

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



UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID– TLEMCCEN
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE DE LA VIE, DES
SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE

LABORATOIRE DES SUBSTANCES NATURELS ET
BIOACTIVE(LASNABIO)

Mémoire en vue d'obtention du diplôme de :

MASTER EN INFECTIOLOGIE

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits phénoliques des
racines de *Zizyphus lotus*

Présentée par : Melle Yousra AGGAB

Melle Ikram BELAIDOUNI

Soutenu le 24/2021, devant le jury composé de :

Présidente :	Mme MEDJDOUB Houria	MCB	SNV Tlemcen
Examinatrice:	Mlle DJEZIRI Fatima zohra	MAB	SNV Tlemcen
Encadrante :	Mme GHALEM Meriem	MCA	SNV Tlemcen

Année académique : 2020-2021

Remerciements

Avant toute chose, On remercie **LE BON DIEU**, le tout puissant d'avoir donnée la force et la patience pour réaliser ce modeste travail.

Nous tenons tout particulièrement à remercier **Mme GHALEM Meriem**, notre encadrante d'avoir acceptée d'encadrer ce travail, nous la remercions pour sa précieuse aide et ses conseils, sa gentillesse, sa disponibilité et de sa rigueur scientifique.

Nous exprimons nos vifs remerciements à **Mr GHALEM Said**, professeur à l'université de Tlemcen faculté des sciences et directeur du laboratoire de recherche LASNABIO "Substances naturelles et bioactives", qui nous permet de réaliser notre travail au sein de son laboratoire.

Nos sincères remerciements à **Mme MEDJDOUB Houria**, pour l'honneur qu'elle nous a fait d'avoir acceptée la présidence du jury.

Nos remerciements s'adressent également à **Mme DJEZIRI Fatima Zohra**, qui nous fait l'honneur d'accepter d'être examinateur de ce travail et de participe à ce jury.

Un grand merci aux membre du laboratoire **LASNABIO** pour leurs soutiens.

Dédicaces

*A mes chers parents **Nabil** et **Aicha**.*

*Pour vos mains qui ont tant travaillées, Pour votre cœur qui m'a tant donné
Pour votre sourire qui m'a tant réchauffé, Pour vos yeux qui furent parfois
mouillés, Pour vous qui m'avez tant aimé.*

*Ce travail est le résultat de vos sacrifices. Vos efforts, Que Dieu le tout
puissant, vous protège et vous garde.*

*À mon cher frère **Mohamed**, ta bonté, ton précieux soutien, ton
encouragement et que dieu te protège, t'accordes santé succès et plein de
bonheur dans ta vie.*

*À mes chères sœurs (**Soundouss, Alae**), source de joie et de bonheur, je vous
souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le Tout-Puissant,
vous protège et vous garde.*

*À mon cher fiancé **RAHMI Benamar** pour l'amour et l'affection qui nous
unissent. Je ne saurais exprimer ma profonde reconnaissance pour le soutien
continu dont tu as toujours fait preuve. Tu m'as toujours encouragé, incité à
faire de mon mieux.*

*Je prie Dieu le tout puissant de préserver notre attachement mutuel, et
d'exaucer tous nos rêves.*

*À la mémoire de ma **Grand-mère paternelle***

*Puisse Dieu vous avoir en sa sainte miséricorde et que ce travail soit une
prière pour votre âme.*

*À ma **Grand-mère maternelle**, à toute ma famille.*

*À mes **cousines et cousins**.*

*À mon **binôme Ikram** et sa famille.*

*À mes **chères amies (Toumia, Imen, Ines, Houria)***

*En souvenir des moments heureux passés ensemble, avec mes vœux sincères
de réussite, bonheur, santé et de prospérité.*

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

*À ma chère mère **Hayat**,*

*À mon cher père **Kouider**,*

Qui n'ont jamais cessé ; de formuler des prières à mon égard, de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs. Pour leurs sacrifices et leurs conseils précieux tout au long de mes études, qui m'ont donné la tendresse, la confiance, le courage et la sécurité.

À mes chères sœurs (Imen, Razane).

À mon cher frère : Mohamed Anes

À mes cousines surtout Asma, Wissam

À toute ma famille.

À mes meilleures amies qui m'ont toujours ouvert les portes de l'espoir: Téma, Nadjat, Nihel, lounzya, Zakiya.

*À mon binôme : **Yusra** et sa famille.*

À mes ami(e)s de la promotion de master Infectiologie

À tous ceux qui existent au fond de mon cœur et de ma pensée.

Résumé

Les composés antioxydants font l'objet de nombreuses recherches, car, en plus d'être utilisés comme des conservateurs dans les aliments en remplaçant les antioxydants de synthèse, ils sont également impliqués dans le traitement de nombreuses maladies. Nous nous sommes intéressés dans ce travail à l'évaluation des propriétés antioxydantes des extraits phénoliques des racines de *Zizyphus lotus* (Rhamnacées), une plante utilisée dans la médecine traditionnelle. Les résultats obtenus montrent que la racine est riche en polyphénols dont la teneur est 23.2970027 EAG/g MS. L'évaluation du pouvoir antioxydant *in vitro* par la méthode de FRAP a montré que l'extrait de *Zizyphus lotus* a une forte activité antioxydante à faible concentration. Les tests de la cytotoxicité montrent que l'extrait phénolique de *Zizyphus lotus* ne présentent aucune toxicité pour des concentrations de (50-1000µg/ml).

Ces résultats sont très significatifs et montrent que l'extrait phénolique présente une propriété antioxydante.

Mots clés : cytotoxicité, réduction du fer, polyphénols, pouvoir antioxydant, *Zizyphus lotus*.

Abstract:

Antioxidant compounds are the subject of much research, because, besides being used as preservatives in foods replacing synthetic antioxidants, they are also involved in the treatment of many diseases. In this work, we are interested in the evaluation of the antioxidant properties of phenolic extracts of the roots of *Zizyphus lotus* (Rhamnaceae), a plant used in traditional medicine. The results obtained show that the root is rich in polyphenols whose content is 23.2970027 EAG/g MS. The evaluation of the antioxidant power in vitro by FRAP method showed that the extract of *Zizyphus lotus* has a strong antioxidant activity at low concentration. Cytotoxicity tests show that the phenolic extract of *Zizyphus lotus* does not show any toxicity for concentrations of (50-1000µg/ml).

These results are very significant and show that the phenolic extract exhibits antioxidant property.

Keywords: cytotoxicity, iron reduction, polyphenols, antioxidant power, *Zizyphus lotus*.

ملخص

تُعتبر المركبات المضادة للأكسدة موضوع الكثير من الأبحاث لأنها ، بالإضافة إلى استخدامها كمواد حافظة في الأطعمة عن طريق استبدال مضادات الأكسدة الاصطناعية ، فهي تشارك أيضًا في علاج العديد من الأمراض. نحن مهتمون في هذا العمل بتقييم الخصائص المضادة للأكسدة للمستخلصات الفينولية من جذور نبات السدر، وهو نبات يستخدم في الطب التقليدي. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن الجذر غني بالبوليفينول ومحتواها / EAG جم 23.2970027DM.

أظهر تقييم قوة مضادات الأكسدة في المختبر بواسطة طريقة قدرة إرجاع شوارز الحديد لمستخلص نبات السدر، أن له نشاط مضادًا للأكسدة قويًا بتركيز منخفض.

أظهرت اختبارات السمية أن المستخلصات الفينولية لنبات السدر لا تظهر سمية بتركيزات (50-1000 ميكروجرام / مل).

هذه النتائج مهمة للغاية وتظهر أن خلاصة الفينول لها خاصية مضادة للأكسدة.

الكلمات المفتاحية: السمية، إرجاع شوارز الحديد، البوليفينول، قوة مضادات الأكسدة، نبات السدر.

Sommaire

Remerciements	
Dédicaces.....	
Dédicaces.....	
Résumé	
Abstract:	
ملخص.....	
Sommaire.....	
Abréviations	
Tableaux	
Figures	
Introduction générale.....	1
Objectifs	2
1 Chapitre I: Stress oxydatif	3
1.1 Définition du stress oxydatif :	4
1.2 Définition d'un radical libre ou ROS :	5
1.3 Les antioxydants :	5
1.3.1 Les antioxydants enzymatiques :	6
1.3.2 Les antioxydants non enzymatiques :	6
1.4 Les marqueurs biologiques de stress oxydant :	7
1.5 Les maladies liées au stress oxydatif :	8
1.6 Alimentation et stress oxydant :	8
2 Chapitre II: Les polyphénols	9
2.1 Généralités.....	10
2.2 Les principales classes des composés phénoliques :	11

2.2.1	L'acide phénolique :	12
2.2.2	Tanins :	12
2.2.3	Les flavonoïdes :	12
2.2.4	Lignanes :	13
2.3	Propriétés biologiques des polyphénols :	13
3	Chapitre III: <i>Zizyphus lotus</i>	14
3.1	Présentation de <i>Zizyphus lotus</i> :	15
3.2	Nomenclatures du <i>Zizyphus lotus</i> :	15
3.3	Noms régionaux.	16
3.4	Classification botanique :	16
3.5	Origine géographique :	16
3.5.1	Dans le monde :	16
3.5.2	En Algérie :	16
3.6	Composition biochimique de <i>Zizyphus lotus</i> :	17
3.6.1	Métabolites primaires :	17
3.6.2	Métabolites secondaires :	18
3.7	Activités biologiques et thérapeutiques de <i>Zizyphus lotus L</i> :	18
3.7.1	Activités antioxydantes :	19
3.7.2	Activités inflammatoires et analgésiques :	19
3.7.3	Activités antiulcérogènes :	19
3.7.4	Activités antimicrobiens :	19
4	Chapitre IV: Matériel et méthodes	20
4.1	Matériel :	21
4.1.1	Matériel végétal :	21
4.1.2	Extraction des polyphénols totaux :	21
	• Mode opératoire :	21
	• Détermination de rendement :	22

Sommaire

4.1.3	Dosage des polyphénols totaux :	23
•	Mode opératoire :.....	23
4.1.4	Test de cytotoxicité :.....	23
•	Mode opératoire :.....	23
4.2	L'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait phénolique de <i>Zizyphus lotus</i> :24	
4.2.1	Pouvoir réducteur du fer (FRAP : FerricReducing Antioxydant Power) : 25	
•	Mode opératoire :.....	25
	26
4.3	Étude statistique :.....	26
5	Chapitre V: Résultats et interprétations.....	27
5.1	Rendement de l'extrait phénolique brut de <i>Zizyphus lotus</i> :.....	28
5.2	Dosage des polyphénols totaux :.....	28
5.3	Test de cytotoxicité :	29
5.4	Activité antioxydante d'extrait phénolique de la plante étudiée :.....	29
	Discussion.....	31
	Conclusion générale	35
	Références bibliographiques.....	38

Abréviations

O.M.S: **O**rganisation **M**ondiale de la **S**anté.

ERO, ROS: **E**spèces **R**éactive de l'**O**xygène.

FRAP: **F**erric **R**educing **A**ntioxidant **P**ower | Capacités réductrices ferriques d'antioxydants (Ferric reducing/antioxidant power).

SOD: **S**uper **O**xide **D**ismutase | Super Oxyde Dismutase.

GPx: **G**lutathion **P**eroxydase | catalase et glutathion peroxydase.

OTF: **O**ligomères **F**lavonoïdes **T**otaux.

NO: Monoxyde d'Azote.

OH: Groupe Hydroxyle.

ROO•: Radical Peroxyle.

O₂ - : Radical Superoxyde.

BHT : Butylhydroxytoluène.

Fe : Fer.

Fe³⁺ : Fer ferrique.

Cu: Cuivre.

Mg: Milligramme.

Min: Minute.

ml: Millilitre.

Nm: Nanomètre.

T°: Température.

V/V: Volume à Volume.

PH: **P**otentiel d'**H**ydrogène.

GRh: **G**lobule **R**ouge **R**hésus.

Tableaux

Tableau 1. Exemple de produits dosés couramment pour rendre compte de l'oxydation d'une cible moléculaire donnée. (Cano, 2007).....	Error! Bookmark not defined.
Tableau 2. La position systématique de <i>Zizyphus lotus</i> selon (Quezel et Santa., 1962).	16
Tableau 3. Pourcentage des compositions primaires du <i>Zizyphus lotus</i> . (Chouaibi., 2011)	17
Tableau 4. Composition en métabolites secondaires des différents organes du <i>Zizyphus lotus</i> . (Borgi et al., 2007(a) : Borgi et al., 2007(b))	18
Tableau 5. Rendement de l'extrait phénolique brut des racines de <i>Zizyphus lotus</i>	28
Tableau 6. La teneur en polyphénols de l'extrait brut des racines de <i>Zizyphus lotus</i>	28

Figures

Figure 1. Déséquilibre de la balance entre pro-oxydants et antioxydants.	4
Figure 2. Formation des radicaux libres.	5
Figure 3. Action des antioxydants sur les radicaux libres.	6
Figure 4. Réaction enzymatique de piégeage des espèces réactives oxygénées ERO. (Halliwell,2006).....	6
Figure 5. Squelette de base des composés phénoliques (Girotti-Chanu, 2006).....	10
Figure 6. Les différentes classes des polyphénols.	11
Figure 7. Structure générale des flavonoïdes.....	13
Figure 8. Morphologie générale de <i>Zizyphus lotus</i>	15
Figure 9. Aire de répartition du <i>Zizyphus lotus L</i> en Algérie. (Quezel et Santa., 1962).....	17
Figure 10. Poudre des racines de <i>Zizyphus lotus</i>	21
Figure 11. Protocole d'extraction des polyphénols totaux.	22
Figure 12. Protocole d'évaluation de test de cytotoxicité sur l'extrait des racines de <i>Zizyphus lotus</i>	24
Figure 13. Protocole d'évaluation du pouvoir réducteur de l'extrait phénolique des racines de <i>Zizyphus lotus</i> (Pan et al., 2008).....	26
Figure 14. Taux d'hémolyse % de <i>Zizyphus lotus</i> et l'acide gallique. Poly ZL : extrait phénolique des racines de <i>Zizyphus lotus</i> AG : acide gallique.	29
Figure 15. Réduction de fer des extraits des racines de <i>Zizyphus lotus</i>	30

Introduction générale

La découverte d'espèces chimiques radicalaires présentes de façon normale dans l'organisme humain a bouleversé notre compréhension des mécanismes biologiques. Ces radicaux libres, utiles pour l'organisme, sont produits à dose raisonnable par divers mécanismes physiologiques. Cependant, cette production peut devenir excessive dans certains cas ce qui mène l'organisme à se protéger par différents systèmes antioxydants.

Dans les circonstances quotidiennes normales, des radicaux libres sont produits en permanence en faible quantité comme les médiateurs tissulaires ou les résidus des réactions énergétiques ou de défense, cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense, d'ailleurs adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents. Dans ces cas, l'équilibre antioxydant / pro oxydant est équilibré, mais dans certains cas, en raison d'une production excessive de radicaux libres (tabac, alcool, pollution et certaines maladies, comme le diabète, le cancer, le sida, l'inflammation, les maladies cardiaques vasculaires) ou diminution de la capacité antioxydante (apport insuffisant en micronutriments antioxydants, inactivation enzymatique) un déséquilibre peut se produire entre la production de radicaux libres et le système de défense qui est à l'origine des changements de l'état redox des cellules, appelé stress oxydatif. **(Pincemil et al., 2000)**

Les plantes médicinales ont toujours joué un rôle très important dans la santé **(Carillon, 2000)**. En effet, les substances naturelles des plantes représentent le premier réservoir de nouveaux médicaments et représentaient actuellement près de 60 % des médicaments dans le monde **(OMS, 2000)**. Les 40% restants représentent des médicaments dont la synthèse provient généralement de la synthèse chimique de molécules ou de parties de molécules naturelles prises comme tête de séries **(Fouché et al., 2000)**. Ainsi, les effets biologiques des polyphénols, entre autres ses propriétés antioxydants intrinsèques, ont été évalués dans de nombreuses études.

Des études *in vitro* ont montré que les polyphénols ont des effets protecteurs sur les modèles de stress oxydatif.

Dans ce contexte général, nous nous sommes consacrés dans le cadre de ce travail de recherche à l'étude de l'activité antioxydante des extraits phénoliques de la racine de

Zizyphus lotus, plante largement utilisée dans la médecine traditionnelle comme un traitement de certaines maladies : les troubles digestifs, la faiblesse, les affections du foie, l'obésité, les troubles urinaires, le diabète, les infections cutanées, la fièvre, la diarrhée.

Dans la première partie, nous avons effectué une étude bibliographique composée de trois chapitres ; notions générales de stress oxydatif, les composés phénoliques et ses propriétés biologiques et enfin la présentation de notre plante étudiée de manière générale avec addition de son activité biologique et thérapeutique.

Ensuite, nous détaillons dans le deuxième chapitre de ce travail la démarche expérimentale employée pour l'extraction et la détermination de la teneur en polyphénols totaux ce qui a permis d'évaluer la capacité antioxydante des extraits de plantes grâce au test FRAP.

Enfin, nous clôturons ce travail par une conclusion générale qui résume les différents résultats obtenus dans le cadre de ce projet de fin d'études. Nous présentons également les perspectives futures pouvant éventuellement enrichir ce travail et donner suite à ses objectifs.

Objectifs

- Quantifier le taux des polyphénols totaux des racines de *Zizyphus lotus*.
- Tester la toxicité de l'extrait phénolique des racines de *Zizyphus lotus in vitro*.
- Étudier son activité antioxydante par le test FRAP (ferricreducing antioxydant power).

1 Chapitre I:

Stress oxydatif

1.1 Définition du stress oxydatif :

Le stress oxydatif est défini comme un déséquilibre entre les systèmes pro-oxydants et les antioxydants, en faveur des premiers, il est impliqué dans le développement de plusieurs maladies (Atamer, 2008) (figure1).

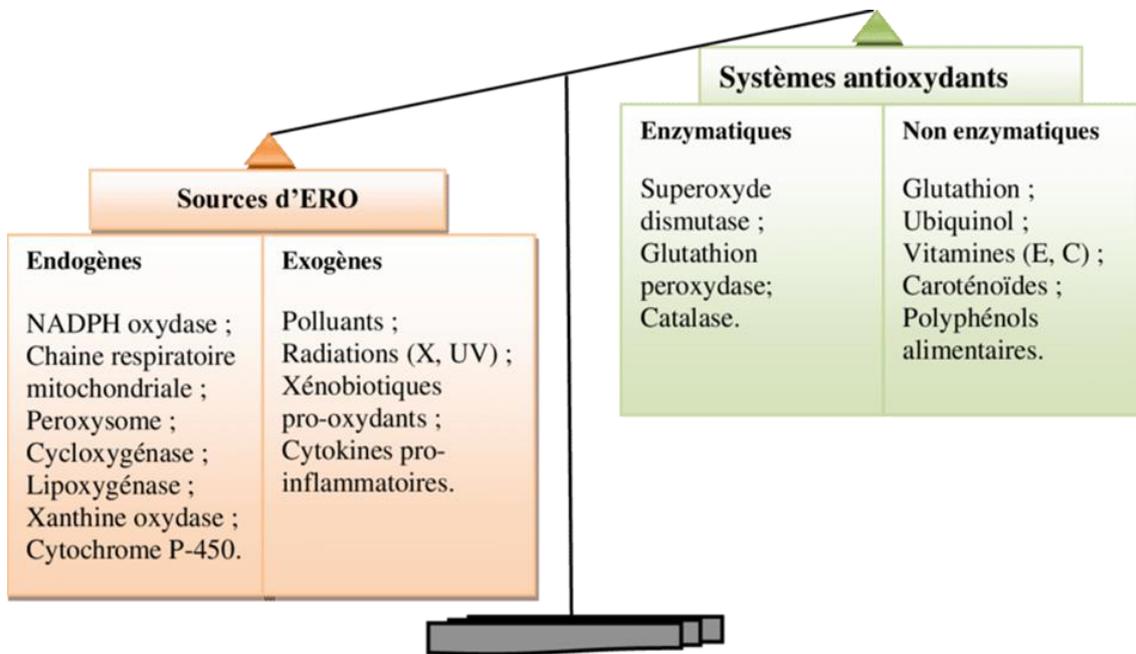


Figure 1. Déséquilibre de la balance entre pro-oxydants et antioxydants.

1.2 Définition d'un radical libre ou ROS :

Un radical libre est une substance chimique avec un seul électron, ce qui le rend réactif avec d'autres molécules. Selon la nature des radicaux libres, cela est variable. En biologie, les radicaux libres sont généralement formés par le gain d'électrons d'O₂(**figure 2**).

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) comprennent tous les dérivés radicaux libres de l'oxygène (O₂⁻, OH[•], NO[•], ROO[•]), ainsi que les composés non radicaux (ROOH, H₂O₂, 1O₂) (**Milane, 2004**).

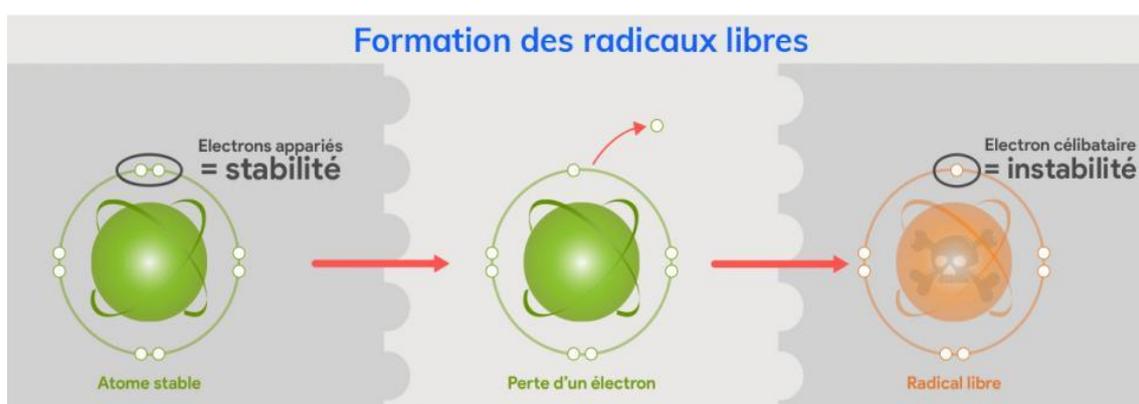


Figure 2. Formation des radicaux libres.

Il est donc important d'évoquer le paradoxe de l'O₂: il est essentiel au fonctionnement cellulaire, mais c'est aussi une source de ROS, qui peut endommager les macromolécules biologiques (ADN, protéines, phospholipides membranaires) (**Droge, 2002**). ROS participe à la prolifération cellulaire et à la mort cellulaire programmée en agissant comme un second messager (**Thannickal et Fanburg, 2000; Droge, 2002**).

1.3 Les antioxydants :

Les antioxydants sont un groupe de molécules susceptibles d'inhiber directement la production, de limiter la propagation ou de détruire les ERO. Ils peuvent agir en réduisant ces espèces, en les piégeant pour former des composés stables, en isolant le fer libre, ou en générant du glutathion (**Favier, 2003 ; Dan, 2008**).

Impliquent de nombreux antioxydants, principalement le système enzymatique Et non enzymatique (**Amadou, 2004; Yoo et al., 2008**) (**figure 03**).

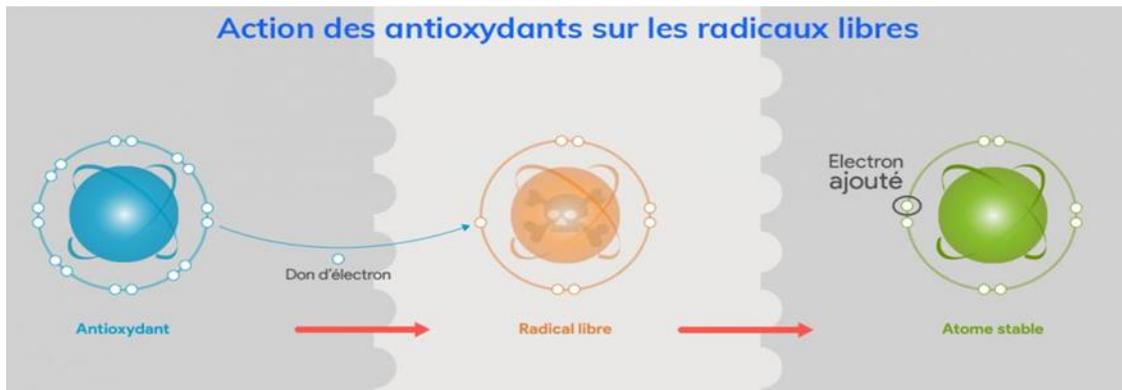


Figure 3. Action des antioxydants sur les radicaux libres.

1.3.1 Les antioxydants enzymatiques :

Cette ligne de défense est principalement composée de trois enzymes: le superoxyde Dismutase (SOD), catalase et glutathion peroxydase (GPX) (**figure 4**)

Ces enzymes ont des effets complémentaires sur la cascade des radicaux libres au niveau de superoxyde et le peroxyde d'hydrogène, conduisent finalement à la formation d'eau et d'oxygène moléculaire.

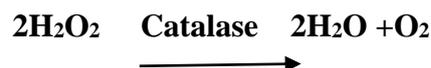
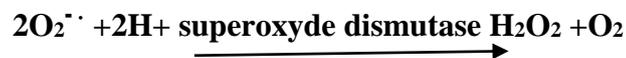


Figure 4. Réaction enzymatique de piégeage des espèces réactives oxygénées ERO.
(Halliwell,2006)

1.3.2 Les antioxydants non enzymatiques :

Ce groupe des antioxydants contient les protéines de séquestration des métaux, qui agissent en réduisant 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, certaines molécules de bas poids moléculaire agissent soit comme les cofacteurs de ces enzymes mentionnés soit comme des propres antioxydants. (**Antwerpen, 2006**)

Les antioxydants à action directe peuvent donner des électrons à l'oxygène des radicaux libres, ainsi, ils peuvent le capturer et l'empêcher d'attaquer les structures biologiques. Ils peuvent agir en tant qu'agent réducteur capable de transférer des électrons vers des ROS et de les éliminer (**Kohen et al. Nyska, 2002**). Ces molécules proviennent de sources endogènes (glutathion, mélatonine, acide urique, mélanine, etc.) ou des sources exogènes fournies par les aliments (comme Vitamine C, vitamine E les caroténoïdes). (**Curtay et Robin, 2000**), les polyphénols (**Yoo et al., 2008**) surtout les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les coumarines. (**Siddhuraju, 2007**)

1.4 Les marqueurs biologiques de stress oxydant :

Une production excessive des radicaux libres endommagera directement les biomolécules: oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides et des glucides, mais est également une maladie secondaire causée par les propriétés cytotoxiques et mutagènes des métabolites particulièrement libérés lors de l'oxydation des lipides. Identification des dérivés d'oxydation de ces différents substrats deviendra donc un signe de stress oxydant. (**Cano, 2007**) (**tableau 1**)

Tableau 1.Exemple de produits dosés couramment pour rendre compte de l'oxydation d'une cible moléculaire donnée (**Cano, 2007**)

Cible	Produit	Exemples
ADN	ADN oxydé	8-hydroxy-2 , déoxyguanosine
Lipide	Lipide peroxydé	Malondialdéhyde (MDA), isoprostane
Protéines	Protéine oxydée	Groupe carbonyle, tyrosine hydroxylée

1.5 Les maladies liées au stress oxydatif :

Le stress oxydatif est la principale cause de plusieurs maladies: cancer, Cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aiguë, œdème Maladies pulmonaires, vieillissement accéléré, maladie d'Alzheimer, maladie de Parkinson, infections intestinales, Rhumatisme, athérosclérose, diabète (**Atawodi, 2005; Georgetti et al., 2003**).

1.6 Alimentation et stress oxydant :

La génération de ROS peut se produire en réponse à divers stimuli au niveau cellulaire, par exemple, surcharge métabolique causée par un apport excessif des macronutriments.

En effet, lorsque l'apport calorique dépasse la dépense énergétique, l'augmentation induite des calories un substrat excessif active le cycle de Krebs, conduisant à la formation des ROS. Par conséquent, un apport élevé en macronutriments peut induire la production de ROS (**CodonerFranchet al.,2011**). Une étude a montré que 75 grammes de glucose induit une augmentation de la production de superoxyde dans les globules blancs puis libère en milieu extracellulaire (**Mohanty et al., 2000**). Les mêmes résultats observés après ingestion des graisses saturées (**Mohanty et al., 2000**). Par conséquent, un repas riche en graisses et en glucides peut provoquer une oxydation, avec la production de ROS dans le corps du patient, cela conduit à des maladies inflammatoires plus graves et plus durables : obésité (**Patel et al., 2007**).

2 Chapitre II:

Les polyphénols

2.1 Généralités.

Les polyphénols sont une série de molécules largement distribuées dans le règne végétal des racines des plantes aux fruits. Les polyphénols sont des métabolites secondaires, ce qui signifie qu'ils n'ont pas de fonction directe au niveau des activités de base des organismes végétaux (comme la croissance ou la production). (Fleuriet, 1982 ; Yusuf, 2006).

Le terme « composé phénolique » est utilisé pour toutes les substances chimiques qui ont un ou plusieurs noyaux aromatiques avec un ou plusieurs groupes hydroxyle dans leur structure (figure 5) (Bloor, 2001). Un nombre considérable de ces composés est formé de deux cycles benzéniques A et B reliés par des hétérocycles de type pyranne. La différence entre ces composés est la position de substitution sur les noyaux A et B, la nature de l'élément central, la position, la nature et le nombre des molécules de sucre connectées, et la nature de la liaison hétéropoly (Bloor, 2001; Da Costa, 2003).

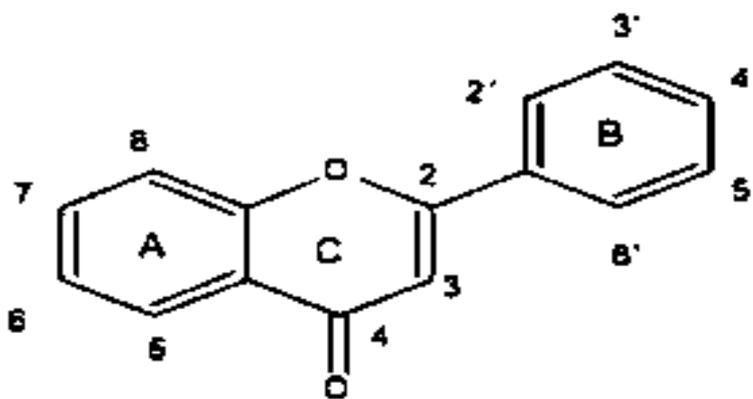


Figure 5.Squelette de base des composés phénoliques (Girotti-Chanu, 2006).

Les polyphénols sont des produits de condensation de molécules d'acétyl-CoA et de phénylalanine.

2.2 Les principales classes des composés phénoliques :

Selon **Harborne (1998)**, on peut distinguer différents types de polyphénols en fonction du nombre d'atomes constitutifs d'une part et de la structure du squelette de base d'autre part (**figure 6**).

Quatre catégories principales sont largement utilisées :

- Les acides phénoliques (acides hydroxybenzoïques, acides hydroxycinnamiques).
- Les flavonoïdes.
- Les tanins et lignines.
- *Plus rares les coumarines, les stilbènes.*

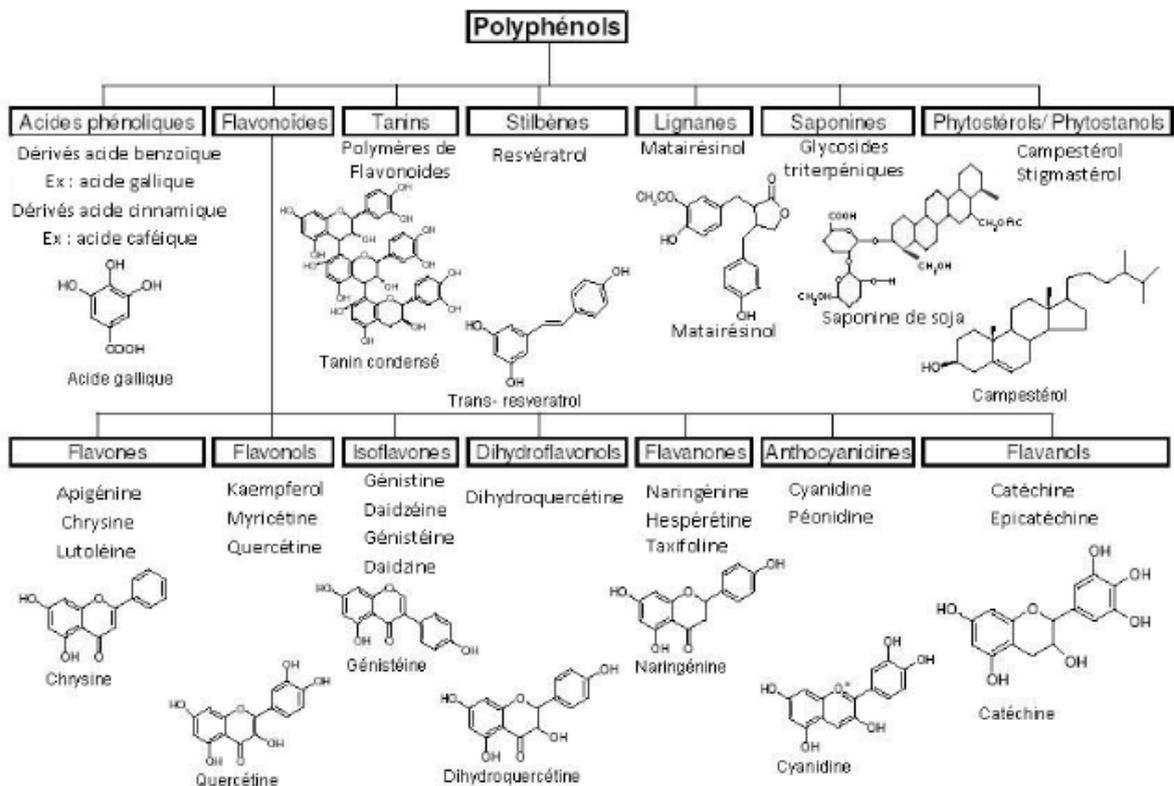


Figure 6. Les différentes classes des polyphénols.

2.2.1 L'acide phénolique :

Les aliments sont riches en acides phénoliques, qui peuvent être divisés en deux catégories: les dérivés de l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique. L'acide hydroxycinnamique est plus courant que l'acide hydroxybenzoïque et comprend principalement l'acide coumarique, l'acide caféïque, l'acide férulique et l'acide érucique (**Pandey et Rizvi, 2009**).

2.2.2 Tanins :

Le tanin est défini comme un composant polyphénol ayant un poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Daltons (**Selvakumar et al., 2007**).

Selon Scalbert en 1991, ils peuvent être divisés en deux catégories:

Les tanins hydrolysables: appelés tanins pyrogalliques, sont des polyesters de glucides et d'acides phénoliques. On distingue 2 types les tanins galliques et les tanins éllagiques.

Ils sont caractérisés par des sels ferriques, le précipité résultant est bleu noir (**Trease et Evans, 1987**). Les tanins galliques donnent la coloration rose avec l'iodate de potassium (l'acide gallique libre est coloré en orange par ce réactif).

Tanins condensés: Leur structure est similaire à celle des flavonoïdes et ils n'ont pas de sucre dans leurs molécules. Ils sont composés de deux ou plusieurs molécules de flavan-3-ols, qui sont reliées par des liaisons carbone-carbone, caractérisé par le sel de fer, le précipité coloré obtenu est brun-vert (**Trease et Evans, 1987**). En présence de chlorhydrate de vanilline, les tanins condensés sont colorés en rouge (**Paris et Hurabielle, 1981**).

2.2.3 Les flavonoïdes :

Les flavonoïdes désignent une variété de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (**Marfak, 2003**). Ces molécules sont considérées comme des pigments dans les plantes. Ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois même des feuilles (**Bruneton, 1999**). Ils existent le plus souvent naturellement sous forme d'hybrides (**Ghestem et al., 2001**) (**figure 7**).

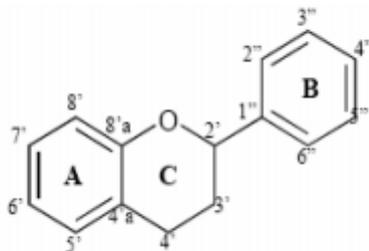


Figure 7. Structure générale des flavonoïdes.

2.2.4 Lignanes :

La formation de ces composés implique la condensation d'unités phénylpropaniques (C6-C3). Elles sont largement distribuées dans les plantes.

2.3 Propriétés biologiques des polyphénols :

De nos jours, les propriétés des polyphénols ont été largement étudiées dans le domaine médical et ils sont considérés comme antiviraux, antitumoraux, anti-inflammatoires, antiallergiques et anticancéreux. Ils ont également un effet positif sur l'obésité, le diabète, la maladie d'Alzheimer et la maladie de Parkinson.

Les polyphénols peuvent également contrôler la croissance et développer les plantes en interagissant avec diverses hormones végétales de croissance. Ils permettent aux plantes de résister aux rayons ultraviolets certains d'entre eux agissent comme des antitoxines végétales, comme l'alcool isoflavone. Infections causées par des champignons ou des bactéries. (Makoi et Ndakidemi, 2007)

Les recherches de Landolfi et coll (1984) ont montré que certains polyphénols anti-inflammatoires peuvent modifier le métabolisme de l'acide arachidonique dans les Plaquettes.

3 Chapitre III:

Zizyphus lotus

3.1 Présentation de *Zizyphus lotus* :

Zizyphus lotus (jujubier) est une sorte de fruit appartenant à la famille des Rhamnacées, un arbuste épineux (**Bamouh, 2002**). Communément appelé "Sedra" en Afrique du Nord (**Borgi et al., 2007**). Il forme des touffes de quelques mètres de diamètres jusqu'à 2m de hauteur. (Figure 8)



Figure 8. Morphologie générale de *Zizyphus lotus*.

3.2 Nomenclatures du *Zizyphus lotus* :

Nom scientifique	<i>Zizyphus lotus</i> Lam.
Synonymes	<i>Zizyphus Lotus</i> L. aussi connu sous le nom de Jujubier des Lotophages ou Jujubier de Berbérie (Baba Aissa., 1999).
Autres Synonymes	<i>Zizyphus sativus</i> creat, <i>Zizyphus orthacantha</i> DC (Von Maydelle., 1990).

→ Arabe :	Sedrza, Djerdjer, Azar, N' beg.
→ Français :	Jujubier sauvage ou Jujubier des Lotophages, Jujubier, Dindonnier.

→ Italien :	Giuggioloselvatico(Baba Aissa.,1999 ;Borgi et al .,2007).
-------------	--

3.3 Noms régionaux.

3.4 Classification botanique :

Règne	Végétale.
Embranchement	Spermatophytes.
Sous embranchement	Angiospermes.
Sous classe	Dicotylédone.
Ordre	Célastrale.
Famille	Rhamnacées.
Genre	<i>Zizyphus</i> .
Espèce	<i>Zizyphus lotus L.</i>

Tableau 2. La position systématique de *Zizyphus lotus* selon (**Quezel et Santa., 1962**).

3.5 Origine géographique :

3.5.1 Dans le monde :

Il existe environ 100 espèces du genre *Zizyphus*, principalement réparties en Asie et en Amérique tropicales et subtropicales, tandis que quelques espèces vivent en Afrique et dans les régions tempérées (**Bonnet., 2001**).

3.5.2 En Algérie :

Zizyphus Lotus L. est réparti dans les régions arides du sud de l'Algérie, dans le climat aride de l'Ain Ouessara et de la Maessad (wilaya de Djelfa), et la wilaya de Taghit à Bechar a un climat saharien. (**Mounni, S., 2008**)

Zizyphus lotus provient de la wilaya de Tlemcen (Zarifète) située à l'Ouest algérien entre 35°05' et 35°25' de latitude nord et entre 0°15' et 2°15' de longitude ouest.



Figure 9. Aire de répartition du *Zizyphus lotus L* en Algérie. (Quezel et Santa., 1962)

3.6 Composition biochimique de *Zizyphus lotus* :

3.6.1 Métabolites primaires :

Des études phytochimiques sur *Zizyphus lotus* montrent la présence de métabolites primaires et secondaires. (Catoir et al., 1999) (tableau3)

Les graines de *Zizyphus lotus* sont une source intéressante de matières grasses. (Bellakhdar, 1997)

Protéines	19.11%
Carbohydrates	40.87%
Lipides	32.92%
Sucres	20%

Tableau 3. Pourcentage des compositions primaires du *Zizyphus lotus*. (Chouaibi., 2011)

Vitamine A : Les vitamines sont impératives en période de croissance. (Hercberg et al, 1998)

3.6.2 Métabolites secondaires :

Le *Zizyphus lotus* en tant que plante médicinale synthétise de nombreux composés appelés métabolites secondaires, tels que les polyphénols (flavonoïdes, tanins), les triterpènes, les anthraquinones, les alcaloïdes (cyclopeptides et isoquinolides), les saponosides. (Catoire et al., 1994; Borgi et Chouchane., 2006) (tableau04)

Organe végétal	Composition chimique	Références
Écorce des racines	-tanins -flavonoïdes, saponines de type damarane -alcaloïdes cyclopeptidiqueslotusines A-G	(Borgi et al., 2007(a)). (Borgi et al., 2007(b)).
Fruits	-flavonoïdes, tanins, saponine,alcaloïdes	(Borgi et al ., 2007(b)).
Feuilles	- flavonoïdes, tanins, alcaloïdes - saponine de type dammarane : . Jujuboside B . Jujubogenin glycosides . dérivé sulfaté de jujubosaponine	(Borgi et al., 2007(b)). (Macuik et al., 2004).

Tableau 4. Composition en métabolites secondaires des différents organes du *Zizyphus lotus*. (Borgi et al., 2007(a) : Borgi et al., 2007(b))

3.7 Activités biologiques et thérapeutiques de *Zizyphus lotus* L:

Zizyphus Lotus L. est une plante médicinale utilisée en médecine traditionnelle dans de nombreux pays. Elle a des effets calmants, toniques et anti-inflammatoires. (Ghedira., 1995 ; Claudine, 2007 ; Mounni., 2008)

- La feuille de *Zizyphus lotus* a un effet analgésique, qui est attribué à la teneur en ses composants actifs ; flavonoïdes et saponines (Borgi et al., 2007). Ils sont également utilisés contre les piqûres des vipères au Sahara. (Benchalah., 2004)
- Le décocté des racines est utilisé par les personnes diabétique comme hypoglycémiant (Lahlou.,2002 ; Allali.,2008)

- Les fruits sont préconisés dans le traitement de gorge et les affections respiratoires (**Baba Aissa.,1999 ; Borgi.,2007**). *Zizyphus lotus* L. est également utilisé pour soigner le tube digestif et le foie. (**Baba Aissa.,1999**)

L'industrie pharmaceutique moderne recherche encore largement sur la diversité des molécules à différentes activités pharmacologiques de *Zizyphus lotus*. Parmi ces effets on souligne les plus importants :

3.7.1 Activités antioxydantes :

La concentration de diverses vitamines (vitamines A, C et E) et acides gras dans les racines, les tiges, les feuilles, les fruits et les grains de *Zizyphus Lotus* L., sont évaluées l'activité de son extrait aqueux sur le statut antioxydant (**Benammar, 2010**).

3.7.2 Activités inflammatoires et analgésiques :

L'effet anti-inflammatoire est causé par les saponines des racines et les oligomères flavonoïdes totaux (OTF). L'équipe de recherche (**Borgi et Chouchane.,2007**) a montré que les saponines et les OTF d'écorce de racine de *Zizyphus Lotus* L. peuvent minimiser l'œdème racinaire de la patte (induite expérimentalement chez la souris)

De plus, la même équipe de recherche a également prouvé que d'autres, extraits de racines (eau, chloroforme, acétate d'éthyle et méthylaldéhyde) et extraits de feuilles, ont des effets anti-inflammatoires et analgésiques. (**Borgi et al., 2008**)

3.7.3 Activités antiulcérogènes :

(**Borgi et al., 2008**) ont montré des effets gastro-protecteurs des tanins et des flavonoïdes sur l'activité anti-ulcérogénique des extraits aqueux de racines, de feuilles et de fruits de *Zizyphus lotus* L.

3.7.4 Activités antimicrobiens :

Il a été prouvé que l'extrait d'éther de pétrole, de chloroforme, d'acétate d'éthyle et de méthanol de *Zizyphus Lotus* L. à une activité élevée contre neuf champignons pathogènes *in vitro*. (**Lahlou et al., 2002 ; Ghedira et al., 1995**).

4 Chapitre IV:

Matériel et méthodes

4.1 Matériel :

4.1.1 Matériel végétal :

La plante étudiée *Zizyphus lotus*, récoltés des régions de Tlemcen en décembre 2020 a été triée, séchée à l'obscurité pendant une vingtaine de jours. Une fois séchées, les racines ont été concassées au broyeur sous forme de poudre (**Figure 10**). Cette poudre végétale subira une étape de dégraissage.



Figure 10. Poudre des racines de *Zizyphus lotus*.

4.1.2 Extraction des polyphénols totaux :

Après un dégraissage de 6 heures, la poudre végétale ainsi récupérée va être soumise à une macération hydro alcoolique.

L'extraction des composés phénoliques consiste à macérer à froid l'échantillon (la poudre dégraissée) à analyser dans une solution de méthanol aqueuse pendant 24h. Après filtration, la solution est évaporée à sec par un évaporateur rotatif sous pression réduite à 40°C (**Yu et Dahlgren, 2005**).

- **Mode opératoire :**

5g de la poudre dégraissée est soumis à une macération dans un mélange méthanol / eau (70/30: v/v) pendant 24 heures. Cela permet une meilleure extraction des composés polyphénols. Après filtration, la solution est évaporée à sec par un évaporateur rotatif sous pression réduite 40°C.



1. Dégraissage des lipides



2. Macération



3. Filtration

Figure 11. Protocole d'extraction des polyphénols totaux.

- **Détermination de rendement :**

Le rendement désigne la masse de l'extrait déterminée après évaporation du solvant, il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale de la plante soumise à l'extraction.

La formule de calcul du rendement d'extraction est la suivante :

$$Rdt \% = \frac{M \text{ ballon après évaporation} - M \text{ ballon vide}}{M \text{ échantillon}} * 100$$

Avec :

- **M** extrait (M ballon après évaporation-M ballon vide) = masse de l'extrait en gramme.
- **M** échantillonne = masse de l'échantillon en gramme (M échantillon = 5 g).

(Boubekri, 2014)

4.1.3 Dosage des polyphénols totaux :

La teneur en polyphénols totaux des extraits des plantes est déterminée par la méthode de **Singleton et Ross** (1965) utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu.

Le Folin-Ciocalteu est un acide jaune constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Le principe de cette méthode repose sur l'oxydation des composés phénoliques par le réactif. (Vermerris et Nicholson, 2006)

Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif Folin-Ciocalteu en un complexe bleu composé d'oxyde de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est directement proportionnelle à la teneur en composés phénoliques oxydés. (Boizot et Charpentier, 2006)

- **Mode opératoire :**

200 μ l de l'extrait est ajouté à 1 ml du réactif de Folin Ciocalteu dilué 10 fois, puis on ajoute 800 μ l d'une solution de carbonate du sodium (Na_2CO_3) (75g/l) après 30 minutes d'incubation, et à l'obscurité, l'absorbance a été mesurée à 765 nm.

Les concentrations des polyphénols sont réalisées à partir des gammes d'étalonnage établies avec l'acide gallique et sont exprimées en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (μ g EA/g MS).

4.1.4 Test de cytotoxicité :

Le principe de ce test est de mettre en contact des hématies avec l'extrait à différentes concentrations (50-1000 μ g/ml) dans une solution isotonique et de suivre le taux d'hémoglobine libérée par les cellules hémolyses, dans le but d'évaluer la cytotoxicité de l'extrait, vis-à-vis des GRh.

- **Mode opératoire :**

Le protocole suivi est celui de **Bulmuset** ses collaborateurs (2003).

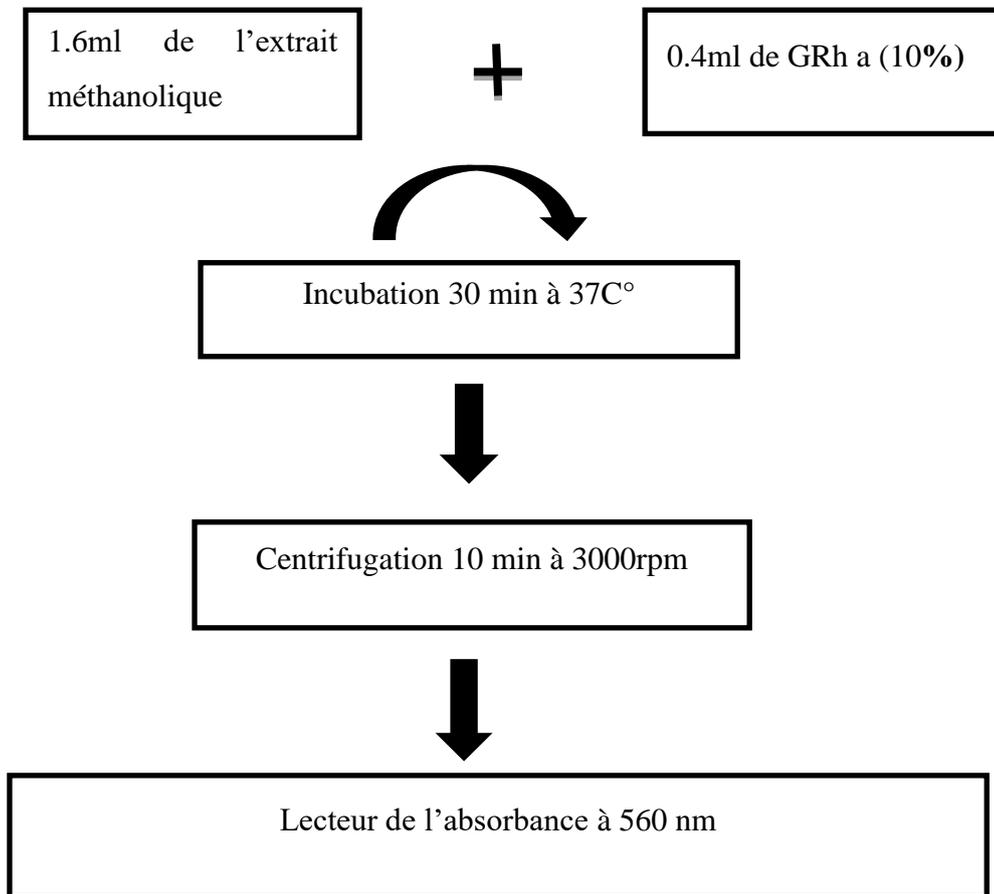


Figure 12. Protocole d'évaluation de test de cytotoxicité sur l'extrait des racines de *Zizyphus lotus*.

La préparation des dilutions d'extraits phénoliques des racines de *Zizyphus lotus* et de l'acide gallique en différentes concentrations de (50-1000µg/ml).

Le taux d'hémolyse a été calculé à partir de la formule suivante :

$$\%d'hémolyse = (At/Ac) * 100$$

Ac = Absorbance du control

At = Absorbance du test

4.2 L'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait phénolique de *Zizyphus lotus* :

Dans nos recherches, l'activité antioxydante *in vitro* de notre extrait a été prouvée par la méthode de réduction de fer (FRAP).

4.2.1 Pouvoir réducteur du fer (FRAP : FerricReducing Antioxydant Power) :

La capacité réductrice de l'extrait est liée à son pouvoir antioxydant. L'Activité réductrice du fer de notre extrait est déterminée selon la méthode décrite par **Pan et al. (2008)**, C'est une réaction chimique basée sur la réduction de Fe^{3+} dans le complexe $K_3Fe(CN)_6$ en Fe^{2+} .

C'est une réaction chimique basée sur la réduction de Fe^{3+} dans le complexe $K_3Fe(CN)_6$ en Fe^{2+} . La réaction est révélée par le changement de couleur jaune du fer ferrique (Fe^{3+}) en Fer ferreux bleu (**Figure13**).

- **Mode opératoire :**

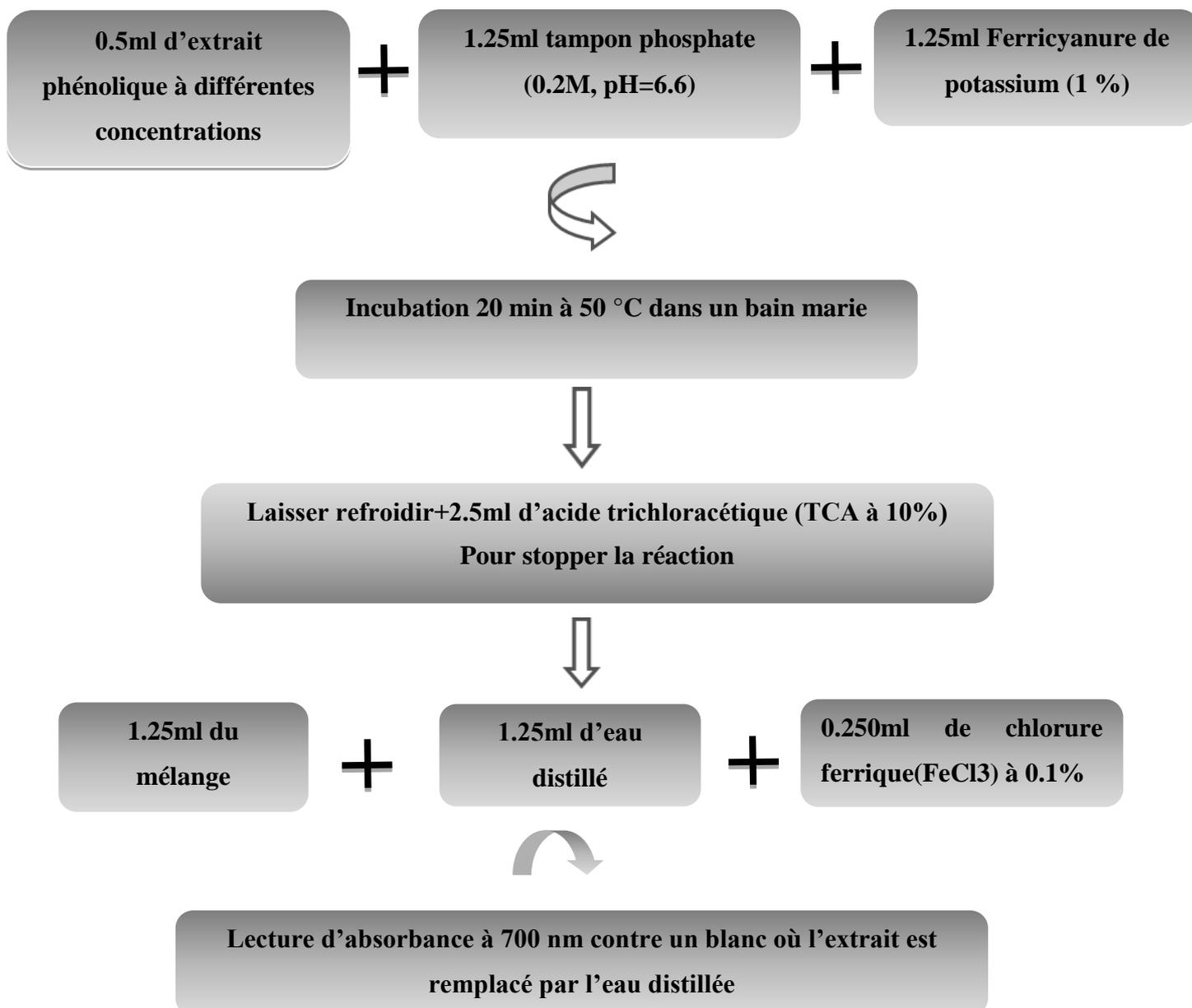


Figure 13. Protocole d'évaluation du pouvoir réducteur de l'extrait phénolique des racines de *Zizyphus lotus* (Pan et al., 2008).

4.3 Étude statistique :

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm écartype. La comparaison des moyennes entre les témoins et expérimentales est réalisée deux à deux par le test de student « t ». Les valeurs sont considérées significative lorsque $P \leq 0.05$ (*), très significatives lorsque $P \leq 0.01$ (**), hautement significatives lorsque $P \leq 0.001$ (***), et non significative si : $P > 0.05$.

5 Chapitre V:
Résultats et interprétations

5.1 Rendement de l'extrait phénolique brut de *Zizyphus lotus* :

L'extraction et récupération de l'extrait nous a permis de déterminer son rendement en fonction de la matière végétale séchée. Le résultat exprimé en pourcentage est représenté dans le tableau suivant :

Rendement en %	
<i>Zizyphus lotus</i> (poudre)	24%

Tableau 5. Rendement de l'extrait phénolique brut des racines de *Zizyphus lotus*.

Le résultat montre que la poudre de *Zizyphus lotus* a un rendement élevé en polyphénols d'environ 24%.

5.2 Dosage des polyphénols totaux :

L'analyse quantitative des phénols totaux à l'aide de ce dosage est déterminée par l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage exprimée en milligramme d'équivalent d'acide gallique.

Le résultat obtenu de teneur en phénols totaux de l'extrait phénolique de la plante étudiée représenté dans le tableau 6.

Phénols totaux (mg EAG/g MS)	
<i>Zizyphus lotus</i> (poudre)	23.2970027 EAG/g MS

Tableau 6. La teneur en polyphénols de l'extrait brut des racines de *Zizyphus lotus*.

5.3 Test de cytotoxicité :

L'évaluation de test de cytotoxicité sur la plante *Zizyphus lotus*, les résultats représentés dans la **figure14**.

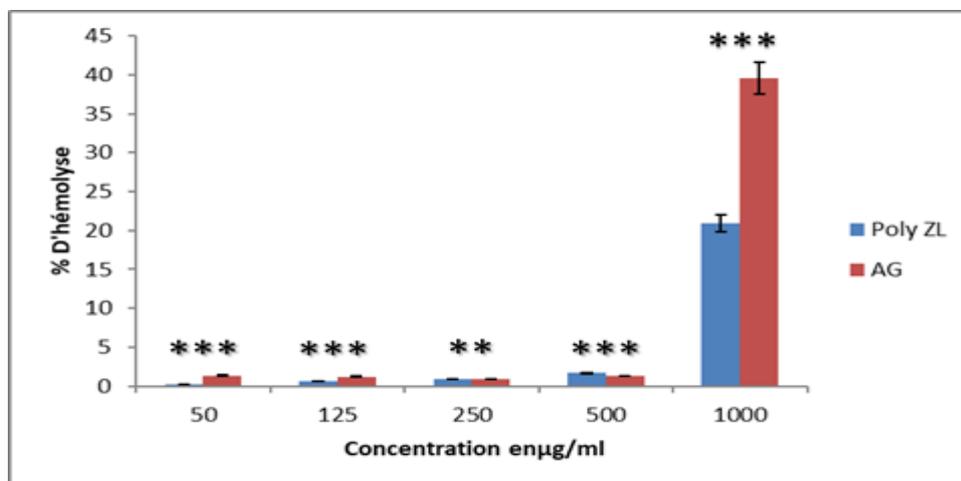


Figure 14. Taux d'hémolyse % de *Zizyphus lotus* et l'acide gallique.

Poly ZL : extrait phénolique des racines de *Zizyphus lotus*

AG : acide gallique.

Les résultats indiquent que le taux d'hémolyse de l'extrait phénolique des racines de *Zizyphus lotus* est significativement diminué par rapport à l'acide gallique a des concentrations entre 50- 1000 µg/ml, et à une concentration de 500 µg/ml l'hémolyse de notre extrait augmente par rapport à l'acide gallique. On peut conclure que l'extrait phénolique de *Zizyphus lotus* ne sont pas toxique.

5.4 Activité antioxydante d'extrait phénolique de la plante étudiée :

Pouvoir réducteur de fer (FPAP : Ferric Reducing Antioxydant Power) :

Nous avons étudié l'activité antioxydante de l'extrait phénolique des racines de *Zizyphus lotus* par la méthode de réduction du fer (FRAP).

Grâce à la dilution en cascade de l'extrait et de l'acide ascorbique standard et de BHT, nous pouvons obtenir une gamme de concentration de 0,03 à 1 mg / ml. Pour chaque concentration, nous avons mesuré la densité optique à 700 nm.

Ces derniers nous fait remarquer que l'extrait phénolique des racines de *Zizyphus lotus* a un pouvoir réducteur considérable de $0,904 \pm 0,0315$ à une concentration de 1 mg / ml.

Les résultats de DO obtenus ont permis de tracer des courbes, en fonction des concentrations de l'extrait phénolique et l'acide ascorbique. Les résultats, représentés dans la **figure 15** nous ont permis que la quantité de fer de réduction est directement proportionnelle à la concentration utilisée.

À des faibles concentrations (0,03- 0,07- 0,156), la réduction du fer est similaire avec le BHT.

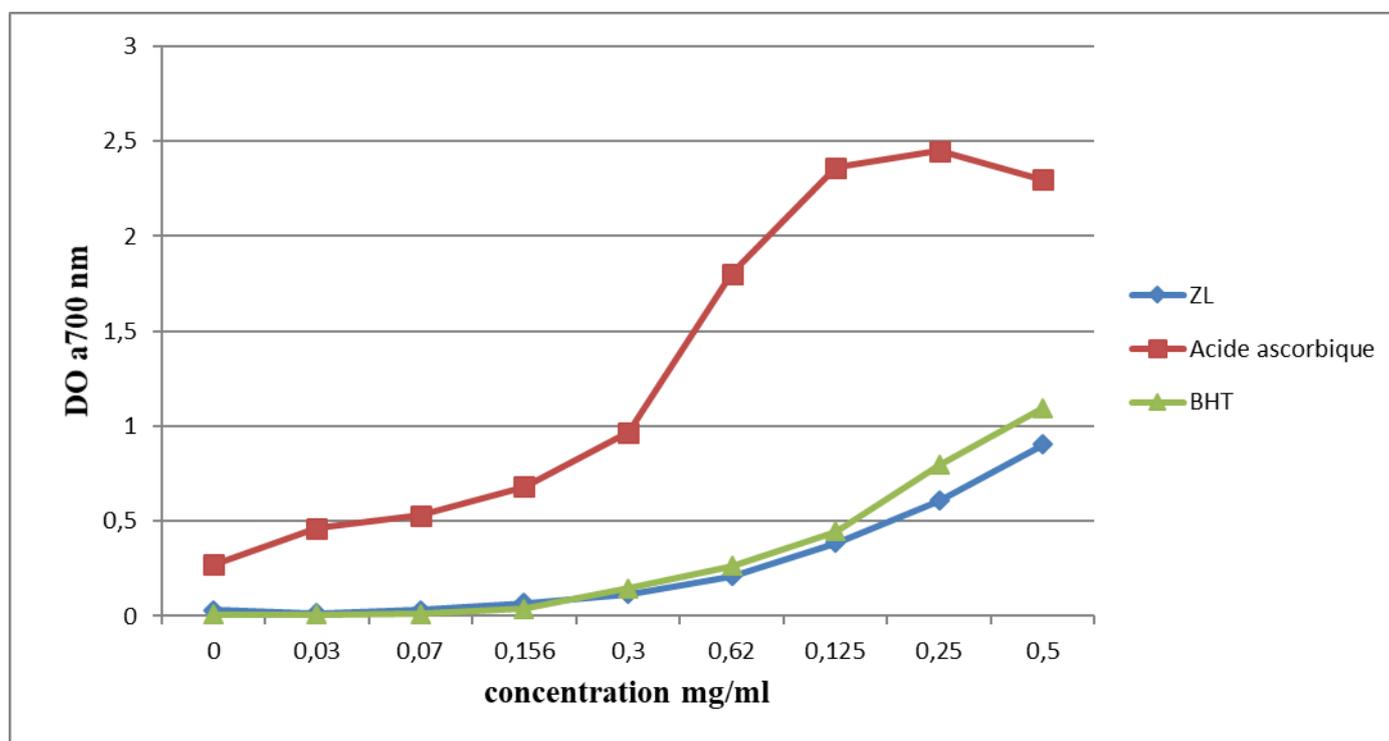


Figure 15.Réduction de fer des extraits des racines de *Zizyphus lotus*.

Discussion

La phytothérapie présente de nombreux avantages, et son activité sur les organismes est liée à l'implantation des plantes, grâce à l'action des substances chimiques contenues dans les plantes, notamment les polyphénols.

Les polyphénols sont composés d'un groupe de molécules qui ont un large éventail de réponses dans le règne végétal, localisé des racines aux fruits. Ceux-ci aident les plantes à survivre dans leur environnement (**Richter, 1993**) et contribuent à protéger l'homme de certaines maladies dans le domaine thérapeutique. (**Jean-Jacques macheix et al., 2005**)

De plus, les composés polyphénoliques ont des propriétés antioxydants, antimutagène, anti inflammatoire, anticancéreux, antiviraux, antimicrobiens (**Middleton et al., 2000 ; ksouri et al., 2007**).

En effet, les antioxydants naturels, à leur tour font l'objet de nombreuses études, et constituent également une nouvelle méthode d'utilisation universelle des métabolites secondaires, notamment les polyphénols.

Les racines de notre plante *Zizyphus lotus* renferment un pourcentage élevé en polyphénols, ce sont les antioxydants les plus abondants dans l'alimentation humaine. C'est un constituant largement présent dans les fruits et les boissons, comme le thé et le café (**Landete, 2012**).

Les différentes espèces de *Zizyphus* sont utilisées pour traiter certaines maladies, telles que: l'inflammation, les troubles digestifs, les maladies du foie, la faiblesse, l'obésité, les maladies du système urinaire, le diabète, les infections cutanées, la fièvre, la diarrhée et l'insomnie (**Abu-Zarga et al., 1995, Abdel-Zaher et al., 2005; Suksamrarn et al., 2005**).

Dans ce contexte général nous avons évalué l'activité antioxydante et l'utilité de *Zizyphus lotus* dans le domaine thérapeutique, nous nous sommes intéressés à la quantification des polyphénols de l'extrait phénolique des racines de notre plante, de tester la cytotoxicité et d'évaluer l'activité antioxydante par le test de réduction de fer FRAP.

Au cours de test de quantification de l'extrait phénolique des racines de *Zizyphus lotus*, ont été déterminé le rendement par rapport à la matière végétale sèche. Les résultats obtenus montrent que l'extrait phénolique de la plante étudiée a un fort rendement de l'ordre de 24% en polyphénols et une teneur en polyphénols totaux : 23.297 EAG/g MS

Discussion

Selon l'étude de **Ghalem (2014)** Le rendement de racine de *Zizyphus lotus* a été déterminé par rapport 100g de la matière végétale sèche, le résultat représente : 13.9%, 20.090 mg PE/g DW.

Le rendement n'est qu'une quantité relative, il semble lié aux caractéristiques génétiques de la plante, à l'origine géographique, aux conditions et durée de conservation, à la date de récolte, à la variété et surtout à la maturité, ce qui est confirmé par les travaux **AbiAzar (2007)**.

Ces résultats ne peuvent être comparés aux résultats de la littérature, car ils sont liés aux caractéristiques génétiques de plantes et sont liés aux facteurs suivants :

- Espèce : La teneur en polyphénols varie d'une espèce à l'autre.
- Période de récolte : Elle est également liée à la période de maturité où le taux de polyphénols de la plante atteint son maximum.
- Conditions climatiques (varie selon la région).
- Conditions expérimentales de laboratoire, notamment la méthode d'extraction (macération, infusion, décoction...) et le solvant d'extraction : le choix du solvant (éthanol, méthanol, etc.) agit sur la quantité de polyphénols extraits. (**Raffo et al., 2006**).

Jusqu'à présent, très peu de travaux ont été réalisés pour évaluer qualitativement et quantitativement l'activité antioxydante de plante choisie (**Prior et al., 2005**), par des méthodes colorimétriques.

Au cours de notre étude, nous avons essayé de tester la cytotoxicité des extraits phénoliques des racines de *Zizyphus lotus* sur les globules rouges.

Nos résultats montrent que l'acide gallique provoque une augmentation hautement significative de taux d'hémolyse dans différentes concentrations. Cette molécule de référence présente un effet hémolytique très significatif à partir de la concentration de 50 µg/ml avec un pourcentage d'hémolyse de 1.343%. À une concentration de 1000 µg/ml l'hémolyse augmente au maximum à 39.57%. Alors notre plante *Zizyphus lotus* ne présente aucune toxicité dans des concentrations 50- 1000 µg/ml.

Nos résultats sont en accord avec **Ghalem (2014)**, qui a testé la cytotoxicité des extraits phénoliques des racines de *zizyphus lotus* sur la prolifération splénocytaire qui ne présente aucune toxicité à des concentrations 31.25-1000 µg /ml.

Le test de la réduction du fer montre que l'extrait phénolique des racines de *Zizyphus lotus* a un pouvoir réducteur considérable de $0,904 \pm 0,0315$ à une concentration de 1 mg / ml d'une part et d'autres part, À des faibles concentrations (0,03- 0.07- 0.156), la réduction du fer est similaire avec le BHT.

De plus, la réduction de fer augmente avec la concentration de l'extrait phénolique de notre plante. Cela signifie la réduction constante de Fe^{3+} et Fe^{2+} indique le potentiel de réduction de la plante (**Barku et al., 2013**).

D'autres études de (**Katerer et al., 2012**) ont montré que la capacité de réduction du fer des extraits phénoliques est 5,04.

Enfin, les résultats de nos études et d'autres travaux montrent que les racines de *Zizyphus lotus* est une plante médicinale aux propriétés antioxydantes et bénéfiques pour la santé.

Conclusion générale

La connaissance et l'utilisation des plantes médicinales constituent un véritable patrimoine de l'être humain. Cette variété en propriétés biologiques est liée certainement aux vertus thérapeutiques attribuées à une gamme extraordinaire des molécules de nature phénolique synthétisées par la plante non seulement comme des agents chimiques contre les maladies, les prédateurs et les herbivores, mais aussi comme des agents médicinaux tels que les antioxydants.

L'objectif primordial de notre étude compris le même contexte dont le but est d'évaluer les propriétés antioxydants des plantes médicinales.

Dans le cadre de notre travail, nous nous sommes intéressés d'évaluée le taux d'hémolyse a un pourcentage 1.343% - 39.57% dans des concentrations 50- 1000 µg/ml respectivement. Concernant le test de réduction de fer les résultats montrent à des faibles concentration (0,03- 0.07- 0.156) un pouvoir considérable de $0,904 \pm 0,0315$

Le test de la réduction du fer montre un pouvoir réducteur considérable de $0,904 \pm 0,0315$ à une concentration de 1 mg / ml d'une part et d'autres part, notre extrait est présent un pouvoir de réduction similaire celle de BHT. À des faibles concentrations (0,03- 0.07- 0.156).

Le choix de notre plante est fait principalement sur la base de son importance thérapeutique. Notre étude, nous permet de :

- Déterminer la richesse de la plante en polyphénols.
- De tester la toxicité de notre plante sur les globules rouges, les résultats ont montré que l'extrait phénolique des racines de *Zizyphus lotus* ne présente aucune toxicité.
- D'évaluer l'activité antioxydante de l'extrait phénolique des racines de *Zizyphus lotus* par le test de réduction de fer, cette étude montre que notre plante à une forte activité antioxydante.

En dernière analyse, tous ces résultats obtenus *in vitro* ne constituent que le premier pas dans la recherche pour trouver de substances et source naturelle biologiquement active. Des tests supplémentaires seront nécessaires et doivent pouvoir confirmer la performance mise en évidence.

Afin d'améliorer l'efficacité, certaines perspectives peuvent être considérées :

Conclusion générale

- Faire des tests phytochimiques pour isoler les différentes classes des polyphénols.
- Évaluer *in vivo* l'effet de *Zizyphus lotus* sur la balance oxydante/antioxydante.
- Évaluer de l'activité antiulcérogène, anti-inflammatoire et analgésique *in vivo* des différents extraits de *Zizyphus lotus*.

Références bibliographiques

À

Abdel-Zaher., 2005; Abdel-Zaher A.O., Salim S.Y., Assaf M.H. et Abdel-Hady R.H. (2005). Antidiabetic activity and toxicity of Zizyphusspina-christileaves. J. Ethnopharmacol, 101:129-138.

Abi Azar R. (2007). Complexations des protéines lactières par les extraits de gousses vertes de caroubier. Propriétés technologiques des coagulums obtenus, Agro. paristech Ecole Doctorale Abies, Thèse de doctorat.

Abu-Zarga., 1995, 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.

Allali, H., Benmehdi, H., Dib,M.A., Tabti, B., Ghalem, S., and Benabadji, N.(2008) . Phytotherapy of diabetes in west Algeria. Asian Journal of Chemistry, 20 (4):2701-2710

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

Atamer A.2008. The importance of paraoxonase 1 activity, nitric oxide and lipid peroxidation in hepatosteatosis 36:771-776

Atawodi S. E. Antioxidant potential of African plants.African J. of Biotec. 2005, Vol.4 (2); pp 128-133.

B

(Baba Aissa, 1999). Encyclopédie des plantes utiles, Flore d'Algérie et du Maghreb, Substances Végétales d'Afrique d'Orient et d'Occident, ed. EDAS, p.144-146.

Badiaga M. (2011) Étude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de Nauclea latifolia (smith). Une plante médicinale africaine récoltée au Mali, Thèse de Doctorat, Université de Bamako, 137 p

(Bamouh, 2002). La lutte chimique contre le jujubier. Programme National de transfert de Technologie en Agriculture (PNTTA), ed. DERD Rabat, n° 94, p. 1, 4.

Barku VYA., Boye A and Quansah. (2013). Leaf antioxidante and wound healing studies on the extracts of CorchorusolitoriusWorldEssys J. Vol ; 1(3). 67-73, page 70

Benammar C., Hichami A., Yessoufou A., Simonin A-M, Belarbi M., Allali H. et Khan N.A. (2010). Zizyphus lotus L. (Desf.) modulates antioxidant activity and human T-cell proliferation. BMC Complementary and Alternative Medicine. 10

Benchalah, A., Bouziane, H., and Maka, M. (2004). Fleur du Sahara, arbres et arbustes, voyage au coeur de leurs usages avec les Touaregs du Tassili. Phytothérapie, 6; 191-197.

Bidié A. P., Banga B., Yapo A. F., N'guessan J. D., Djaman A. j. (2011). Activités antioxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne Ssci ; Nat ; ; 1 :1-11.

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. pp79-82.

Bonnet, J. (2001). Larousse des arbres - Dictionnaire des arbres et des arbustes p. 512.

Borgi W., Ghedira K., Chouchane N. (2007(a)). Anti-inflammatory and analgesic activities of Zizyphus lotus root barks. Fitoterapia.78:16-19

Borgi W., Recio M-C., Rios J-L., Chouchane N. (2008). Anti-inflammatory and analgesic activities of flavonoid and saponin fractions from Zizyphus lotus (L.) Lam. South African Journal of Botany, 14:320-324.

Boubekrichérifa. (2014). Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de slanummelongena par des techniques électrochimiques. Thèse du Doctorat Université.

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

C

Cano N., Barnoud D., Schneider SM., Vasson MP., Hasselmann M., Leverve X. Traité de nutrition artificielle de l'adulte 3ème édition, 2007, XVII, pp 1189

Carillon E. (2000). La phytothérapie face à l'évolution médicale

Catoire C., Zwang H and Bouet C. (1999). Le jujubier ou le Zizyphus lotus. Fruits oubliés. Article n°1.

Chouaibi., 2011).Chouaibi M., Mahfoudhi N., Rezig L., Donsi F., Ferrari G and Hamdi S. (2011). Nutritional composition of Zizyphus lotus L. seeds. Journal of the Science of Food and Agriculture, 6: 1171–1177.

Claudine, 2007 ; Claudine, R. (2007). Le nom de l'arbre : le gnenadier, le caroubier, le jujubier, le pistachier et l'arbousier. Actessud le Majan, 1er Edition. France.45-62.

Codoner-Franch P., Valls-Belles V., ArillaCodoner A and Alonso-Eglesias E. Oxidant mechanisms in childhood obesity: the link between inflammation and oxidative stress. Translational Research December. 2011

Curtay J-P et Robin J-M. (2000). Intérêt des complexes antioxydants. Nutrithérapie Info.4p

D

Dacosta E. (2003). Les phytonutriments bioactifs. Yves Dacosta (éd). Paris, 317p.

Dan Y. (2008).Biological functions of antioxidants in plant transformation. In vitro Cell. Dev. BiolPlant, 44:149-161

Droge W. (2002).Free radicals in the physiological control of cell function. Reviews of physiology, 82: 47-95.

F

Favier A.(2003). Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique .108-115.

Fleuriet A., (1982). Expression et régulation du métabolisme des deriveshydroxycinnamiques au cours de la croissance Thèse Doc. Etat, Montpellier.

Fouché J., Marquet A. et Hambuckers A. (2000). Les plantes médicinales de la plante au médicament, Observation du monde des plantes.

G

Ghalem M ;(2014). Effets antioxydants et anti-inflammatoires des extraits de *Zizyphus lotus* et *Anthyllis vulneraria*. 86,89

Ghedira., 1995 ; Ghedira K., Chemli R., Caron C., Nuzillard J-M., Zeches M., Le Men-Olivier L. (1995).Fourcyclopeptidealkaloidsfrom*Zizyphuslotus*.*Phytochemistry* ,38 :767-772.

Ghestem A., Seguin E., Paris M., Orecchioni A-M. (2001). Le préparateur en pharmacie. Dossier2. Editions TEC & DOC Paris.275p.

Girotti-channu C. (2006). Etude de la lipolyse et de synthèse des composés du Derme sous l'effet de la Cirsimarine, Flavoneextraite de *MicroteaDebilis*. Thèse de Doctorat. Institut national des sciences appliquées de Lyon.127

Georgetti S.R., Casagrande R., Di Mambro V. M., Azzolini Ana ECS et Fonseca Maria J.V. Evaluation of the antioxidant activity of different flavonoids by the chemiluminescencemedhod. *AAPS Pharm Sci.* 2003, Vol. 5 (2): pp 5.

H

Halliwell B.,Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine*, Ed 4. Oxford: Clarendon Press; (2006).

Halliwell B., Gutteridge JM. (1990). Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease an overview .*MethodesEnzymol*; 186:1-85.

Harborne JB. (1980). Plant phenolics. In: BELL EA, CHARLWOOD BV (Eds) *Encyclopedia of Plant Physiology*, volume 8 *Secondary Plant Products*, SpringerVerlag.

J

Jean-Jacques macheix ., Annie Fleuriet ., Christian Jay-Allmand. (2005). Les composés phénoliques des végétaux un exemple de métabolite secondaire d'importance économique .

K

Kohen R et Nyska A. (2002). Oxidation of biological systems: Oxidation stress phenomenon, antioxidants, redox reactions and methods for their quantification. *Toxicol Pathol*, 30: 620-650

Ksouri R., Megdiche W., Debez A., Falleh H., Grignon C., Abdely C. (2007). Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant. Physiol Bioch*; 45: 244-249

L

Lahlou, M., ElMahi, M., and Hammouchi, J. (2002). Evaluation of antifungal and molluscicidal activities of Moroccan *Zizyphus lotus* L. *Desf, Annales pharmaceutiques françaises*, 60:410-414.

Landete, J.M. (2012). Updated knowledge about polyphenols: functions, bioavailability, metabolism, and health. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 52, 936–948.

Landolfi R., Mower R.L., Steiner M. (1984). *Biochem Pharmacol*, 33, 1525-1530.

Liu L., Sun Y., Laura T., Liang X., Ye H. et Zeng X. (2009). Determination of polyphenolic content and antioxidant activity of Kudingcha made from *Ilex Kudingcha* C.J. Tseng, *Food Chemistry*, 112 : 35-40.

M

Makoi J.H.J.R., Ndakidemi P.A. Biological, ecological and agronomic significance of plant phenolic compounds in rhizosphere of the symbiotic legumes. *African Journal of Biotechnology*, 2007, Vol. 6(12) ; pp 1358-1368

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 2-225-66165-0 : 182

Middleton E., Kandaswami C., Theoharides T.C (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications, heart disease and cancer.

Milane H. (2004). La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère peroxydant ou thérapeutiques. Thèse de doctorat. Université Louis Pasteur Strasbourg I. 155p

Mitjavila M.T. et Moreno J.J. (2012). The effects of polyphenols on oxidative stress and the arachidonic acid cascade. Implications for the prevention/treatment of high prevalence diseases *Biochem. Pharmacol.*, 84 : 1113-1122.

Mohanty P., Hamouda W., Garg R., et al. Glucose challenge stimulates reactive oxygen species (ROS) generation by leucocytes. *J Clin EndocrinolMetab*; 2000, Vol. 85; pp 2970-3

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 Magistère en Agronomie, Université de Batna

O

Organisation mondiale de la santé. (2000). Principes méthodologiques généraux pour la recherche et l'évaluation relatives à la médecine traditionnelle.

Ozturk M., Aydogmus-Ozturk F., Duru M.E. et Topçu G. (2007). Antioxydant activity of stem and root extract of rhubarb (*Rheum ribes*): an edible medicinal plant. *Food chemistry*, 103: 623-630.

P

Pan, Y., Wang, K., Huang, S., Wang, H., Mu, X., He, C., Ji, X., Zhang, J., Huang, F., Antioxydant activity of microwave-assisted extract of longan (*Dimocarpus Longan Lour.*) peel, *Food Chemistry*, 2008, Vol.106; pp 1264-127

Pandey KB et Rizvi SI. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2009, Vol. 2 (5) ; pp 270 – 278.

Paris et Hurabielle (1981). Abrégé de matière médicale- pharmacognosie. Tome 1 Ed. Masson, Paris ISBN

Patel C., Ghanim H., Ravishankar S., et al. Prolonged reactive oxygen species generation and nuclear factor-Kappa B activation after a high-fat, high-carbohydrate meal in the obese. *J Clin EndocrinolMetab*, 2007, Vol. 92 ; pp 4476-9

Pincemail j., Degrunne F., VoussureS. (2007). Effet d'une alimentation riche en fruits et légumes sur les taux plasmatiques en antioxydants et des marqueurs des dommages oxydatifs. *Nutrition Clin Metab* ;21,66-75

Pincemail J., Siquet J., Chapelle J-P. et al. (2000). Evaluation des concentrations plasmatiques en antioxydants, anticorps contre les LDL oxydées et homocystéine dans un échantillon de la population liégeoise. *Ann. Biol. Clin.*, 58 :178-185.

Prior R.I., WU X.L. Schaich K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J. Agric. Food Chem.*, 53 (10): 4290-4302.

Q

Quezel P et Santa S. (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et régions désertiques méridionales. Tome 2. Centre national de la recherche, Paris ,565p.

R

Raffo, A., la Malfa G., et al (200). Seasonal variations in antioxidant components of cherry tomatoes (*lycopersicon esculentum* cv. Naomi F1). *Journal of food composition and analysis* ; 19: 11-9

Richter G. (1993). Composés phénoliques in *Métabolisme des végétaux: physiologie et biochimie* . Ed Presse polytechnique et universitaire romande ; pp : 317-339.

S

Scalbert A. (1991). Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, 30: 3875- 3

Selvakumar G., Saha S. et Kundu S. (2007). Inhibitory activity of pine needle tannin extracts on some agriculturally resourceful microbes. *Indian J. microbial.*, 47: 267-270

Siddhuraju P.(2007). Antioxidant activity of polyphenolic compounds extracted from defatted raw and dry heated *Tamarindus indica* seed coat .*LWT*, 40:982-990

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.

Suksamrarn S., Suwannapoch N., Aunchai N., Kuno M., Ratananukul P., Haritakum R., Jansakul C. et Ruchirawat S. (2005). Ziziphine N, O, P, new antiplasmodial cyclopeptides alkaloids from *Zizyphus oenopliavar. brunoniana*. *Tetrahedron*, 61 :1175-1180.

Su M.S., Shyu Y.T. et Chein P.J. (2008). Antioxidant activities of citrus herbal product extracts, *Food Chemistry*, 11: 892-896. 42.

T

Thannickal V.J. et Fanburg B.L. (2000). Reactive oxygen species in cell signaling. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.*, 279: L1005-L1028

Trease E. et Evans W.C. (1987). *Pharmacognosy. Billiare. Tindall. London* 13: 61-62.

V

Vermerris W., Nicholson R. (2006). *Phenolic Compound. USA: Springer Nueva York*, EEUV; 3(16):151-153

Von Maydell H. J.V. (1990). *Arbes et arbustes du Sahel : leur caractéristique et leur utilisation*. 283 p

Y

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.