, 271: 1021-1028.

HIDAYAT M.A., FITRI A. ET KUSWANDI B. (2017). Scanometry as microplate reader for high throughput method based on DPPH dry reagent for antioxidant assay. *Acta Pharmaceutica Sinica B*.

HOUZE, P., BAUD, F., MOUY, R., BISMUTH, C., BOURDON, R. AND SCHERRMANN, J. (1990). Toxicokinetics of Paraquat in Humans. *Human & Experimental Toxicology* , 9(1), pp.5-12.

INSERM.FR. (2016). Phagocytose. [online] Available at: <http://www.inserm.fr/dossiers-dinformation/phagocytose>.

ISMAIL D., (2002)- Etude de la biologie de la reproduction et de la variabilité génétique chez le jujubier (*Zizyphus Mauritians*). Thèse de doctorat en biologie végétale. Faculté des Sciences et Techniques. Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Mauritanie, 99p.

JANICKA, M., KOT-WASIK, A., KOT, J. AND NAMIEŚNIK, J. (2010). Isoprostanes- Biomarkers of Lipid Peroxidation: Their Utility in Evaluating Oxidative Stress and Analysis. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(11), pp.4631-4659.

KECHAIRI R., (2009). Contribution à l'étude écologique de l'arganier *argania spinosa* (L) skeels. Dans la région de Tindouf (Algérie) Thèse de Magister, FSB, Université de USTHB, Bab Ezzouar, Alger, 73p.

KHANDEWAL K.R., (2008) Practical Pharmacognocny. *Nirali Prakashan*, Pune, edition: 19.

KING A., et YOUNG G. (1999). characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. *J of the American dietetic association*.99:213-218. (cited in DjemaiZoueglache S, 2008)

KINLAY, S., FANG, J., HIKITA, H., HO, I., DELAGRANGE, D., FREI, B., SUH, J., GERHARD, M., CREAGER, M., SELWYN, A. AND GANZ, P. (1999). Plasma - Tocopherol.

KOHEN R et NYSKA A. (2002). OXIDATION of biological systems: Oxidation stress phenomen , antioxidants, redox reactions and methods for their quantification . *Toxicolo Pathol* , 30: 620-650

KOKATE C K, PUROHIT A P AND GOKHALE SB. (2001) ,Carbohydrate and derived Products, drugs containing glycosides, drugs containing tannins, lipids and protein alkaloids. *Text book of Pharmacognosy*, 7, edition: 133 -166, 167- 254, 255-2 69, 272-310, 428-52 3.

Kossel, A. (1891). Ueber Abkömmlinge der Phenylamidoessigsäure. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*, 24(2), 4145-4156.

LEVERVE, X. (2009). Stress oxydant et antioxydants ? *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 44(5), pp.219-224.

Lillian B., Soraia F., Paula B., Cristina F., Miguel V.B. et Isabel Ferreira C.F.R. (2008). *Food Chemistry*. 111: 61-66.

Lugasi A., Hovari J., SagiK. et Biro L. (2003). The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases .*J. Acta .biologica. szegediensis*. 47 (1-4):119-125. (Cited in Mohammedi Z, 2005)

Madigan M.T., Martinko J.M., Parker J., (1997). Brock Biology of Microorganisms, Prentice Hall International Ed.,

MARFAK A., (2003). Radiolyse Gamma des Flavonoïdes. Etude de Leur Réactivité avec Les Radicaux issus des Alcools : Formation de depsides. Thèse de doctorat. Université de LIMOGES.187 p.

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

MERCIER, J. AND GODARD, P. (1995). Chimie organique. Lausanne: Presses polytechniques et universitaires romandes.

MIHI M., (2002). La lutte chimique contre le jujubier, Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA, Département Technique / Chimie (MARBAR), Casablanca, Sommaire n°94. Ministère de l'agriculture et du développement rural, Maroc.

Milane H. (2004). La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques, thèse de doctorat, Strasbourg.

(Milane, 2004). Milane H. (2004). La quercétine et ses derives: molécules à caractère peroxydant ou thérapeutiques. These de doctorat. Université LouisPasteur Strasbourg I.155p.

MOUNNI S., (2008)- Etude de la fraction glucidique des fruits de *Celtis australis* L ; *Crataegus azarolus* L ; *Crataegus monogyna* Jacq ; *Elaeagnus angustifolia* L ; et *Zizyphus lotus* L. Mémoire de Magister en Agronomie, Université de Batna, 80p.

Murray P.R., Baron E.J., Jorgensen J.H., Landry M.L., Pfaller M.A., (2007). Manual of Clinical Microbiology, 9.Ed. American Society of Microbiology Press,

Nakajima K, Nakano T, Tanaka A. (2006)— The oxidative modification hypothesis of atherosclerosis : The comparison of atherogenic effects on oxidized LDL and remnant lipoproteins in plasma. Clin Chim Acta, 367, 36-47.

NZENGUE Y. (2008). Comparaison des mécanismes de toxicité redox du cadmium, du cuivre et du zinc : place des métallothionéines et de p53. Thèse de Doctorat. Université Joseph fourier – Grenoble.297p

Okala A, Ladan M. J, Wasagu R.S.U., Shehu K., (2014-15) Phytochemical Studies and *In Vitro* Antioxidant Properties of *Ziziphus mauritiana* Fruit Extract, International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research; 6(4); 885-888.

ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE. (2000). Principes méthodologiques généraux pour la recherche et l'évaluation relatives à la médecine traditionnelle.

Oyaizu M. (1986). Studies on product of browning reaction prepared from glucosamine. *Japn. J. Nutri.* 44: 307-315..

OZENDA P., (1991). Flore de Sahara, 3ème édition mise à jour et augmentée. CNRS Paris, 662p.

PARIS R. ET DILLEMAN G., (1960)- Les plantes médicinales des régions arides. Unesco (Ed.) Paris.

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

PEACH K., TRACEY MV. (1956) Modern methods of plant analysis . Vol . 3, *Springer Verlag, Berlin* .

Persidis A ., (1999)Antibacterial and antifungal drug discovery. *Nature Biotechnology*, 17:1141-1142.

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

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

PETRUZZELLI, S., HIETANEN, E., BARTSCH, H., CAMUS, A., MUSSI, A., ANGELETTI, C., SARACCI, R. AND GIUNTINI, C. (1990). Pulmonary Lipid Peroxidation in Cigarette Smokers and Lung Cancer Patients. *Chest* , 98(4), pp.930-935.

PINCEMAIL J, MEURISSE M, LIMET R, DEFRAIGNE JO. (1998). Fumée de cigarette : une source potentielle de production d'espèces oxygénées activées. *Médiasphère*; 78 : 37-9.

Pokorny J., Yanishlieva N. et Gordon M. (2001). Antioxidants in food, practical applications. Woodhead publishing limited. ISBN 1 85573 463 X.

Prasad MM, Seenayya G. (2000). Effect of spices on the growth of red halophilic cocci isolated from salt cured fish and solar salt, *Food Research International*33: 793-798.

PRIETO, P., PINEDA, M., & AGUILAR, M. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Anal Biochem*, 269: 337–341.

PUNT W., MARKS A. ET HOEN P., (2003)- Rhamnacées, Review of Palaeobotany and Palynology, 123, 57-66

QUEZEL P. ET SANTA S., (1962, 1963) - Nouvelle flore en Afrique du Nord : Leurs incidences sur les problèmes de conservation. Actes Editions.

QUEZEL P., (2000)- Réflexions sur l'évolution de la flore et de la végétation au Maghreb méditerranéen. Ibis Press, Paris, 117p.

RAHMAN, I. AND MACNEE, W. (1996). Role of oxidants/antioxidants in smoking-induced lung diseases. *Free Radical Biology and Medicine*, 21(5), pp.669-681.

Ray C. G., (2004) Enteric Infections and Food Poisoning, Sherris Medical Microbiology, 4 Ed. McGraw Hill, USA, p. 857-865.

Rhayour K., (2002) Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Escherichia coli* , *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum* , Thèse de Doctorat de Biologie Cellulaire université de Fès, p.2.

RICCIARELLI, R., ZINGG, J. AND AZZI, A. (2000). Vitamin E Reduces the Uptake of Oxidized LDL by Inhibiting CD36 Scavenger Receptor Expression in Cultured Aortic Smooth Muscle Cells. *Circulation*, 102(1), pp.82-87.

ROCHETTE, L. (2008). Stress oxydant et sepsis. *Réanimation*, 17(6), pp.1-4

RSAISSI N. ET BOUHACHE M., (2002)- La lutte chimique contre le jujubier. Programme nationale. (94), 1 – 4

Saad A, Virella G, Chassereau Ch, et al.(2006)— OxLDL immune complexes activate complement and induce cytokine production by MonoMac 6 cells and human macrophages. *J Lipid Res*, 47, 1975-1983.

Sevanian A ., Nordenbrand K ., Kim E ., ErnesterL ., Hochstein P. (1990). Microsomal lipid peroxidation : The role of NADPH-cytochrome P450 reductase and cytochrome P450. *Free Radic Biol Med*, 8: 145-152

SELBY, C., DROST, E., WRAITH, P. AND MACNEE, W. (1991). Neutrophil Traffic Through the Lungs in Man. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 624(1), pp.353-354.

SIGNORINI, C., COMPORTI, M. AND GIORGI, G. (2003). Ion Trap Tandem Mass Spectrometric Determination Of F2-isoprostanes. *Journal Of Mass Spectrometry*, 38(10), PP.1067-1074.

SOULEY AMADOU B. (2004). Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Combretum glutinosum* Perr.ex DC (Combretaceae).Thèse de Doctorat .Université de Bamako.Mali.

SOLIMAN, K. M., & BADEAA, R. I. (2002). Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi. *Food and chemical toxicology*, 40(11), 1669-1675.

SPECKMANN , B., STEINBRENNER, H., GRUNE, T. AND KLOTZ, L. (2016). Peroxynitrite : From interception to signaling. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 595, pp.153-160.

STEFFIN, C. (1996). Paraquat poisoning: Mechanisms, prevention, treatment. *Toxicology*, 106(1-3), p.281.

STEINBERG D., PARTHASARATHYS., CAREW T.E., KHOO J.C., WITZTUM J.L.N. ENGL. J. MED., (1989), 320, p. 915

STERN JL; HAGERMAN AE; STEINBERG PD; MASON P.K., (1996). Phlorotannin- protein interactions. *Journal of Chemical Ecology*. 22 p 1887-1899.

SUKSAMRARN, S ; SUWANNAPOCH, N ; AUNCHAI, N ; KUNO, M ; RATANANUKUL SIDDHURAJU P ET MANIAN S. (2007).The antioxidant activity and free radical-scavenging capacity of dietary phenolic extracts from horse gram (*Macrotyloma uniflorum*(Lam.) Verdc.) seeds. *Food Chemistry*

TOUNKOB N., (2011)- Contribution à l'étude morphologique de *Zizyphus lotus* dans la région de Tlemcen. Thèse de Master en écologie et environnement. Facultés SNV/STU, Université de Tlemcen, 108p.

TREARE GE, EVANS WC. (1985) Pharmacognosy 17th edn., *Bahiv Tinal, London*. P 149.

WASTON L. ET DALLWITZ M., (1992)- The families of flow ring plants, heart disease risk factor study, pp: 133-8.

YOO K-M ., LEE C-H ., LEE H., MOON B-K ., LEE C-Y. (2008). Relative antioxidant and cytoprotective activities of common herbs. Food chemistry, 106:929-936.

YOO K-M ., LEE C-H ., LEE H., MOON B-K ., LEE C-Y. (2008). Relative antioxidant and cytoprotective activities of common herbs. Food chemistry, 106:929-936.

YOSHIKAWA T., YAMAMOTO Y., NAITO Y., (2000). Free radicals in chemistry, Biology and Medicine, Ed. Oica International, Londres,.

YUSUF, A.Z., ZAKIR, A., SHEMAU, Z., ABDULLAHI, M., HALIMA, S.A., (2014) Phytochemical analysis of the methanol leaves extract of *Paullinia pinnata* Linn., J. Pharma. Phyto.,; 6(2): 10-16.

ZHANG H, KONG B, XIONG YL, SUN X. (2009). Antimicrobial activities of spice extracts against pathogenic and spoilage bacteria in modified atmosphere packaged fresh pork and vacuum packaged ham slices stored at 4 °C, Meat Science81: 686-692

Annexe I

FICHE D'ENQUETE ETHNOBOTANIQUE

Fiche No.....

Lieu :

Sexe : M F

Age :

A₁ < 20 ; A₂ [20-30] ; A₃ [30-40] ; A₄ [40-50] ; A₅ > 50

Niveau d'éducation :

analphabete ; primaire ; moyenne ; secondaire ; universitaire

le situation économique :

faible ; moyenne ; bien

Origine de l'information :

PLANTE :

Nom scientifique			
Nom arabe			
Utilisation de cette plante	médicale	cosmétique	alimentaire
Temps de récolte			

Maladies traités	Partie utilisé		Mode de préparation
M₁ :			
M₂ :			
M₃ :			
M₄ :			
La durée de traitement			
Méthode de la préparation			
La dose journalière	enfant	adulte	femme en état de grossesse
Le procédé en cas d'intoxication			
Les effets secondaires de la plante			

