

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE
LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE DE BLIDA 1



Faculté de science de la Nature et de la Vie
DEPARTEMENT DE BIOTECHNOLOGIE
Mémoire en vue de l'obtention de Master 2 en
Biotechnologie végétale et valorisation des plantes

**Thème : Etude de quelques activités biologiques des extraits
de *zizyphus lotus***

Présenté par : Abdellaoui Zineb

Et

Bourahla Louiza

Soutenu le :

Devant le jury composé de :

Mme Chebata.N	M.A.A	USDB	Présidente
Mme Ghanai.R	M.A.A	USDB	Examinatrice
Mme Moumene .S	M.C.A	USDB	Promotrice
Mme Belkadi .A	Dr	SAIDAL	Co promotrice

Année universitaire : 2018/2019

Remerciements

Merci ALLAH de nous avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout de nos rêves.

Nous tenons à remercier profondément :

Notre promotrice Mme MOUMENE Saida de nous avoir confié ce travail riche d'intérêt et d'avoir accepté de le diriger à chaque étape de sa réalisation et dont l'aide précieuse que nous a été indispensable sur le plan scientifique et technique et les grandes qualités humaines : votre amabilité, gentillesse, confiance et sympathie que vous nous avez témoignées au cours de ces trois mois de pratique, vous méritent toute admiration.

Nous remercions respectivement Mme CHEBATA d'avoir accepté de présider le jury de ce manuscrit, Mme GHANAI de nous faire l'honneur d'examiner notre travail.

Mme BELKADI la responsable du laboratoire de pharmacotoxicologie, Mme BENTALEB du centre de recherche de développement SAIDAL, Mr RACHID de l'école supérieur de vétérinaire Bebezouar de nous avoir accueillis à bras ouverts au laboratoire et d'avoir mis à notre disposition tout le matériel requis pour notre étude. Nos remerciements vont aussi à Mr bellatreche qui a fait l'analyse statistique.

Et enfin à tous nos enseignants, qui nous ont donnés les bases de la science, nous les remercions profondément.

Merci à tous et à toutes.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail, comme preuve de respect, de gratitude,
et de reconnaissance

A

Ma raison de vivre, ma reine, **Maman** le symbole de la tendresse, la
femme la plus forte au monde, ma meilleure amie, mon tout, qui
s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, celle qui a rit avec
moi et qui a essuyé mes larmes, celle qui ma soutenue et ma fait
avancer, Je t'adore Maman. Et à mon très cher **Père**, mon ombre
durant toutes les années d'études Puissant dieu, vous procure santé,
et longue vie.

A

Mon porte bonheur, mes sœurs, leurs maris et enfants ainsi que ma
chère grande mère, mes tentes, mes oncles, cousin et mes meilleures
et adorables cousines

A

Je tiens à remercier mes chères amies pour tous nos moments de
complicités et pour tous nos beaux souvenirs, je vous adore.

A

Ma très chère amie et binôme **Zineb**, c'est la fin de notre parcours
universitaire, je tiens à cette occasion de te remercier de tout cœur
pour ta présence et ta fidélité, ces 3 ans je ne les oublierai jamais. Je
t'aime

Bourahlalouiza

Dédicaces

Je dédie ce travail :

*A mes très chers **parents***

Source d'amour et d'agrément inépuisable

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon grand amour, mon estime, ma vive gratitude, mon intime attachement et ma profonde affection.

Je ne saurai et je ne pourrai vous remercier pour tout ce que vous avez fait pour moi et ce que vous faites jusqu'à présent.

Qu'ALLAH vous protège.

*A mes **grands-mères***

Pour leurs prières.

*A ma chère **jumelle** et ma meilleure amie **Sabrina**.*

*A mes chères **sœurs**.*

Pour leurs soutiens

Qu'ALLAH vous assiste et vous réserve une vie pleine de succès et de bonheur.

*A mon amie et binôme **Louiza** qui m'a beaucoup aidé et soutenu durant la réalisation de ce travail.*

Je vous aime tous en ALLAH

Abdellaoui zineb

Résumé

Étude de quelques activités biologiques des extraits de *zizyphus lotus*

Ce travail a visé l'interaction des biomolécules composant les extraits du fruit et de feuille de *zizyphus lotus* de deux régions de l'Algérie de littoral (Tipaza) et de la Mitidja (Blida).

Le screening phytochimique a révélé la présence des polyphénols, des tanins et des flavonoïdes dans les extraits foliaire ainsi des sucres et de la vitamine C dans les extraits de fruits récolté dans les deux régions.

L'analyse quantitative réalisé nous a permis d'établir la teneur en polyphénol et en tanins dans les extraits des feuilles ; les résultats obtenus ont révélé la présence d'une grande quantité de polyphénols dans l'extrait de la région de Mitidja dont le taux en composés phénoliques est **1.445±0.028µg/eq acide gallique/mg** comparer à celui préparer à partir des feuilles récolté de littoral dont la teneur est évaluée à **0.638±0.186µg/eq acide gallique/mg**. Quant aux tanins les extraits à partir des feuilles de la Mitidja ont un taux plus élevé de **1.479±0.024µg/eq catéchine/mg** par rapport à les feuilles récoltés de littoral **0.664±0.041 µg/eq de la catéchine/mg**. Par ailleurs le dosage de la vitamine C a montré que l'extrait de la région de la Mitidja détient la concentration la plus élevée qui est **8.2%** par rapport à l'extrait du fruit de littoral **4.1%**.

Pour cela les feuilles et les fruits de la région de Mitidja ont été sélectionnées pour évaluer l'activité anti oxydante et cicatrisante de *zizyphus lotus*.

En effet, les résultats obtenus du test de l'activité cicatrisante indiquent une importante réparation chez les sujets traités par la pommade préparé à partir des feuilles de *zizyphus lotus* et une accélération du phénomène de la cicatrisation, cette réparation a atteint son taux maximal (96.57%) au 26^{ème} jour et elle a été confirmé à travers une étude histologique.

En outre l'étude de l'activité antioxydante par le test du DPPH a révélé un pouvoir antioxydant remarquable chez les extraits de *zizyphus lotus* notamment l'extrait aqueux du fruit avec une activité antioxydante relative de **74.2%** et IC50 de l'ordre de **0.24mg/ml**.

En conclusion les extraits du fruit s'avèrent très riche en antioxydant dont la vitamine C, et les composés phytochimiques des feuilles du *zizyphus lotus* sont responsable de L'activité cicatrisante.

Mots clés : activité antioxydante, activité cicatrisante, composés Phénoliques, tanin, vitamine C, *Zizyphus lotus*.

Summary

Study of some cicatrizing activities of extracts of *Zizyphus lotus*.

This work focused on the interaction of the biomolecules composing fruit extracts and *Zizyphus lotus* leaf from two regions of coastal Algeria (Tipaza) and Mitidja (Blida). Phytochemical screening revealed the presence of polyphenols, tannins and flavonoids in leaf extracts as well as sugars and vitamin C in fruit extracts harvested in both regions. The quantitative analysis carried out allowed us to establish the polyphenol and tannin content in the leaf extracts; the results obtained revealed the presence of a large amount of polyphenols in the extract of the region of Mitidja $1.445 \pm 0.028 \mu\text{g/g gallic acid /mg}$ whose phenolics content is compared to that prepared from the collected leaves of littoral whose content is evaluated at $0.638 \pm 0.186 \mu\text{g / eq gallic acid/mg}$. As for the tannins, the extracts from the leaves of the Mitidja have a higher rate of $1,479 \pm 0,024 \mu\text{g / eq catechin/mg}$ compared to the collected leaves of littoral $0.664 \pm 0.041 \mu\text{g / eq of catechin/mg}$. In addition, the vitamin C assay showed that the extract from the Mitidja region has the highest concentration that is **8.2%** compared to the extract of the coastal fruit **4.1%**.

For this, the leaves and fruits of the Mitidja region were selected to evaluate the antioxidant and healing activity of *Zizyphus lotus*. In fact, the results obtained from the cicatrizing activity test indicate an important repair in the subjects treated with the ointment prepared from *Zizyphus lotus* leaves and an acceleration of the cicatrization phenomenon, this repair reached its maximum level in the 19th day unlike rats treated with the reference product, the powder ointment prepared from the fruits and controls which reveals **98.5%** **78.19%** **70.58%** respectively. In addition, the study of the antioxidant activity by the DPPH test revealed a remarkable antioxidant power in extracts of *Zizyphus lotus* including the aqueous extract of the fruit with a relative antioxidant activity of 74.2% and IC₅₀ of the order of 0.24 mg / ml.

In conclusion, the fruit extracts are very rich in antioxidants including vitamin C, and the phytochemicals of the leaves of *Zizyphus lotus* are responsible for the healing activity.

Key words: antioxidant activity, phenolic compounds, C vitamin, healing activity, tannin, *Zizyphus lotus*.

ملخص

دراسة بعض النشاطات البيولوجية لمستخلصات السدر

ركز هذا العمل على تفاعل الجزيئات المؤلفة من مستخلصات الثمار و اوراق نبات السدر المتحصل عليها من منطقتين من الجزائر الساحلية (تبيازة) و متيجة (البليدة) .

كشف الفحص الكيميائي النباتي عن وجود مادة البلوفينول و الصبغ في مستخلصات الاوراق و كذلك السكريات و الفيتامين "س" في مستخلصات الثمار .

سمح التحليل الكمي الذي اجري بتحديد محتوى البلوفينول و الصبغ في الاوراق كما كشفت النتائج التي تم الحصول عليها عن وجود كمية كبيرة من البلوفينول في مستخلص منطقة متيجة الذي يتراوح 0.028 ± 1.445 ميكروغرام / مكافئ حمض الغاليك / ملغ مقارنة مع مستخلص منطقة متيجة 0.186 ± 0.638 ميكروغرام / مكافئ حمض الغاليك / ملغ اما بالنسبة للفحص الكمي للصبغ فان مستخلصات اوراق متيجة لها معدل 0.024 ± 1.479 ميكروغرام / مكافئ الكاتشين / ملغ مقارنة بمستخلص اوراق الساحل 0.041 ± 0.664 ميكروغرام / مكافئ الكاتشين / ملغ .

بالإضافة الى ذلك اظهر اختبار الفيتامين "س" على ثمار المنطقتين وجود محتوى كبير في تلك المتحصل عليها في منطقة متيجة 8.2% مقارنة بالمتحصل عليها من الساحل 4.1% .

لهذا تم انتقاء الثمار و الاوراق من منطقة متيجة بالبليدة لتقويم نشاط مضادات الاكسدة و الندوب .

النتائج المتحصل عليها من اختبار فعالية ازالة الندوب تشير الى التجديد المهم عند الجرذان المخبرية التي طبق عليها المرهم المعد من أوراق السدر حيث أبدى فعالية فائقة في اليوم التاسع عشر .

و بمقارنة المواد الصيدلانية مع المرهم المعد من ثمار السدر و الجرذان الشاهدة 98.5% ، 78.19% ، 70.18% على الترتيب .

كما كشفت دراسة نشاط مضادات الاكسدة التي قام بها اختبار DPPH عن وجود قدر ملحوظ لمضادات الاكسدة في المستخلص المائي للثمار 74.2% مع تثبيط 50% من الجذور الحرة عند التركيز 2.4 ملغ / مل .

في الختام ثمار متيجة غنية بمضادات الاكسدة بما في ذلك الفيتامينات ، اما بالنسبة للأوراق فهي مسؤولة عن نشاط الندوب .

الكلمات المفتاحية نشاط الاكسدة البلوفينول الفيتامين "س" نشاط الندوب الصبغ السدر

Listes des figures

Figure 01 : morphologie générale de <i>zizyphus lotus</i>	04
Figure02 : Aire de répartition du <i>Zizyphus lotus</i> (L) en méditerranée (Quezel et Santa, 1962).....	05
Figure 03 : Représentation 3D de la peau humaine avec les structures annexes. Encyclopédie.....	13
Figure04 : Réaction entre le radical DPPH et l'anti oxydant pour former le DPPH stable (Moon et Shibamoto, 2009).....	13
Figure 05 : feuilles de <i>zizyphus lotus</i> récoltés de littoral (Tipaza) et de la Mitidja (Blida).	25
Figure 06 : Fruit de <i>zizyphus lotus</i> original 2019	25
Figure07 : Teneur en eau des feuilles (F) et fruits (Fr) de <i>zizyphus lotus</i>	26
Figure 08 : Rendement de l'extrait hydro-méthanolique (E h.met) foliaire(F) et du fruit (fr) De littoral (L) et Mitidja (M).....	27
Figure 09 : Rendement de l'extrait aqueux (E aq) foliaire (F) et du fruit (fr) de littoral (L) Et de la Mitidja (M).....	27
Figure 10 : teneur en polyphénols des extraits hydro-méthanolique des feuilles (E,hmet F)de <i>Z.lotus</i> de littoral (L) et de la Mitidja (M).....	29
Figure11 : teneur en tanins condensé des extraits hydro-méthanolique des feuilles (E,hmet F) de <i>Z.lotus</i> de littoral (L) et de la Mitidja (M).....	30
Figure 12 : morphologie des pommades dermiques préparées a partir des feuilles et fruit de <i>zizyphus lotus</i>	31
Figure 13 : évolution de la cicatrisation.....	32
Figure 14 : observation microscopique de la cicatrisation des plaies traitées par la pommade à base de la poudre de feuilles de <i>zizyphus lotus</i>	34
Figure 15 : Aspect anatomique des plaies du lot essai de pommade de feuilles de <i>zizyphus lotus</i> a J26 observé au microscope optique (x 4) mettant en évidence une réépithélialisation élaboré avec présence de plus grand nombre de fibroblaste et follicule pileux.....	34
Figure 16 : Pouvoir réducteur des extraits hydro-méthanoliques des feuilles (F) et des fruits de <i>zizyphus lotus</i>	35
Figure 17 : Pouvoir réducteur des extraits aqueux des feuilles et fruit de <i>zizyphus lotus</i>	36
Figure 18 : IC50 de l'extrait hydro-méthanolique de <i>zizyphus lotus</i>	36
Figure 19 : IC50 des extraits aqueux de <i>zizyphus lotus</i>	37

Figure 20 : la différence entre l'IC50 des deux extraits.....37

Liste des tableaux :

Tableau 01: Les composants chimiques majeurs et leur quantité dans les différents organes végétaux du *Zizyphus lotus*(NutrMétab, 2016).....06

Tableau 02: Mise en évidence des métabolites secondaires chez *zizyphus lotus*.....38

Tableau 03: identification des alcaloïdes chez *zizyphus lotus*.....38

Liste des abréviations

F :	feuilles
Fr :	fruits
L :	littoral
M :	Mitidja
E aq :	Extrait aqueux.
E met :	Extrait méthanolique.
A ascorbique :	Acide ascorbique
W(%):	Pourcentage de la teneur en eau.
FeCl₃ :	Chlorure Ferrique.
HCL :	Acide Chloridrique
K :	Iodure
KINO₃ :	Iodate de potassium
DPPH :	Diphenylpicrylhydrazyl
I :	Pourcentage d'inhibition
DO :	Densité Oblique
SC :	Stratum corneum

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	01
Chapitre 1 : Synthèse bibliographique	
1.1. Les plantes médicinales.....	03
1.2. Généralités sur <i>Zizyphus lotus</i>	03
1.2.1. Taxonomie.....	03
1.2.2. Description botanique.....	04
1.2.3. Distribution géographique.....	05
1.2.4. La composition chimique.....	06
1.2.6. Activités biologiques.....	07
1.3. Les métabolites secondaires.....	08
1.3.1. Les polyphénols	08
1.3.2. Les alcaloïdes	09
1.3.3. Les saponines.....	09
1.3.4. Vitamines.....	09
1.4. Méthode d'extraction.....	09
1.4.1. Les méthodes classiques	09
1.4.2. Les méthodes alternatives	10
1.5. La cicatrisation.....	11
1.5.1 Définition.....	11
1.5.2. Les étapes de la cicatrisation.....	11
1.5.3. Pouvoir cicatrisant des tanins	12
1.5.4. Généralité sur les logiciels de traitement d'image.....	12
1.5.5. Histologie de la peau	12
1.6. L'oxydation	13
1.6.1. Définition	13
1.6.2. Les radicaux libres	13
1.6.3. Classification des antioxydants	14
1.6.4. Mécanisme d'action des antioxydants	14
Chapitre 2 : Matériel et méthodes	
2.1. Matériel.....	16
2.1.1. Matériel biologique.....	16
2.1.2. Matériel non biologique.....	16
2.2. Méthodes.....	17
2.2.1. Récolte et séchage	17
2.2.2. Détermination de la teneur en eau de <i>zizyphus lotus</i>	17
2.2.3. La préparation des extraits de <i>zizyphus lotus</i>	17
2.2.4. Screening des métabolites secondaire des extraits de <i>zizyphus lotus</i>	18
2.2.5. Dosage des métabolites secondaires des extraits de <i>zizyphus lotus</i>	19
2.2.5.1. Dosage des polyphénols totaux.....	19
2.2.5.2. Dosage des tanins condensés.....	20
2.2.5.3. Dosage de la vitamine C	20

2.2.6. Etude de deux activités biologiques de <i>zizyphus lotus</i>	21
2.2.6.1. Test du pouvoir cicatrisant du <i>zizyphus lotus</i>	21
2.2.6.2. Etude de l'activité anti-oxydante du <i>zizyphus lotus</i>	23

Chapitre 3 : Résultats et discussions

3.1. Description botanique des échantillons de la plante étudiée.....	25
3.2. Teneur en eau des échantillons de <i>zizyphus lotus</i>	26
3.3. Le rendement en extraits hydro-méthanolique et aqueux de <i>zizyphus lotus</i> des deux régions étudiés.....	26
3.4. Métabolites secondaires de <i>zizyphus lotus</i>	28
3.5. Teneur en polyphénols totaux, en tanins condensés et en vitamine C	29
3.5.1. Les polyphénols.....	29
3.5.2. Les tanins condensés	30
3.5.3. La vitamine C.....	30
3.6. Les activités biologiques de <i>zizyphus lotus</i>	31
3.6.1. Activité cicatrisante de <i>zizyphus lotus</i>	31
3.6.1.1. Formulation de la pommade	31
3.6.1.2. L'aspect macroscopique.....	31
3.6.1.3. L'évolution pondérale des rats	32
3.6.1.4. La durée de la cicatrisation.....	32
3.6.1.5. le pourcentage de rétraction et résultats de l'analyse numérique.....	32
3.6.1.6. Observation histologique.....	33
3.6.2. Activité antioxydante de <i>zizyphus lotus</i>	35
3.7. Discussion	39
Chapitre 4 : Conclusion et perspectives.....	41
Annexe	43
Reference bibliographique	